

Lej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

**“UNA COMPILACION ACTUAL DE LA MELANINA:
ESTRUCTURA, SINTESIS Y FUNCION”.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

LUIS FERNANDO SALAZAR MEDRANO

ASESORES: M.V.Z. GERMAN ISAURO GARRIDO FARIÑA.
M.V.Z. MIGUEL ANGEL CORNEJO CORTES.

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEXICO.

0270153
1997

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN
ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
P R E S E N T E

AT'N: Q. Ma. del Carmen García Mijares
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

"Una compilación actual de la melanina: estructura, síntesis y función".

que presenta el pasante: Luis Fernando Salazar Medrano.
con número de cuenta: 8960003-6 para obtener el TITULO de:
Médico Veterinario Zootecnista

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO

A T E N T A M E N T E.

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 23 de Octubre de 1998

PRESIDENTE	MVZ. Ma. de Lourdes Pérez Mendoza.	
VOCAL	MVZ. Alejandro Paredes Fernández.	
SECRETARIO	MVZ. German Isauro Garrido Fariña.	
PRIMER SUPLENTE	MVZ. Juan Raúl Aguilar Tovar	
SEGUNDO SUPLENTE	MVZ. Sergio Waldo Tello.	

Con agradecimiento al MVZ German Isauro Garrido Fariña.

INDICE

	Pag.
a. Resumen	3
b. Objetivos	5
c. Procedimiento	6
d. Desarrollo	
I. Los pigmentos	7
II. La melanina	10
III. Los melanocitos	13
a. Los melanoblastos	17
IV. La síntesis de melanina	20
V. La vía Raper- Mason	23
VI. La tirosinasa	27
a. La PRT-1	28
b. La PRT-2.....	28
VII. Factores que influyen en la melanogénesis	31
VIII. Funciones de la melanina	33
IX. La neuromelanina	36
X. Genética de la pigmentación	38
XI. Trastornos de la pigmentación	49
XII. Conclusiones	57
XII. Bibliografía	58
Esquema 1.....	16
Esquema 2.....	22
Esquema 3.....	30
Tabla 1. Genes de la pigmentación	48

RESUMEN

La melanina es un pigmento natural que se encuentra ampliamente diseminado en los seres vivos. Se encuentra principalmente en el tegumento, pelo y ojo. La melanina es un polímero de las quinonas 5,6 dihidroxiindol (DHI) y 5,6 dihidroxiindol 2 ácido carboxílico (DHICA). En los mamíferos se hallan tres tipos de melanina: un pigmento de color café y negro, la melanina; la faomelanina que es un polímero derivado de la cisteinil dopa y es de color amarillo y rojo y los tricromos, de color rojo. La melanina se halla contenida en los melanosomas, organelos parecidos a los lisosomas, que también la sintetizan. Los melanocitos son las células especializadas en la síntesis de la melanina. Estos se derivan de la cresta neural embrionaria, desde donde emigran. Las enzimas que intervienen en la síntesis de la melanina fundamentalmente son tres: La tirosinasa, la dopacromotautomerasa (DCT) y la proteína relacionada a la tirosina 1 (PRT-1). La síntesis de faomelanina parece ser la vía más importante de síntesis bajo condiciones normales en el melanocito y la síntesis de eumelanina está acentuada en situaciones de estrés metabólico, como la exposición a la luz ultravioleta (UV). La síntesis de melanina y el tipo de esta, se halla regulada por múltiples factores extracelulares, de los que sobresalen las hormonas melanotróficas, las prostaglandinas, las interleucinas e interferones y la luz UV. El papel fisiológico de la melanina involucra: absorción de la radiación

ultravioleta, actúa como agente quelante, se une a metales di y trivalentes, a drogas básicas y le confiere a la célula una mayor resistencia a la oxidación. Se revisan algunos de los genes involucrados en la pigmentación de los mamíferos, y su expresión fenotípica.

Al final se describen los principales trastornos de la pigmentación en los animales domésticos.

OBJETIVO

Compilar los datos recientes dados a la luz por la comunidad científica en torno al estudio de la melanina, principalmente lo relacionado a su estructura, biosíntesis y función, resaltando que en la actualidad dista de ser un tema completamente conocido, y el cúmulo de información dada en los últimos años es un reflejo de esto, permaneciendo muchos puntos siendo aún objeto de estudio por las particularidades importantes que representa este biopolímero en los organismos terrestres. Este trabajo pretende resumir en una lectura sencilla los datos actuales hasta el año de 1996 de los artículos científicos referente al tema.

PROCEDIMIENTO

La información compilada proviene de los artículos científicos publicados respecto al tema en revistas de distintas áreas . Dado que el enfoque de estudio de la melanina no se circunscribe a un solo aspecto sino por el contrario a los más variados, las revistas consultadas son de distintas áreas. Se pueden reconocer las dedicadas a exponer temas bioquímicos, de fisiología celular, de genética y otros. La búsqueda fue temática y se realizó en los registros computados de las revistas científicas en la Hemeroteca de la Facultad de Medicina y en la biblioteca de la Facultad de Ciencias Biomédicas de la UNAM. Siendo estas dos fuentes los lugares donde también se tiene acceso al acervo de una manera directa y sencilla. Los artículos escogidos, fueron seleccionados a partir de un enfoque que pudiera aportar datos acerca de las características que más resaltan acerca de la melanina, esto para evitar adentrarse en temas que no hicieran más que confundir al lector. Sin embargo, en la bibliografía se encuentran referidos los artículos que en su momento y a un interés particular, pueden ser consultados. Se realizó la compilación de los artículos en el período del 15 de febrero al 30 de marzo de 1998 y el trabajo de traducción y estructuración temática se realizó en el período del 13 de marzo al 29 de junio de 1998.

I. LOS PIGMENTOS.

Los pigmentos son sustancias que poseen color propio y se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza. El color de los pigmentos se debe a la absorción selectiva de la luz visible por las moléculas que los conforman. La luz blanca está compuesta por ondas de diferente frecuencia y longitud. Cada frecuencia constituye un color característico. El rango de longitud de onda (en el aire) que componen el espectro visible abarca desde los 380 $m\mu$, correspondiente al color violeta, hasta los 780 $m\mu$ que pertenece al color rojo. La luz visible absorbida produce un retardamiento en el movimiento de los electrones del compuesto. Esto provoca una alteración en la frecuencia o vibración y le da a la molécula un movimiento especial (resonancia química) que absorbe la luz que se encuentra en la misma frecuencia. La luz que no es absorbida o residual, es la que se transmite al ojo y así se percibe un color específico. Por ejemplo, si la resonancia química de las moléculas del compuesto corresponde a ondas cortas y rápidas, las ondas más cortas de la luz visible son absorbidas (las del espectro violeta y azul) y el color que se percibe es amarillo. Las sustancias de color rojo, por su parte, tienen valores de resonancia un poco más largos y absorben el espectro de las regiones azul y verde. Los compuestos azules y verdes son el resultado de la absorción del rojo y naranja. Las sustancias negras absorben toda la luz de manera equilibrada

y completa; por el contrario los compuestos blancos no absorben la luz en el espectro visible. Así, el color reflejado por un pigmento incluye generalmente todas las ondas de la luz visible excepto la fracción absorbida, de modo que el color de un compuesto depende de la onda reflejada o transmitida predominantemente (6).

Los organismos poseen biocromos o pigmentos naturales que son compuestos de composición variable. Los biocromos se pueden agrupar en aquellos en que sus moléculas contienen nitrógeno y en aquellos que no lo contienen. De los pigmentos no nitrogenados los más importantes por su amplia distribución en el reino animal y vegetal son los carotenoides. Otros tipos de pigmentos que corresponden a esta categoría son los pigmentos naftoquinones, los antraquinones y los flavonoides que se sintetizan principalmente en las plantas, pero también pueden encontrarse en los animales, donde sigue siendo una incógnita su papel fisiológico (6).

Entre los pigmentos nitrogenados se encuentran los tetrapirroles, que abarcan a las porfirinas (conformadas por los compuestos heme rojos o verdes de la sangre de muchos animales y la clorofila de las plantas) y los pigmentos biliares. Las melaninas son pigmentos nitrogenados de distintos colores, que van del amarillo, al café-rojo, café y negro. Las melaninas se encuentran ampliamente distribuidas con sus diversas tonalidades en la piel de los mamíferos, en la

pluma de las aves, en la piel o escamas de peces, anfibios, reptiles, la tinta del pulpo y en diversos tejidos de muchos invertebrados (6).

II. LA MELANINA.

La melanina es el pigmento natural encontrado en la mayoría de los organismos vivos (19). En los mamíferos, la melanina imparte el color característico de la piel y capa de pelo, y en los colores del plumaje de las aves, además de las melaninas, se hallan los pigmentos carotenoides (13). La melanina ha sido motivo de estudio por mucho tiempo, por ser el pigmento natural de los mamíferos, incluyendo el humano y por su importante función en la protección contra las radiaciones ultravioleta (UV), además por el estudio del melanoma, una neoplasia particularmente peligrosa. La melanina natural es difícil de estudiar debido a que es poco accesible al aislamiento, a la degradación química y al análisis espectral, características que comparte con otros pigmentos naturales (38). La melanina que sintetizan los melanocitos humanos son de tres tipos y químicamente son compuestos poliquinoides: La eumelanina (que es de color café a negro), la faomelanina (de color amarillo a rojo) y los tricocromos (de color rojo a amarillo). Del griego; Eu= verdadero, melas=negro, phaios=color pardo, tricos=pelo, croma=color (5,19,38).

Los dos tipos de melanina más importantes en los mamíferos son la eumelanina que contiene nitrógeno y la faomelanina que contienen nitrógeno y azufre (19). La melanina es un biopolímero altamente heterogéneo que consiste de varios monómeros, que incluyen a las quinonas DHI (5,6 dihidroxiindol) y al DHICA (5,6

dihidroxiindol 2-ácido carboxílico), unidades pirroles y unidades ácido carboxílico-pirroles (13,17). La *eumelanina* es un copolímero de las quinonas DHI y DHICA en distintas proporciones y son derivados del dopacromo (5,7,13,17,19,27,38). La *faomelanina* es un polímero derivado de la DOPAquinona y además contiene cisteína y tirosina, que se incorporan a través de los intermediarios de benzotiazina y cisteinil-dopa (7,13). Los tricromos son un grupo de dímeros relacionadas estructuralmente a la faomelanina que están formados por la adición de compuestos sulfidrílicos de bajo peso molecular a las quinonas. Estos son el único grupo de pigmentos de melanina que se presenta de manera natural con una estructura bien definida (5,19). La melanina mixta se encuentran de manera natural y es una mezcla de eumelanina y faomelanina en diferentes proporciones (13). El tamaño del polímero de la melanina es difícil de determinar y se distribuye en un patrón de tipo laminar dentro de los melanosomas. El orden estructural del polímero puede ser dependiente de la relación existente entre los monómeros de DHI y DHICA (2), ya que algunas de las posiciones reactivas presentes en la DHI no son reactivas en la DHICA. Los carbonos 2, 4 y 7 del anillo indol del DHI parecen estar involucradas en las reacciones de la polimerización (27). Se puede concluir que las unidades derivadas de la DHICA comprenden de dos tercios a la mitad de monómeros en la eumelanina natural (16). El peso molecular calculado a

partir del contenido de nitrógeno indican que las melaninas sintéticas contienen aproximadamente 2 moléculas de agua por monómero (16). Estos compuestos exhiben muchas propiedades fisicoquímicas poco usuales para los polímeros biológicos. Son sustancias amorfas poco solubles o totalmente insolubles en muchos solventes orgánicos e inorgánicos, muestran una importante capacidad de intercambio de iones, pueden sufrir procesos redox reversibles, muestran resonancia de electrones, además tienen la propiedad de captar distintos tipos de radicales libres (30).

III. LOS MELANOCITOS.

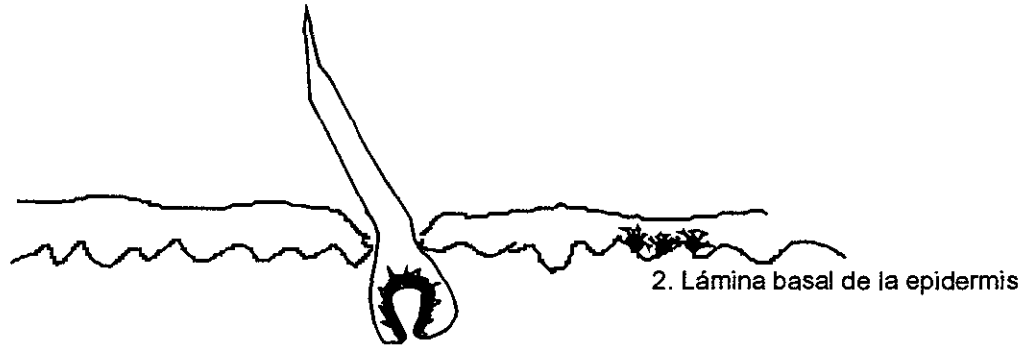
Los melanocitos son las células especializadas en la síntesis de la melanina (2,4,5,7,9,10,13,37). Estas células provienen de dos líneas ontológicamente distintas: Los melanocitos que se derivan de la cresta neural y se localizan en la lámina basal de la epidermis, en la dermis, en el bulbo del folículo piloso, en los puntos germinales de la pluma y en el coroides e iris del ojo. También se encuentran en las meninges, en el oído interno y en la glándula Harderiana del ojo del ratón (4,12,33). Otros melanocitos se derivan del margen ciliar de la vesícula óptica embrionaria y se localizan en el epitelio pigmentado de la retina (4,5,12,26,38). En el oído interno, los melanocitos parecen ser necesarios para la morfogénesis normal y la audición, pero no se sabe porqué (5). Hay sin embargo, otros lugares de origen de los melanocitos. Existe evidencia que en los mamíferos el mesectodermo de la cresta neural se origina directamente del ectodermo en el estadio temprano (presomite) del embrión del ratón, especialmente en la región de la cabeza y en los estadios posteriores en las placas laterales del abdomen ventral, hecho que no se había descrito antes. Una porción de la cresta neural proviene de las células de la vesícula óptica en los mamíferos. Esto sugiere que la vesícula óptica es el origen principal de la cresta neural en el cerebro anterior y probablemente también de los melanocitos coroidales. El mesectodermo también proviene de las placas ectodermales

nasales, aurales y epibranchiales del ectodermo (10,13,37). Los melanocitos tienen procesos dendríticos que se intercalan entre los queratinocitos de la dermis o corren paralelos a la superficie dermal. Tienen el núcleo esférico y contienen a los organelos especializados en la síntesis de la melanina: los melanosomas (7,10,13). Los melanosomas son miembros altamente especializados del linaje de los organelos endolisosomales (10,13) y pueden ser producidos en distinto tamaño, número y densidad. Los melanosomas totalmente melanizados se mueven hacia afuera a lo largo de los procesos dendríticos del melanocito de donde son transferidos a los queratinocitos en división del pelo en crecimiento o a los queratinocitos basales de la epidermis. Esta transferencia es directa, como resultado de una exocitosis no específica y de fagocitosis. Los melanocitos en cultivo no parecen liberar los melanosomas hacia el medio, excepto la célula muerta, pero pueden transferirlos a los queratinocitos u otras células cuando están presentes, aparentemente por vía de las dendritas. En la piel humana, muchos melanosomas se encuentran en los queratinocitos basales, distales al núcleo, manteniendo su presunta acción fotoprotectora del DNA celular contra la luz UV (5,13). En el ojo, los melanosomas se sintetizan desde el inicio de la vida y son retenidos en las células pigmentadas (5). Se conoce poco acerca de las proteínas melanosomales o su papel en la síntesis de la melanina y su degradación (5,710)

Las proteínas melanosomales que comprenden la estructura interna del melanosoma, denominada matriz, son las menos estudiadas. Es sobre esta matriz proteinácea que la melanina polimerizada es depositada en forma laminar. Se ha propuesto que los constituyentes de la matriz melanosomal favorecen la deposición ordenada de la melanina dentro de la matriz del melanosoma. El comportamiento bioquímico de las proteínas de la matriz debe de ser distinto al de las otras proteínas relacionadas a la melanogénesis (5,7,10).

Los receptores de la tirosinasa, de la proteína relacionada a la tirosinasa 1 (PRT-1), de la proteína relacionada a la tirosinasa 2 (PRT-2) y de la hormona estimulante de los melanocitos (MSH), entre otras proteínas, se encuentran asociadas como complejos dentro de los melanocitos (39).

Principales localizaciones de los melanocitos en los mamíferos.

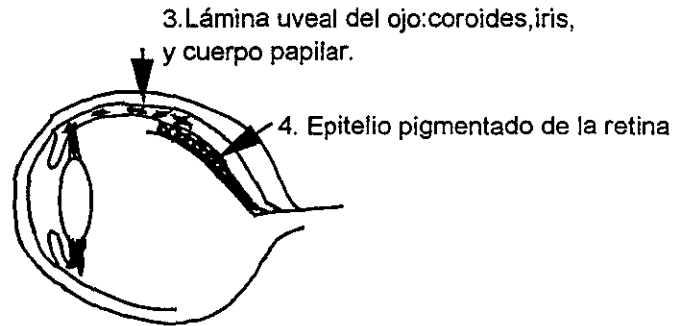


2. Lámina basal de la epidermis

1. Alrededor de la papila dermal del folículo piloso



5. Oído interno. Estría vascularis de la cóclea.



3. Lámina uveal del ojo: coroides, iris, y cuerpo papilar.

4. Epitelio pigmentado de la retina

a. LOS MELANOBLASTOS.

Las áreas del embrión de ratón que contienen células de la cresta neural o derivadas de esta pueden formar melanocitos. Los precursores inmediatos de los melanocitos del tegumento son los melanoblastos, y estos carecen de pigmento. Inicialmente los melanoblastos poblan la dermis embrionaria y después cruzan la membrana basal hacia la epidermis y los folículos pilosos. La distinción entre células de la cresta neural y melanoblastos es vaga en la actualidad. El análisis en cultivos celulares *in vitro* han mostrado que al menos algunas células de la cresta neural son pluripotenciales y entre su progenie se encuentran los melanocitos y otros tipos de células (5). Actualmente, el término melanoblasto se aplica al precursor embrionario de los melanocitos que por pruebas histoquímicas no se le puede detectar la enzima tirosinasa, pero que si expresa las características de la línea de células pigmentadas, independientemente de su potencial de desarrollo (13,10). Los marcadores que sirven para identificar a los melanoblastos son:

- 1.- La plata y las tinciones de plata que marcan a los premelanosomas.
- 2.- El anticuerpo HMB-45 anti-melanoma humano, que reacciona con el antígeno citoplásmico 10 kDA de los melanoblastos epidermales, pero no en melanoblastos dermales o melanocitos maduros.

3.- El anticuerpo MEB-L contra los melanocitos aviares y células que migran de la cresta neural.

4.- El anticuerpo CF21 contra el antígeno melanosomal humano, especialmente de la piel fetal.

5.- La hibridación con una prueba de DCT (Dopacromotautomerasa) de ratón, transcripción que empieza a expresarse antes que otros genes de la pigmentación, en células embrionarias que se encuentran migrando.

Parece que también hay precursores de melanocitos en la piel después del nacimiento. Por ejemplo, los folículos pilosos pasan a través de una fase de descanso (telofase) entre la formación de pelos, y aún cuando no se observan melanocitos, estos aparecen en el recrecimiento del pelo. Ciertas células no pigmentadas alrededor de la papila dermal fueron identificados como precursores de melanocitos por sus propiedades a la tinción. Los melanocitos no pigmentados también se han descrito en la lámina externa de los pelos del humano adulto y parece que son la fuente de los melanocitos epidérmicos regenerados después de la cicatrización de la piel. La mayor población celular que inicialmente prolifera en los cultivos diploides de melanocitos humanos tienen poco o nada de pigmento. Algunas células al menos con esta apariencia pueden denominarse premelanocitos porque aunque están sin pigmentar, como se observa al microscopio de luz, si son positivos a la prueba histoquímica para

la tirosinasa y la 3,4 dihidroxifenilalanina (DOPA), y en su progenie se hallan más premelanocitos y melanocitos pigmentados (5,10,13).

IV. LA SINTESIS DE MELANINA.

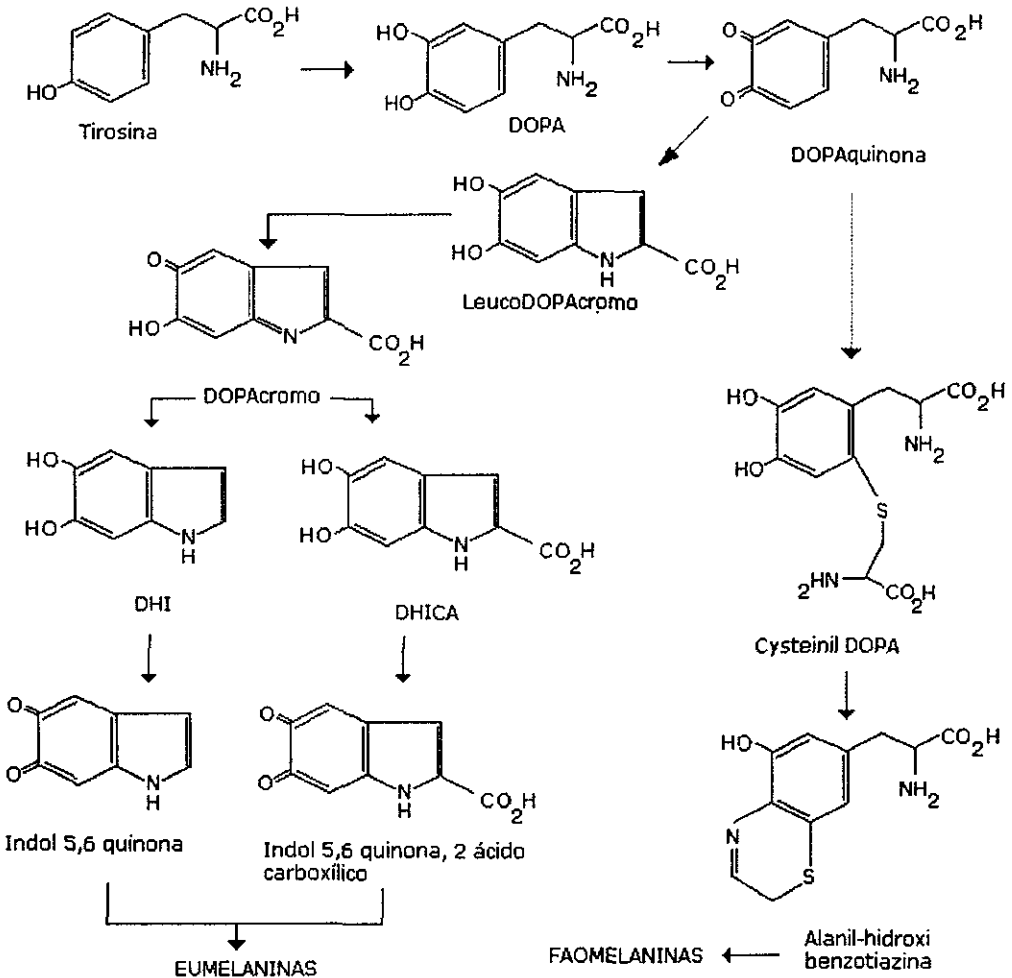
El mecanismo primario de la melanogénesis es la estimulación de la tirosinasa preexistente dentro del melanocito. Después de la síntesis, la tirosinasa sufre un proceso de glicosilación cuando se mueve en vesículas hacia el aparato de Golgi y dentro de este se continúa. Subsecuentemente se involucra una vía bipartita en donde las vesículas que contienen la tirosinasa se fusionan con los premelanosomas en estadio II que contienen una matriz proteínica bien definida. El precursor del melanosoma se denomina premelanosoma, este carece de actividad tirosinasa y deposición de melanina y proviene de evaginaciones del retículo endoplásmico liso. Se cree que esta fusión inicia el proceso de la melanización. La tirosinasa es funcionalmente activa dentro del retículo endoplásmico liso, el aparato de Golgi y las vesículas, pero se desconoce el mecanismo mediante el cual en estos lugares permanece inactiva hasta que es liberada hacia los melanosomas. No se sabe cómo es activada la tirosinasa. Por ejemplo, se sabe que la DOPA es cofactor de la tirosinasa y la DOPA no es un aminoácido natural. Hay un inhibidor presente en los organelos no melanosomales que evitan la formación de melanina en estos. La tirosinasa de los mamíferos puede ser activada por los iones ferroso en la tirosina hidroxilada en ausencia de DOPA. Los melanocitos pueden ser estimulados para diferenciar y sintetizar el pigmento por varios mecanismos. Se ha encontrado

que la síntesis de melanina se puede incrementar dramáticamente por la $MSH\alpha$, la radiación UV o agentes que mimetizan estas respuesta (7,10,13,39).

La síntesis de melanina también puede ocurrir en células que no son melanocitos. Los fibroblastos pueden sintetizarla cuando se les introduce la tirosinasa. La melanogénesis en células neuroepiteliales se ha descrito en ciertos tumores como de astrocitos, en el ganglioma cerebral y en tumores de la células de Schwann. El pigmento en estos tumores es caracterizada como melanina melanosomal (15).

MELANOGENESIS

22



(16)

V. LA VIA RAPER MASON.

De acuerdo con los primeros estudios sobre la síntesis de la melanina efectuados por Raper en 1927 y Mason en 1959 *in vitro*, la melanina es sintetizada a partir del aminoácido tirosina. El concepto clásico de la vía de síntesis Raper-Mason (RM) establece las siguientes reacciones progresivas:

- 1.- La hidroxilación de la tirosina a DOPA;
- 2.- La oxidación de DOPA a dopaquinona;
- 3.- La ciclización de la dopaquinona a leucodopacromo;
- 4.- La oxidación del leucodopacromo a dopacromo;
- 5.- La descarboxilación o reacomodo del dopacromo a DHI o DHICA y
- 6.- La oxidación de estos para formar la eumelanina.

La vía de la faomelanogénesis comprende :

- 1.- La hidroxilación de tirosina a DOPA;
- 2.- La oxidación de DOPA a dopaquinona;
- 3.- La formación de dopaquinona a los intermediarios cisteinil-dopa y benzotiazina y
- 4.- La formación de faomelanina.

Las dos primeras reacciones son catalizadas por la tirosinasa y las siguientes reacciones son espontáneas aunque también se encuentran algunos factores que regulan estas (2,4,7,16,19,27,38).

La dopaquinona es el paso intermedio en la formación de faomelanina o eumelanina y es aquí donde actúan los diferentes factores que favorecen la síntesis de una u otra (2). La principal determinante que favorece la síntesis de faomelanina en lugar de eumelanina es la disponibilidad de los grupos thiol. En la ausencia de grupos thiol, la dopaquinona se convierte en eumelanina por varias reacciones espontáneas que incluyen la ciclización, la descarboxilación y la polimerización oxidativa, en acuerdo con la vía clásica de RM. Cuando existen grupos thiol, como la cisteína o el glutatión, la dopaquinona se combina con ellos en una reacción rápida para evitar la formación de dopacromo y ofrecer una vía alterna para formar faomelanina o tricocromos, pigmentos que contienen azufre (2,13,19,39). La reacción entre los grupos thiol y la dopaquinona es más rápido que la ciclización de dopaquinona a leucodopacromo. De esta manera, la concentración de cisteína o glutatión es crítica en el tipo de melanina sintetizada (2,19). El glutatión es el principal compuesto thiol en las células vivas y la concentración de la cisteína es alrededor del 5% del glutatión. Sin embargo, la cisteína tiene una concentración más alta que el glutatión en el pico de la melanogénesis. La acción de estos compuestos pueden ser muy importantes ya que la dopaquinona también puede ser tóxica y la agregación de los grupos thiol parece ser un mecanismo efectivo de destoxificación en el citosol de los melanocitos, donde las condiciones para la formación y deposición de la

melanina son desfavorables (12,19). Los recientes avances en la química de la melanina han demostrado que además de los compuestos thiol, ciertos metales de transición están ampliamente distribuidos en los tejidos pigmentados y juegan un papel regulador en la melanogénesis (39).

Los compuestos thiol también pueden inhibir la melanogénesis por inhibición directa de la tirosinasa y por la formación de compuestos con intermediarios de la vía de RM que son atrapados por los compuestos sulfidrílicos, formando uniones tioéter y conjugados que son poco reactivos (19). El dopacromo es un punto derivativo en la vía de la eumelanogénesis; ya que puede aportar monómeros de DHICA o de DHI (2). En la melanina de los mamíferos existe un balance entre los monómeros de DHI y DHICA, probablemente debido al efecto de la dopacromotautomerasa (DCT) y de la concentración y naturaleza de iones metálicos, como el Cu^{++} , Ni^{++} , Co^{++} y Zn^{++} (27,38,39). Los metales y la DCT favorecen la formación de DHICA. Se debe suponer que las eumelaninas formadas en ausencia de metales consisten mayormente de monómeros de DHI (9,27). Es posible que la importancia primaria de la producción de DHICA en detrimento de DHI no sea la naturaleza y el color de la melanina producida, sino el de disminuir los efectos citotóxicos de los procesos melanogénicos en la célula (39). La DHI es relativamente citotóxica *in vivo* y es metabolizada rápidamente a una indol quinona y de aquí a melanina. No hay reportes respecto a la

citotoxicidad de la DHICA y al menos en magnitud es menos citotóxica que la DHI en cultivo. La DHICA es relativamente estable *in vitro* e *in vivo* y se incorpora lentamente al biopolímero de melanina (2,39). La incorporación del DHICA al biopolímero de melanina concuerda con la propiedad de la melanina de unirse a compuestos nitrogenados y a metales pesados. La DHICA ha sido el primer intermediario en la formación de melanina que se comprueba que forma el polímero *in vivo* (27,38). Fenotípicamente las melaninas derivadas del DHICA son distintas de las melaninas derivadas del DHI, pero no se sabe si esto modifica la estructura o la función de la melanina (39). Las melaninas derivadas de DHI son de color negro, floculan y son insolubles, mientras las derivadas de DHICA son solubles, tienden a estar dispersas de manera fina y su color es café (7,13,27). La eumelanogénesis parece ser la vía más importante de síntesis bajo condiciones normales en el melanocito, ya que la agregación del glutatión o la cisteína a la dopaquinona es aproximadamente 1000 veces más rápida que la ciclización de la dopaquinona a leucodopacromo. La eumelanogenesis puede estar reservada a las situaciones de estrés metabólico, cuando el melanocito se expone a la luz UV o a la acción prolongada de agentes hormonales o melanogénicos (2).

VI. LA TIROSINASA.

La tirosinasa (monofenol oxigenasa), es la enzima principal en la síntesis de melanina, necesita al cobre para su función óptima y cataliza los primeros pasos en la síntesis de la melanina. La tirosinasa se expresa específicamente en los melanocitos y es crítica para la síntesis de la melanina, ya que cataliza el paso inicial y es autolimitante para las demás reacciones en cascada que desemboca en la producción de melanina como son la conversión de fenoles a los o-difenoles correspondientes y o-quinonas subsecuentes. Estos compuestos que son altamente reactivos pueden ser considerados como el punto regulador en el esquema general de la melanogénesis (4,7,11,13,19,39). La tirosinasa es peculiar en el sentido que cataliza tres reacciones distintas en la biosíntesis de la melanina: 1.- la hidroxilación de la tirosina a 3,4 dihidroxifenilalanina (DOPA); 2) la oxidación de DOPA a dopaquinona; y 3) la oxidación de DHI a indol quinona (2,4,8,9,13,17,38,39). La DOPA es cofactor de la tirosinasa para la primera reacción enzimática, probablemente interactuando con el estado oxidativo del ion cobre (1). La tercera reacción en la que participa la tirosinasa también puede ser catalizada por una peroxidasa (9,17,39).

Las enzimas asociadas a la tirosinasa.

Estas enzimas participan en la modulación de la producción de melanina en los melanocitos mamíferos (39).

a. La PRT-1.

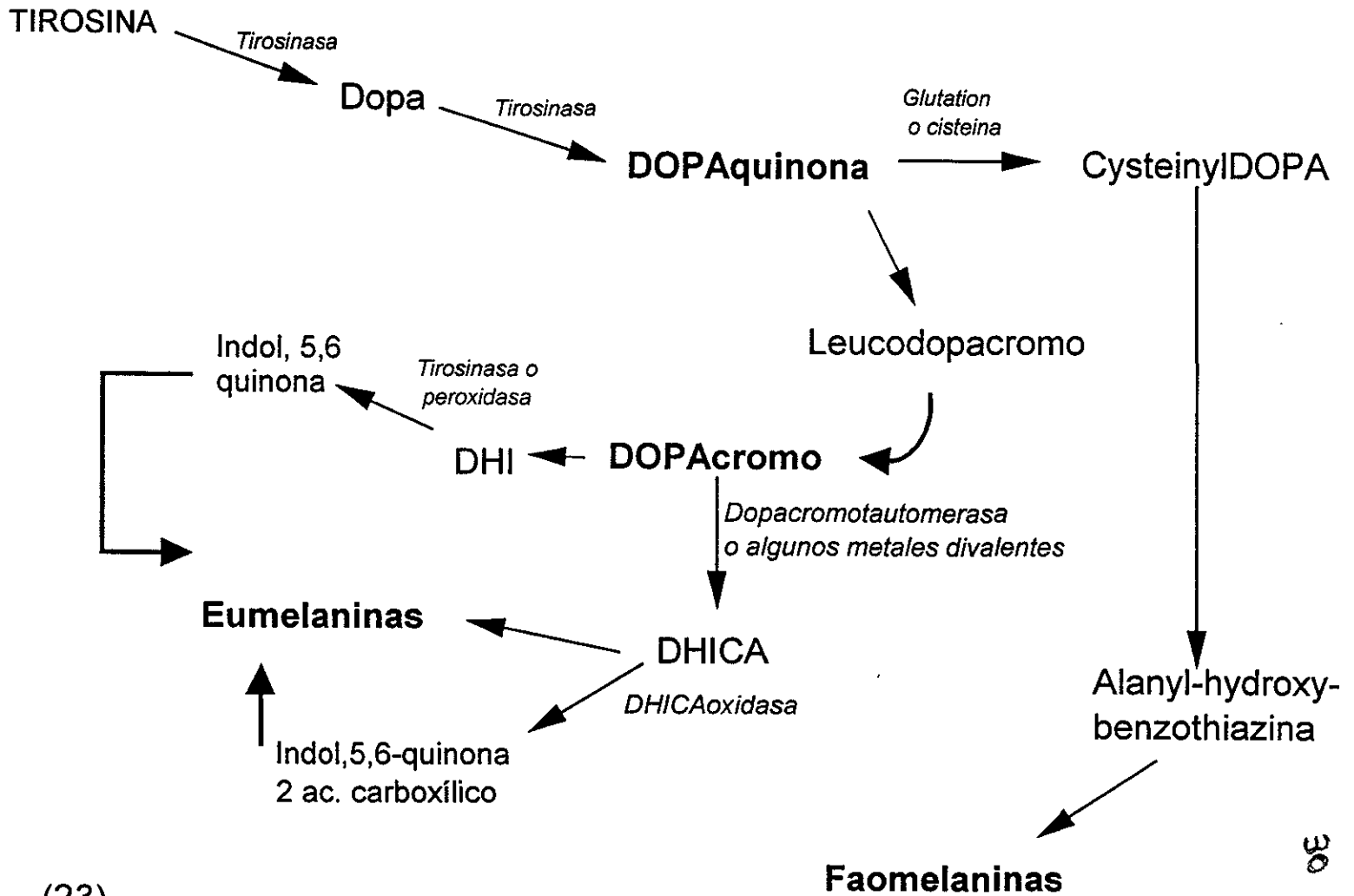
La función de la PRT-1 es aun tema de controversia y se le han adjudicado las siguientes funciones: (1) que cataliza las mismas reacciones de la tirosinasa, (2) que es una DCT o (3) que funciona como una catalasa específica del melanosoma. Recientemente se le ha denominado como una DHICAoxidasa, ya que cataliza la reacción de la DHICA a ácido indol 5,6 quinona-carboxílico, compuesto de una de las vías de síntesis de la eumelanina (2,7,23). La función de la PRT-1 no es esencial para la pigmentación en el ratón, pero cuando se suprime su acción se sintetiza un pigmento de color café en vez de negro (2).

b. La PRT-2

La PRT-2 o DCT cataliza la conversión del dopacromo a su derivado hidroxilado el 5,6-dihidroxiindol 2 ácido carboxílico (DHICA). La DCT se ha denominado también: factor de conversión del dopacromo, dopacromo oxidoreductasa y dopacromo isomerasa. La misma actividad catalítica que sufre

el dopacromo por acción de la DCT puede ser provocada por la acción de ciertos iones metálicos divalentes de transición como el Co^{++} , Cu^{++} o Ni^{++} (2,7,13,23,26,38,39). La DCT necesita la presencia de hierro para su función biológica óptima y es importante notar que la conservación de los residuos de cisteína de la proteína favorece la unión al hierro (7). Es posible que esta enzima proteja al melanocito contra los efectos citotóxicos de los intermediarios indólicos descarboxilados como el DHI, limitando su producción (2,7). En la ausencia de la DCT, el dopacromo forma de manera espontánea el DHI (7,39).

MELANOGENESIS



VII. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA MELANOGENESIS.

Los melanocitos están regulados por varios factores extracelulares que determinan no solo la síntesis de la melanina, sino también el tipo de esta. Probablemente el estímulo mejor conocido es el de las hormonas melanotrópicas producidas en la pituitaria posterior. Las hormonas melanotrópicas son una familia de péptidos estructuralmente relacionados derivados de una proteína precursora común, la proopiomelanocortina (POMC). Los distintos caminos enzimáticos en esta proteína da la formación de la Hormona Adenocorticotrófica (ACTH), la Hormona estimulante de los melanocitos α ($MSH\alpha$), la Hormona estimulante de los melanocitos β ($MSH-\beta$) y otras hormonas incluyendo la endorfina β y la hormona lipotrópica β (36). Después de que la $MSH\alpha$ se une con su receptor en la superficie del melanocito, la melanogénesis se incrementa hasta 100 veces, al menos esto ocurre en los sistemas de los muridos y vertebrados menores. La $MSH\alpha$ estimula la producción de eumelanina más que la de feomelanina. La $MSH\alpha$ se une a su receptor en la membrana del melanocito, se internaliza el complejo y se activa la cinasa A de la manera clásica. Inmediatamente se aumenta el AMPc y se favorece la eumelanogénesis. También la $MSH\alpha$ incrementa la actividad de la DCT. Los melanocitos trabajan en armonía estrecha con las células vecinas en la epidermis al producir los melanosomas que son fagocitados y distribuidos dentro de los queratinocitos y

también responden a varias citoquinas producidas por los queratinocitos, como factores de crecimiento, prostaglandinas, interleucinas e interferones. Presumiblemente estos producen señales que estimulan la pigmentación después de algún trauma, exposición a luz UV y otros estímulos ambientales, que inducen cambios en los niveles de producción del pigmento. La estimulación de la melanogénesis en los mamíferos puede ser mediada a través de un incremento de receptores a la $MSH\alpha$ en respuesta a interferones, luz UV y algunos sustratos (13,21). La hormona concentradora de la melanina (MCH) es un péptido cíclico aislado y estructurado a partir de la glándula pituitaria del salmón, rata e hipotálamo del humano. En los salmónidos, la MCH es liberada a la circulación sanguínea como una hormona neurohipofisial y actúa periféricamente para inducir la agregación de melanina en los melanóforos y evitar la liberación de $MSH\alpha$ de la glándula pituitaria (14).

VIII. FUNCIONES DE LA MELANINA.

Además de su función en la coloración protectora y atracción sexual entre las especies, la melanina juega un papel crucial en la absorción de radicales libres generados dentro del citoplasma y en la protección de varios tipos de radiación ionizante, incluyendo la luz UV. Esta última se hace desafortunadamente más crítica debido a la predicción alarmante de aumento en la incidencia de luz UV en la superficie de la tierra, proveniente de la radiación solar (2,13). La eumelanina muestra la absorción más fuerte de las radiaciones ultravioletas y es mejor protectora que la feomelanina. Bajo condiciones de estrés los melanocitos sintetizan una alta cantidad de eumelanina con un incremento en la capacidad protectora (2).

La eumelanina es un polianión y se puede unir *in vivo* e *in vitro* con varios cationes como iones de metales di y tri valentes, poliaminas y drogas aniónicas. La unión *in vivo* puede ser favorecida por el contenido del grupo carboxilo en la eumelanina natural (16). Una de las funciones *in vivo* del polímero de la melanina es su capacidad queladora. Las melaninas actúan como receptor de agentes que pudieran ser tóxicos para la célula. Es un compuesto receptor de agentes citotóxicos como aminas y radicales libres generados en el citoplasma (13,30) y también de iones metálicos (2) como fierro, zinc, molibdeno, selenio, cobre y oro (35). La capacidad queladora de la melanina está localizada en el C5 y C6 de la DHI, además la DHICA tiene otro centro formado por el

nitrógeno indol y el grupo carboxílico en el C2 (2). Las propiedades quelantes pueden estar relacionadas a la alta resistencia relativa a la radiación ionizante de las células que contienen melanina. Se ha demostrado que ciertos hongos son microorganismos altamente resistentes a la radiación, y esto se correlaciona directamente con su grado de pigmentación (30). La melanina fungal del *Criptococcus neoformans* le confiere resistencia al hipoclorito y al permanganato. La capacidad antioxidante fisiológica conferida por la melanina fue de 21.3×10^{-15} equivalente mol/célula, un valor que se aproxima a la producción oxidativa de los macrófagos estimulados. Esto concluye que la melanina tiene función antioxidante (18). Las células melanizadas fueron más resistentes a la fagocitosis mediada por anticuerpos y a los efectos antifungales de los macrófagos múridos que las células no melanizadas (41).

Los melanocitos han demostrado tener una capacidad mayor para captar algunos compuestos que los queratinocitos adyacentes (34). Algunas de las drogas capaces de unirse a la melanina son las siguientes: clenbuterol, ciorpromazina, dietilestilbestrol, 19 nortestosterona, salbutamol, ácido salicílico y trenbolona . Las drogas básicas y las hidrófobas fueron las que se unieron de manera más fuerte. La unión puede ser de tipo iónico (15). Algunos de los promotores de crecimiento naturales y sintéticos que se unen de manera significativa a la melanina son: el $17\text{-}\beta$ estradiol, la testosterona, el

α -zeranol, el dietilestilbestrol y la 19 nortestosterona. Por otra parte la progesterona y la 17- α trenbolona se unieron en menor grado. Estos estudios claramente indican el gran potencial del análisis de los tejidos pigmentados, como el pelo, en el monitoreo del uso de drogas veterinarias, particularmente aquellas sustancias prohibidas en animales de abasto (31).

IX. LA NEUROMELANINA

La neuromelanina es un tipo especial de melanina, que se produce en las células nerviosas dopaminérgicas de la sustancia negra, del área ventral tegmental y en el núcleo parabraquial del encéfalo. La neuromelanina es un polímero complejo distinto a la eumelanina o faomelanina. Se deriva de la 5-S-cisteinil-dopamina y de aminocromos dopamimicrocromos y probablemente es un subproducto de la síntesis de catecolaminas. Otros autores señalan que la neuromelanina se produce por la autooxidación de DOPA a dopamina (35,37). Es importante resaltar que los mamíferos de escala filogenética baja como los roedores no producen neuromelanina y que el humano tiene la concentración de neuromelanina más elevada. En esta especie se le ha imputado una importancia especial a la neuromelanina, ya que la enfermedad de Parkinson ataca predominantemente las células pigmentadas de la pars compacta de la sustancia negra, en especial aquellas con alto contenido de hierro y bajo contenido de calbindina, esto es, aquellas que tienen poca protección contra el estrés oxidativo (35).

La neuromelanina se ha identificado a través del tiempo como un subproducto del metabolismo de las catecolaminas en el cerebro. Sin embargo recientemente se le ha atribuido un papel protector al quelar metales pesados tóxicos (especialmente hierro, zinc, molibdeno, selenio, cobre y oro). Los niveles de

neuromelanina son bajos en la infancia y después se incrementan hasta llegar a un valor estable entre los 60 a 70 años de edad en el humano, donde después disminuyen. Esto puede ser debido a la destrucción progresiva de las células pigmentadas. Una hipótesis alternativa es que la función de la melanina puede ser el de proteger a la célula de las quinonas tóxicas que son fácilmente formadas por autooxidación u oxidación enzimática a partir de la dopamina, noradrenalina y adrenalina. Los adenocromos son altamente tóxicos para las neuronas *in vitro*. Estos compuestos se unen de manera covalente al DNA y a los grupos sulfidrilo de las proteínas. Una neurotoxina, la 6 dihidroxidopamina, es solo tóxica cuando se convierte en el cuerpo a dopaminocromo que se une de manera irreversible a la catecolamina o a la metil transferasa. Un exceso en la producción de aminocromos o un defecto en su destoxificación por la neuromelanina u otros agentes, pueden ser la base de algunos desórdenes neurológicos. Si esto ocurre en el sistema nigro-estriatal, se puede provocar la enfermedad de Parkinson. Si esto ocurre en el tracto mesolímbico o en el sistema noradrenérgico, puede provocarse esquizofrenia. No hay reportes de la presencia de neuromelanina en las neuronas adrenérgicas del cerebro (35).

X. GENETICA DE LA PIGMENTACION.

La pigmentación en los mamíferos se encuentra bajo un complejo control genético. Se conocen mas de 50 loci que se encuentran involucrados en la formación del color de la capa en el ratón. Las mutaciones que afectan estos loci se pueden dividir en tres categorías (7,29).

Primero hay mutaciones que parece que actúan sobre el metabolismo general, o genes "caseros" comunes. Estos genes probablemente se expresan en diversos tejidos, y sus efectos sobre el color es probable que no sean específicos. Por ejemplo la mutación mottled (**Mo**) afecta el metabolismo del cobre y reduce la pigmentación debido a que la tirosinasa es una enzima que contiene cobre. La mutación pálida (**pa**) se da en un gen que codifica una proteína putativa asociada a un organelo de membrana. Esto soporta la idea que los productos de este y loci similares pudieran constituir un grupo de proteínas compartidas entre los melanosomas, lisosomas, plaquetas y en algunos casos otros organelos, lo que también sugiere que esos organelos pueden provenir de un precursor común.

El segundo grupo comprende a las mutaciones en genes que afectan alguna función específica en los melanocitos maduros y provocan el cambio del color de la capa y de los ojos. El ejemplo más conocido es el albino (**c**), en el locus estructural de la tirosinasa. El loci involucrado presumiblemente codifica a los

genes que se requieren para la melanogénesis y son expresados por los melanocitos, y aparentemente son compartidos por los melanocitos de la retina y del tegumento a pesar de sus puntos de origen distinto. Todos estos loci relacionados a la pigmentación residen en distintos cromosomas. Algunas mutaciones en estos loci no solo tienen efectos dramáticos sobre la pigmentación, sino que también desarrollan efectos pleiotrópicos (5,39).

El tercer grupo engloba a las mutaciones que afectan el desarrollo embrionario de los melanocitos del tegumento y generalmente no tienen efectos sobre el color de los ojos, pero si provocan una ausencia local o generalizada de pigmentación en la piel y pelo. Los genes implicados incluyen aquellos que controlan la diferenciación del melanoblasto a melanocito, además de su proliferación, supervivencia y migración (5).

Genes que afectan la función de los melanocitos.

El locus albino (c).

Se ha postulado que el gen que codifica a la enzima tirosinasa se encuentra en el locus albino (c) en el cromosoma 7 del ratón (17,29,38). El alelo natural C es dominante sobre todos los demás alelos y provee una actividad tirosinasa total. En muchos mamíferos incluyendo al humano y ratón, la mutación recesiva en este gen causa una pérdida completa del pigmento de melanina. Los animales con genotipo *c/c* son albinos, esto es, tienen la piel y pelo blancos y los ojos rojos. Sin embargo existe un número normal de melanocitos sin melanina (melanocitos amelanóticos) en la piel y el pelo. Los animales heterocigotos expresan un estado intermedio entre los homocigotos *c/c* y *C/C*. Se cree que el fenotipo albino proviene de una ausencia de actividad de la enzima tirosinasa (4,29). Otros alelos del locus *c* como el chinchilla (*cch*) muestra una reducción en la pigmentación al alterar la actividad de la tirosinasa por medio de aumento a la sensibilidad proteolítica, y el himalayan (*ch*) donde hay una alteración en la glicosilación de la tirosinasa que provoca un fenómeno de pigmentación sensible a la temperatura, de tal manera que solo las extremidades están pigmentadas, como en el conejo Himalayan. Todos estos hallazgos hacen suponer que en el locus *c* se encuentra el gen estructural que codifica a la tirosinasa. A los ratones homocigotos con la mutación albino se les puede

restaurar su fenotipo natural con la inserción transgénica del gen de la tirosinasa (4,5,17).

El locus brown/PRT1.

Una mutación en el locus **brown (b/b)**, común en el ratón (cromosoma 4) no elimina la pigmentación sino que provoca un cambio en el color de la melanina de negro a café . La proteína sintetizada por este locus se identificó al principio como PRT y después PRT-1. La PRT-1 tiene un 36 % de identidad de aminoácidos con la tirosinasa (17). La función de la PRT-1 o proteína brown es controversial. Es capaz de hidroxilar la tirosina y producir melanina, aunque con una especificidad mucho menor que la mostrada por la proteína sintetizada en el locus albino (c) (39). Comparte todos los dominantes funcionales de la tirosinasa, algunos sitios de glicosilación y casi todos los residuos de cisteína, indicando una estructura secundaria muy similar a la tirosina. Se propone que la TRP-1 tiene actividad catalasa y que puede evitar la atenuación del color de la melanina provocada por el peróxido que se genera durante la melanogénesis. Otros autores señalan que es una segunda tirosinasa (5,13,28).

El locus slaty/PRT2/DCT

El locus **slaty** en el cromosoma 14 del ratón sintetiza una proteína con actividad DCT o PRT-2 (7). La mutación en este locus produce un aclaramiento leve del pigmento de melanina. La TRP2 es una enzima que participa en la melanogénesis y se le ha denominado dopacromotautomerasa (DCT), dopacromo oxidoreductasa (DCOR) y dopacromo isomerasa (DCI) (5,8,39).

El locus silver (si).

Las mutaciones en este locus provoca en una pérdida progresiva del pigmento del pelo en los ratones de capa negra y café. Microscópicamente hay una desaparición de los melanocitos de los folículos pilosos. Al menos una parte del fenotipo **si** parece ser intrínseco al melanocito y no al ambiente folicular. La proteína **pmel 17** es sintetizada en este locus. Esta proteína se localiza en los melanosomas asociada a las membranas melanosomales y dentro de la matriz (8,13,24).

Locus que afectan a la producción de faomelanina o eumelanina en los múridos.

El locus agouti y el locus extension.

Los melanocitos están regulados por dos genes para la producción de los dos tipos de melaninas. Estos son los genes agouti y extension (40). El color de la capa en los ratones que se presenta de manera natural, el "wild type", se denomina color agouti. El patrón de color agouti esta formado por tres bandas de color en cada pelo. A los extremos de cada pelo existe una banda de color negro (eumelanina) y en le centro de estas una banda de color amarillo (faomelanina). El color resultante, pardo, es el color que tienen muchos mamíferos pequeños y que les ayuda a mimetizarse de manera efectiva en el medio. La elaboración de este patrón de pigmentación requiere un control concertado en los melanocitos de cada folículo piloso. El gen extension codifica al receptor MCR1 de la melanocortina $MSH\alpha$ (40). La $MSH\alpha$ se une al MC1R en la superficie del melanocito, lo activa e inicia la vía señalizadora de transducción para la síntesis de eumelanina, que es mediada por la activación de la adenilciclase y la elevación intracelular de los niveles de AMPc (21). Así se soporta que la señalización para la síntesis eumelanina puede estar mediada por el AMPc. Esto concuerda con la evidencia de que la $MSH\alpha$ activa a la adenil ciclase en melanomas y melanocitos. El receptor MC1R está expresado en melanocitos normales y malignos, y se ha denominado receptor de la $MSH\alpha$ por su alta

afinidad a esta hormona. El MC1R clonado ha mostrado igual afinidad por la MSH α y la ACTH (36).

El gen *agouti* tienen la capacidad de codificar a un péptido señalizador, el factor A. Esta es una proteína secretada no solo por el melanocito si no que también se presenta en las células del ambiente folicular. Esta proteína es un factor paracrino que señala al melanocito para favorecer la producción de faomelanina (amarilla) en lugar de eumelanina (negra). Esto lo realiza evitando el incremento de AMPc intracelular (22). El factor A se expresa en las células del folículo piloso, principalmente en las células dermales y regula la síntesis en el melanocito durante el ciclo de crecimiento del pelo. Al inicio y al final del crecimiento del pelo, los melanocitos foliculares responden a la MSH α para producir eumelanina. En la mitad del ciclo de crecimiento, la cantidad de factor A secretado es suficiente para antagonizar a la MSH α y esto favorece la síntesis de faomelanina. En el ratón el gen *extension* es epistático al gen *agouti* de tal manera que los animales dominantes en ambos alelos codifican receptores activos para la MSH α y sintetizan pigmento oscuro (40). En los zorros como en el ratón, la capa de color oscuro puede ser resultado de receptores MCR1 activos o a un estado de homocigosis recesiva en el locus *agouti*. Se han encontrado zorros con alelos dominantes en el loci del gen *extension* pero que tienen una importante coloración roja en la capa, sugiriendo una habilidad

especial de la proteína agouti para contrarrestar la actividad señalizadora de receptores MCR1 activos (40). Hay varios alelos mutantes en el locus agouti con efectos prominentes en el color de la capa. Algunos alelos recesivos borran la banda de faomelanina para dar un ratón con capa negra como el **no agouti (a/a)** que fenotípicamente es un ratón con capa negra con algunos pelos con color agouti alrededor de las orejas, mamas y perineo cuando es homocigoto. Los alelos dominantes **amarillo letal (Ay)** y **amarillo viable (Ayv)** favorecen la producción de faomelanina, expresando a un ratón con capa amarilla. Además la expresión ectópica del factor A en la mutación letal **Ay/a** del ratón provoca el síndrome letal amarillo (caracterizado por un ratón que desarrolla obesidad, diabetes, y tendencia a neoplasias en diferentes órganos), lo que refleja una acción pleitrópica de la proteína. Los alelos agouti además modulan la concentración de grupos thiol. Los folículos pilosos **Ay/a** exhiben los niveles de thiol más altos y se incrementa la relación de la cisteína y el glutatión (1,5,12,13,22,25,36).

El locus Dilute y loci relacionados.

Hay tres mutaciones de color en los múridos que tienen un efecto similar en los melanocitos: provocan una pérdida de dendritas pigmentadas *in vivo*. Estas mutaciones son la dilute (d), leaden (ln) y ashen (ash) (26). El loci dilute de los múridos codifica una proteína de miosina pesada no convencional que está involucrada en la forma del melanocito y en la distribución del pigmento (17,32). El fenotipo puede ser resultado de algún defecto en la morfología de las dendritas o a un defecto en el transporte de los melanosomas dentro de las dendritas. La pigmentación del pelo consiste en grandes agregados, posiblemente melanocitos separados o partes de ellos (26).

Genes que afectan el desarrollo de los melanocitos.

El locus W

El locus **W** es uno de los genes asociados al color de la capa más estudiados. Todas las mutaciones **W** son dominantes o semidominantes sobre los alelos salvajes y en general afectan la fertilidad y la hematopoyesis así como la melanización. La característica que comparten las líneas celulares afectadas es que los melanoblastos, las células germinales primordiales y las células hematopoyéticas primitivas son células que migran a través del embrión. Las mutaciones **W** actúan durante el desarrollo embrionario, reduciendo el número de estos tres tipos de precursores celulares en algunos casos probablemente hasta cero. Los efectos postnatales corresponden, excepto para algunas líneas hematopoyéticas, como los mastocitos, a una depleción severa (5).

El locus steel.

El locus **steel (Sl)** codifica el factor de crecimiento del mastocito (**MGF**), el cuál es requerido para el desarrollo de células germinales, células hematopoyéticas y melanocitos. El **MGF** es requerido para los estadios múltiples embrionarios y postnatales del desarrollo de células germinales. Aunque el patrón de expresión del gen **MGF** está bien caracterizado, se conoce poco acerca de los factores que regulan esta expresión (3,24,28).

tabla 1. Mutaciones en el color de la capa en el ratón.

Símbolo	Nombre	Cromosoma	Efectos o tejido blanco.
a	Agouti	2	Expresado en los folículos pilosos, no en los melanocitos. Secreta un péptido que controla la síntesis de faomelanina y eumelanina.
ash	Ashen	9	Citoesqueleto del melanocito?
b	Brown	4	Proteína relacionada a la tirosinasa 1
c	Albino	7	Tirosinasa.
d	Dilute	9	Cadena pesada de miosina (melanocito, neurona).
c	Extensivo o amarillo recesivo.	8	Probablemente receptor a la MSH.
In	Leaden	1	Citoesqueleto del melanocito?
si	Silver	10	Posiblemente la glicoproteína melanosomal Pmel 17.
slt	Slaty	14	Proteína relacionada a la tirosinasa 2/ Dopacromo tautomerasa.
Sl	Steel	10	Codifica el factor steel (SLF), un factor de diferenciación, crecimiento para los melanoblastos, varias células hematopoyéticas y células germinales primordiales.
W	Moteado (blanco) dominante.	5	Receptor para el SLF.

XII. TRASTORNOS DE LA PIGMENTACION.

A la hiperpigmentación adquirida de la piel se le denomina melanodema. Esta es encontrada con frecuencia y por lo general es el resultado de una irritación crónica y puede ser acompañada por una hiperqueratosis. La melanosis y la hiperqueratosis son las respuesta comunes a las afecciones medias causadas por agentes tan diversos como la sarna o la radiación (20).

La melanosis focal macular, parecida al léntigo en los humanos, ocurre en los animales domésticos, particularmente el perro. La hipermelanosis es el resultado en un incremento en el índice de producción de los melanosomas, un incremento en el tamaño del melanosoma o un incremento en el grado de melanización del melanosoma. Esta no es causada por un incremento en el número de melanocitos (20).

La hiperpigmentación adquirida también puede involucrar al pelo (melanotriquia) y es el resultado de desordenes inflamatorios de la piel, especialmente aquellos causados por insectos mordedores en el caballo (20).

El **acromelanismo** es visto en los gatos siameses e himalayan donde el color de la capa parece estar influida por la temperatura externa (las altas temperaturas producen pelos de color claro y las bajas temperaturas producen pelos oscuros) (20).

La **acantosis nigricans** canina es una dermatitis idiopática que ocurre principalmente en los Daschund y esta caracterizada por una hiperpigmentación progresiva, alopecia y liquenificación. Las lesiones son rugosas, simétricas, y típicamente comienzan en la axila y se diseminan a los miembros delanteros, abdomen ventral, cuello y área inguinal. La examinación histológica revela una dermatitis hiperplásica con orto o para-queratosis y acantosis. Todas las láminas de la epidermis están fuertemente melanizadas. La forma idiopática de la acantosis nigricans ha estado diferenciada de otro tipo de lesiones de la axila hiperpigmentada incluyendo a la atopia, fricción en perros obesos y trastornos hormonales. La patogénesis de la acantosis nigricans idiopática es desconocida. La deficiencia de hormonas tiroideas, hormonas estimulantes de la tiroides, factor liberador de la tirotrópina y la melatonina han sido postuladas (20). A la reducción en la pigmentación de la piel y pelo se le denomina **leucoderma** y **leucotriquia** respectivamente. El leucoderma y la leucotriquia pueden ocurrir

independientemente y pueden ser el resultado de una disminución en la melanina (hipomelanosis), una ausencia completa de melanina (amelanosis) y una pérdida de la melanina existente (despigmentación). Los eventos son el resultado de una ausencia de melanocitos sintetizadores de pigmento o una falla de los melanocitos para producir cantidades normales de melanina o para transferirla a los queratinocitos adyacentes. La forma puede ser hereditaria o adquirida. El piebaldismo es un ejemplo del primer tipo de hipomelanosis. Las manchas blancas en los animales moteados son el resultado de una falla congénita de los melanocitos para migrar de la cresta neural al tegumento. El piebaldismo se puede subdividir en los tipos jaspeado y no jaspeado. El perro dálmata es un ejemplo del piebaldismo tipo no jaspeado, donde las manchas negras se desarrollan como resultado de la migración post-natal de melanocitos, fundamentalmente de las paredes de los vasos sanguíneos o de las terminaciones nerviosas. El piebaldismo jaspeado ocurre en animales con el gen "merle", por ejemplo los collies merle y los gran danes arlequín, en estos animales las áreas blancas no contienen melanocitos. Las áreas de color gris contienen algunos melanocitos pero tienen melanosomas dispersos con morfología anormal. El albinismo es un ejemplo del segundo tipo de hipomelanosis. Está reportado en todos los animales domésticos excepto en el caballo. Los melanocitos en los animales y humanos albinos se encuentran

distribuidos de manera normal pero tienen un defecto en su función. El albinismo puede ser resultado en la incapacidad para sintetizar tirosinasa o de una falla en la melanización del melanosoma en presencia de esta enzima. El grado del defecto varía, así el albinismo abarca un espectro desde amelanosis hasta una pigmentación diluida. El síndrome Chediak-Higashi se observa en los humanos, en los bovinos, en los gatos, en el mink y otras especies y es un ejemplo de albinismo parcial. La melanina es sintetizada, pero hay un defecto de la membrana basal en este síndrome que da la formación de melanosomas gigantes que después son transferidos con dificultad a los queratinocitos. El agrupamiento de estos melanosomas gigantes producen un efecto de color diluido. La pérdida de pigmento adquirida después del daño al melanocito puede ser el resultado de varios agentes como el trauma, la inflamación, la radiación, irritantes, desordenes del sistema nervioso autónomo, endocrinopatías y deficiencias nutricionales. En general, los caballos tienden a despigmentarse después de un daño cutáneo, mientras que la piel de otros animales tiende a ser hipermelanótica. El síndrome de despigmentación del caballo árabe es un leucoderma idiopático no inflamatorio de los caballos árabes y ocasionalmente de otras razas. La despigmentación comienza en los animales jóvenes alrededor del morro, ojos y ocasionalmente el ano. Puede haber repigmentación, fenómeno

asociado con un cambio en la composición de la dieta, lo que sugiere una causa nutricional. La incidencia aumentada en ciertas líneas familiares sugiere una predilección genética. Aún no se determina la etiología y la patogénesis (20).

El vitiligo que significa "mancha" es una hipomelanosis adquirida de los humanos caracterizado por la expansión gradual de máculas pálidas que frecuentemente son simétricas o segmentales en su distribución. Raramente es hereditaria y cuando esto ocurre el inicio es tardío. El vitiligo a diferencia del albinismo o piebaldismo es el resultado de una despigmentación. La razón para la degeneración de los melanocitos existentes en la piel afectada es desconocida. Una patogénesis autoinmune esta basada en la asociación clínica del vitiligo con otros desórdenes autoinmunes, la presencia de linfocitos en el borde de la lesión y la demostración de anticuerpos contra células productoras de melanina en algunos pacientes (20).

La leucotriquia reticular, "banda de tigre", es un desorden reconocido en los caballos de razas Standar, Cuarto y Thorough. Las lesiones se presentan predominantemente en los añeros y consisten de costras lineales sombreadas en la línea media dorsal desde la cruz a la cola. Después ocurre alopecia seguida de un recrecimiento de pelo blanco permanente, la piel debajo es normal. La etiología es desconocida (20).

La **leucotriquia moteada** se presenta en los caballos como múltiples áreas circulares pequeñas de pelo blanco, muchas veces simétricas. Las manchas se presentan principalmente sobre la grupa y tronco. Los caballos árabes son los que tienen mayor predilección. La etiología y la patogénesis son desconocidas (20). Las enfermedades parecidas al vitiligo se han descrito en perros de la raza Teruven belga, Doberman pinscher, Newfoundland y pastor alemán. La condición mejor caracterizada se observa en los Teruvens belgas. La despigmentación en esta raza se presenta principalmente sobre la piel pigmentada de la cara y las membranas mucosas de la boca en los perros adultos jóvenes. La examinación histológica de la piel afectada muestra un epitelio carente de gránulos de pigmento y células positivas a DOPA. La microscopía electrónica confirma la ausencia de melanocitos en las lesiones y en su lugar se hallan células de Langherlans o células dendríticas indeterminadas (20).

La **despigmentación adquirida** en los labios o en la nariz ocurre en el perro como resultado de contacto con platos o juguetes de plástico o de goma, y es de naturaleza idiopática. La **hematopoyesis cíclica** (neutropenia cíclica) es una enfermedad hereditaria letal de los perros collie y es causada por un gen autosómico recesivo con un efecto pleiotrópico en la coloración del pelo. Los

perros afectados son de color gris plata. La pigmentación anormal del pelo es el resultado de la disminución en la formación de melanina a partir de su precursor la tirosina más que de la conglomeración del pigmento. La capa de color del collie normal se restaura una vez que el animal ha recibido trasplantes de médula ósea para corregir la hematopoyesis cíclica (20). El **síndrome de bronceado del dalmata** es una enfermedad poco definida de los perros dalmata que se caracteriza por alopecia parcial, decoloración rojo cobriza del pelo blanco y predisposición a presentar pioderma secundario. Las lesiones se ven primariamente a lo largo del tronco. La etiología es desconocida, aunque se han postulado como causa de este síndrome alteraciones en el metabolismo del ácido úrico y de la vitamina D. Las lesiones mejoran cuando los animales se alimentan con una dieta baja en proteína, baja en purina y además se tratan con alopurinol. Una enfermedad rara del Chow-chow se caracteriza por la despigmentación de la mucosa bucal, de la lengua y del pelo. Los animales tienen elevados niveles de tirosinasa plasmática pero la enzima es inactiva. La suplementación con cobre restaura la actividad de la tirosinasa y el tegumento y los apéndices vuelven a su pigmentación normal (20).

El único desorden significativo en la pigmentación del tegumento en los animales de abasto es la **deficiencia de cobre**. La deficiencia de cobre puede ser simple o condicionada por otras sustancias de la dieta particularmente sulfatos y molibdeno. Ya que el cobre es un constituyente esencial de la tirosinasa, los animales deficientes muestran despigmentación del pelo o de la lana. La capa negra de los bovinos afectados se empiezan a hacer café óxido y desarrollan lesiones de "gafas" alrededor de los ojos. Las ovejas negras desarrollan bandas intermitentes de lana de color claro correspondientes a los periodos de restricción en la disponibilidad del cobre. La deficiencia de cobre también afecta la naturaleza física de la lana o pelo. En el borrego, la lana tiene menos rizos o "nudos". La rigidez de la lana es debido a una inadecuada queratinización, probablemente causada por una oxidación imperfecta de los grupos sulfidrilos de la prequeratina, un proceso que involucra al cobre posiblemente como catalizador (20).

CONCLUSIONES

La melanina es el pigmento que le proporciona color a los mamíferos. Hemos comprendido algunos de los aspectos por los cuales se observa la gran diversidad de tonalidades que tiene en los animales. Se ha comprendido que el pigmento de la melanina es un factor importante para la vida animal en la tierra, debido a que capta a las radiaciones ultravioleta. Aún se sigue investigando sobre las funciones que tiene la melanina a nivel celular y seguramente se encontrarán otras funciones que permiten suponer que la melanina es más que un pigmento, significándose como un polímero biológico de gran importancia.

Bibliografía:

1. Argeson, A.C., Nelson, K.K., and Siracusa, L.D.: Molecular basis of the pleiotropic phenotype of mice carrying the hypervariable yellow (Ahvy) mutation at the agouti locus. *Genetics*, 142: 557-567 (1996).
2. Aroca, P., Solano, F., Salinas, C., García-Borrón, J.C., and Lozano, J.A.: Regulation of the final phase of mammalian melanogenesis: The role of dopachrome tautomerase and the ratio between 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid and 5,6-dihydroxyindole. *Eur. J. Biochem.*, 208: 155-163 (1992).
3. Bedell, M.A., Copeland, N.G., and Jenkins, N.A.: Multiple pathways for Steel regulation suggested by genomic and sequence analysis of the murine Steel gene. *Genetics*, 142: 927-934 (1996).
4. Beermann, F., Ruppert, S., Hummler, E., Bosch, F.X., Müller, G., Rüther, U., and Schütz, G.: Rescue of the albino phenotype by introduction of a functional tyrosinase gene into mice. *EMBO. J.*, 9: 2819-2826 (1990).
5. Bennett, D.C.: Genetics, Development, and Malignancy of Melanocytes, 191-225. *International Review of Cytology*, Vol.146 Academic Press Inc. London, 1993.
6. Biological Coloration. *Encyclopedia Britannica*. Copyright 1994-1998.
7. Bouchard, B., Del Marmol, V., Jackson, I.J., Cherif, D., and Dubertret, L.: Molecular characterization of a human tyrosinase-related-protein-2 cDNA: Patterns of expression in melanocytic cells. *Eur. J. Biochem.*, 219: 127-134 (1994).
8. Chakraborty, A. K., Platt, J.T., Kack, K.K., Byoung S.K., Bennett, D.C., and Pawelek, J.M.: Polymerization of 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid to melanin by the pmel 17/silver locus protein. *Eur. J. Biochem.*, 236: 180-188 (1996).
9. Del Marmol, V., Beermann, F.: Tyrosinase and related proteins in mammalian pigmentation. *FEBS Letters*., 381:165-168 (1996).
10. Donatien, P.D., and Orlow, S.J.: Interaction of melanosomal proteins with melanin. *Eur. J. Biochem.*, 232: 159-164 (1995).

11. Ganss, R., Schutz, G., and Beermann, F.: The mouse tyrosinase gene. Promoter modulation by positive and negative regulatory elements. *Journal of Biological Chemistry.*, 269: 29808-29816 (1994).
12. Granholm, D.E., Reese, R.N., and Granholm, N.H.: Agouti alleles alter cysteine and glutathione concentrations in hair follicles and serum of mice (Ay/a, Awj/Awj, and a/a). *Journal of Investigative Dermatology.*, 106: 559-563 (1996).
13. Hearing, J.V., and Tsukamoto K.: Enzymatic control of pigmentation in mammals. *FASEB J.*, 5: 2902-2909 (1991).
14. Hervieu, G., Volant, K., Grishina, O., Descroix-Vagne, M., and Nahon, J.L.: Similarities in cellular expression and functions of Melanin-Concentrating Hormone and Atrial Natriuretic Factor in the rat digestive tract. *Endocrinology.*, 137: 561-571 (1995).
15. Howells, L., Godfrey, M., and Sauer, M.J.: Melanin as an adsorbent for drug residues. *Analyst.*, 119: 2691-2693 (1994).
16. Ito, S.: Reexamination of the structure of eumelanin. *Biochim. Biophys. Acta.*, 883 :155-161 (1986).
17. Jackson, J., Chambers, M., Tsukamoto, K., Copeland, N.G., Gilbert, D.J., Jenkins A.N., and Hearing V.: A second tyrosinase-related protein, TRP-2, maps to and is mutated at the mouse *slaty* locus. *EMBO. J.*, 11: 527-535 (1992).
18. Jacobson, E.S., and Tinnell, S.B.: Antioxidant function of fungal melanin. *Journal of Bacteriology.*, 175 : 7102-7104 (1993).
19. Jara, J.R., Aroca, P., Solano, F., Martínez, J.H., and Lozano, J.A.: The role of sulfhydryl compounds in mammalian melanogenesis: the effect of cysteine and glutathione upon tyrosinase and the intermediates of the pathway. *Biochim. Biophys. Acta.*, 967: 296-303 (1988).
20. Jubb K.V.F., Peter C.K., Michel P.: *Pathology of domestic animals.* Third Edition Vol. 1 Academic Press (1985).

-
21. Kimura, T., and Doi, K.: Responses of the skin over the dorsum to sunlight in hairless descendants of Mexican hairless dogs. *American Journal of Veterinary Research.* 55: 199-203 (1994).
22. Klebig, M.L., Wilkinson, J.E., Geisler, J.G., and Woychik, R.P.: Ectopic expression of the agouti gene in transgenic mice causes obesity, features of type II diabetes, and yellow fur. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 92: 4728-4732 (1995).
23. Kobayashi, T., Urabe, K., Winder, A., Jiménez-Cervantes, C., Imokawa, G., Brewington, T., Solano, F., García-Borrón, J.C., and Hearing, V.J.: Tyrosinase related protein 1 (TRP1) functions as a DHICA oxidase in melanin biosynthesis. *EMBO. J.*, 13: 5818-5825 (1994).
24. Kwon, B.S., Halabon, R., Ponnazhagan, S., Kim, K., Chintamaneni, C., Bennett, D., and Pickard, R.T.: Mouse silver mutation is caused by a single base insertion in the putative cytoplasmic domain of Pmel 17. *Nucleic Acids Research.*, 23: 154-158 (1995).
25. Manne, J., Argeson, A.C., and Siracusa, L.D.: Mechanisms for the pleiotropic effects of the agouti gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 92: 4721-4724 (1995).
26. Moore, K.J., Swing, D.A., Copeland, N.G., and Jenkins, N.A.: The murine dilute suppressor gene encodes a cell autonomous suppressor. *Genetics.*, 138: 491-497 (1994).
27. Palumbo, A., Misuraca, G., Ischia, M., Prota, G., and Schultz, T.M.: Structural modifications in biosynthetic melanins induced by metal ions. *Biochim. Biophys. Acta.*, 964: 193-199 (1988).
28. Pbedell, M.A., Brannan, C.I., Evans, E.P., Copeland, N.G., Jenkins, N.A., and Donovan, J.: DNA rearrangements located over 100 kb 5' of the steel (Sl)-coding region in steel-panda and steel-contrasted mice deregulate Sl expression and cause female sterility by disrupting ovarian follicle development. *Genes and Development.*, 9: 455-470 (1995).

-
29. Ruppert, S., Müller, G., Kwon, B., and Schütz, G.: Multiple transcripts of the mouse tyrosinase gene are generated by alternative splicing. *EMBO J.*, 7: 2715-2722 (1988).
30. Sama, T., Pilas, B., Land, E.J. Truscott, G.: Interaction of radicals from water radiolysis with melanin. *Biochim. Biophys. Acta.*, 883: 162-167 (1986).
31. Sauer, M.J., and Anderson, S.P.L.: In vitro and in vivo studies of drug residue accumulation in pigmented tissues. *Analyst.*, 119:2553-2556 (1994).
32. Seperack, P.K., Mercer, J.A., Strobel, M.C., Copeland, N.G., and Jenkins, N.A.: Retroviral sequences located within an intron of the dilute gene alter dilute expression in a tissue-specific manner. *EMBO J.*, 14: 2326-2332 (1995).
33. Shiojiri, N., Oguri, Y., Satoh, H., and Nakamura, A.: Distribution of melanocytes in feather germs of a plumage mutant Bh (black at hatch) embryo of Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*), *Zoological Science.*, 13: 719-723 (1996).
34. Sjolín, F.G., Berne, B., Johansson, M., Olsson, M.J., and Rollman, O.: Differential uptake of chloroquine by human keratinocytes and melanocytes in culture. *Archives of Dermatological Research.*, 4: 211-215 (1996).
35. Smythies, J.: On the function of neuromelanin. *Proc. R. Soc. Lond.*, 263: 487-489 (1996).
36. Suzuki, I., Cone, R. D., Im, S., Nordlund, J., and Malek-Abdel, Z. A.: Binding of melanotropic hormones to the melanocortin receptor MC1R on human melanocytes stimulates proliferation and melanogenesis. *Endocrinology.*, 137: 1627-1633 (1996).
37. Tief, K., Hahne, M., Schmidt, A., and Beermann, F.: Tyrosinase, the key enzyme in melanin synthesis, is expressed in murine brain. *Eur. J. Biochem.*, 241: 12-1661
38. Tsukamoto, K., Palumbo, A., Ischia, M., Hearing, V.J. and Prota, G.: 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid is incorporated in mammalian melanin. *Biochem. J.*, 286: 491-495 (1992).

-
39. Tsukamoto, K., Jackson, I.J., Urabe, K., Montague, P.M., and Hearing, V.J.: A second tyrosinase-related protein, TRP-2, is a melanogenic enzyme termed DOPACHrome tautomerase. EMBO J., 11: 519-526 (1992).
40. Vage, D.I., Lu, D., Klungland, H., Lien, S., Adalsteinsson, S., and Cone, R.D.: A non-epistatic interaction of agouti and extension in the fox (*Vulpes vulpes*), Nature Genetics., 15: 311-315 (1997).
41. Wang, Y., Aisen, P., and Casadevall, A.: Cryptococcus neoformans melanin and virulence: mechanism of action. Infection and Immunity., 63: 3131-3136 (1995).