

Role of leptin and its receptor on bovine mammary gland[□]

Papel de la leptina y su receptor en la glándula mamaria bovina

Papel da leptina e seu receptor na glândula mamária bovina

Diana M Echeverry^{1*}, MV; Felipe Penagos¹, Estud MV; Zulma Tatiana Ruiz-Cortés¹, MV, Msc, PhD.

¹Grupo de Investigación Biogénesis, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, AA 1226, Medellín, Colombia.

(Recibido: 18 julio, 2011; aceptado: 8 mayo, 2012)

Summary

Leptin is a hormone-like protein involved in physiological processes related to the regulation of energy metabolism, reproduction, immunity, cancer, breastfeeding, among others. Leptin receptor is expressed in almost all tissues and generates six isoforms from a single mRNA. The predominant isoform in bovine mammary gland is the Ob-Rb, which triggers a signaling cascade through JAK-STAT molecules to induce proliferation, differentiation and apoptosis, according to the female reproductive stage. In small ruminants, such as sheep and goats, leptin and its receptor levels vary widely, being high at the beginning of pregnancy, tending to fall in mid-gestation, and remaining low until the end of lactation. An expression pattern of leptin receptor has not yet been established for the various reproductive stages in bovine mammary gland. Such study is considered important and necessary to understand the effect of leptin via its receptor in mammary gland, especially during lactation when the gland undergoes tissue remodeling to sustain high milk production. This review presents a hypothesis about the signaling pathway triggered by leptin receptor in the mammary gland during bovine lactation.

Key words: bovine, lactancy, leptin, leptin receptor, mammary gland, ruminants.

Resumen

La leptina es una hormona proteínica que participa en procesos fisiológicos relacionados con la regulación del metabolismo energético, reproducción, inmunidad, cáncer, lactancia, entre otros. Su receptor se expresa en casi la totalidad de los tejidos, presentando seis isoformas a partir de un mismo ARNm. La isoforma predominante en la glándula mamaria bovina es la Ob-Rb, a través de la cual se puede desencadenar una cascada de señalización por medio de las moléculas JAK-STAT, para inducir

□ Para citar este artículo: Echeverry DM, Penagos F, Ruiz-Cortés ZT. Papel de la leptina y su receptor en la glándula mamaria bovina. Rev Colomb Cienc Pecu 2012; 25:500-510.

* Autor para correspondencia: Diana María Echeverry. Grupo de investigación Biogénesis, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia. Carrera 75 N° 65-87 Bloque 46-202, AA 1226, Medellín, Colombia. Correo electrónico: dianaecheverrymv@hotmail.es

proliferación, diferenciación y apoptosis celular de acuerdo al estadio reproductivo de la hembra. En pequeños rumiantes, tales como ovejas y cabras, los niveles de leptina y su receptor varían considerablemente durante la preñez y lactancia: son altos al inicio de la gestación, tienden a descender hasta la mitad de esta etapa y permanecen bajos hasta la finalización de la lactancia. En la glándula mamaria de bovinos aún no se ha establecido un patrón de expresión de los receptores durante diferentes etapas reproductivas, estudio que se considera importante y necesario para comprender el efecto de la leptina sobre su receptor en glándula mamaria, especialmente durante la lactancia, periodo durante el cual sufre una remodelación celular del tejido glandular para sostener una alta producción láctea. En la presente revisión se plantea una hipótesis de cómo podría ser la vía de señalización desencadenada por el receptor de leptina en la glándula mamaria durante la lactancia.

Palabras clave: bovinos, glándula mamaria, lactancia, leptina, receptor de leptina, rumiantes.

Resumo

A leptina é um hormônio protéico envolvido em processos fisiológicos relacionados com a regulação do metabolismo energético, reprodução, imunidade, câncer, lactação, entre outros. Seu receptor é expresso em quase todos os tecidos e apresenta seis isoformas a partir do mesmo mRNA. A isoforma predominante na glândula mamária bovina é a Ob-Rb, através da qual é desencadeada uma cascata de sinalização através das moléculas JAK-STAT para induzir a diferenciação, proliferação e apoptose de acordo com o estágio reprodutivo da fêmea. Em pequenos ruminantes, como ovinos e caprinos, os níveis de leptina e seu receptor variam consideravelmente durante a gravidez e a lactação. São altos no início da gravidez, tendem a cair na metade dessa fase e permanecem baixos até o final da lactação. Ainda não foi estabelecido um padrão de expressão do receptor de leptina na glândula mamária de bovinos durante diferentes estágios reprodutivos. O estudo deste tema é importante e necessário para entender o efeito da leptina sobre o seu receptor na glândula mamária, especialmente durante a lactação, período no qual a glândula mamária sofre remodelação do tecido glandular com a finalidade de sustentar a alta produção de leite. A presente revisão apresenta uma hipótese sobre a via de sinalização que é desencadeada pelo receptor da leptina na glândula mamária durante a lactação.

Palavras chave: bovinos, glândula mamária, lactação, receptor a leptina, leptina, ruminantes.

Introducción

La leptina es una hormona de tipo proteínico, descubierta en 1994 por Friedman y colaboradores, y que se asoció principalmente con la obesidad, denominándose así con las siglas “Ob” (Zhang *et al.*, 1994). Esta hormona no sólo participa en la regulación energética, recientemente se ha descubierto que regula diversas funciones a nivel fisiológico, incrementando su importancia en investigación.

La leptina es una proteína glucosilada producida a partir de un precursor de 167 aminoácidos y con un peso molecular de 16 kDa, con dos puentes disulfuro necesarios para su actividad biológica (Acosta, 2006). Su receptor (Ob-R) fue descubierto en los plexos coroideos de ratón (Tartaglia, 1997) y tiene una alta similitud con los receptores de la familia de las interleuquinas. Presenta seis

isoformas (Ob-Ra, Ob-Rb, Ob-Rc, Ob-Rd, Ob-Re y Ob-Rf), siendo la segunda, la de mayor longitud que presenta dominio intracelular (extremo carboxiloterminial) requerido para desencadenar la cascada de señalización y activación de quinasas y, la de mayor abundancia en la mayoría de tejidos (Butte *et al.*, 1997; Aizawa-Abe *et al.*, 2000).

La diferencia de las seis isoformas del receptor se encuentra en su extremo carboxiloterminial; la isoforma OB-Re solo presenta un dominio extracelular, careciendo de dominio transmembrana y citoplasmático, se estima que es secretado y se transforma en proteína sérica de unión a leptina (Gavrilova *et al.*, 1997; Gallardo *et al.*, 2005). Los receptores se expresan en la mayoría de tejidos, lo que lleva a concluir que la leptina es una hormona ubicua (Tartaglia, 1997). La expresión de los receptores en glándula mamaria, al unirse con la hormona, desencadenan por vías de señalización

celular un efecto importante en el desarrollo e involución de dicho tejido en diferentes estadios fisiológicos (Bonnet *et al.*, 2002). En los humanos, estos efectos están siendo estudiados por su relación con el cáncer de seno y la lactancia (Ishikawa *et al.*, 2004; Zanardo *et al.*, 2005); sin embargo, en bovinos no hay suficientes reportes sobre dichos efectos en la glándula mamaria. El objetivo de esta revisión es describir la importancia del receptor de leptina en la glándula mamaria bovina, específicamente durante la lactancia, partiendo de conocimientos sobre otras especies y plantear hipótesis a partir de dichos estudios acerca del efecto de la leptina y la vía de señalización que desencadenaría en este órgano tan importante para la producción láctea.

La hormona leptina y su receptor

El gen de la leptina consiste de tres exones con dos regiones codificantes separadas por dos intrones, dicho gen codifica para un ARNm de 4.5 kb que da lugar a un producto de 167 aminoácidos

y una secuencia señal de 21 aminoácidos que son indicativos de una proteína secretora (Houseknecht, 1998). Dicha hormona consta de cuatro α -hélices (A, B, C y D), es miembro de la familia de las citoquinas, y sus primeras funciones conocidas se relacionaron con el control de la ingesta de comida y la homeóstasis energética, debido a su efecto sobre el núcleo arcuato del hipotálamo.

La hormona leptina es secretada principalmente por las células del tejido adiposo, pero también por muchas otras células de órganos como hígado, placenta, cerebro, estómago, músculos, glándula mamaria, entre otros. Su actividad sobre las células se puede considerar como paracrina, autocrina y endocrina, y está mediada a través del receptor transmembrana Ob-Rb (Tartaglia, 1997). El dominio extracelular del Ob-R está conformado por 816 aminoácidos, contiene dos dominios de unión a citoquinas en los aminoácidos 251-325 y 551-627, donde cada dominio contiene motivos de unión a Trip-Ser-X-Trip-Ser; un dominio de unión a inmunoglobulina y un dominio tipo II y otro tipo III de fibronectina (Figura 1) (Munzberg *et al.*, 2004).

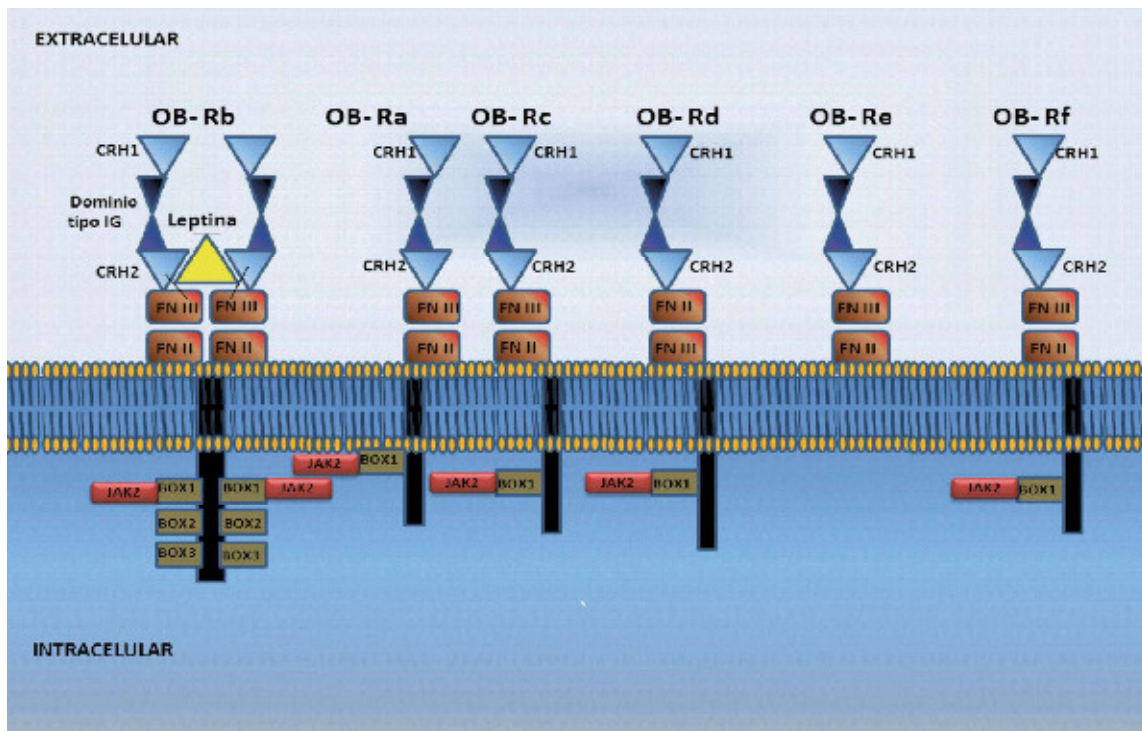


Figura 1. Isoformas del receptor de leptina. En la figura se ilustran las seis isoformas del receptor de leptina. La isoforma-b contiene un dominio extracelular compartido por todas las isoformas, y un dominio intracelular. El dominio extracelular está compuesto por dos dominios de unión a citoquinas (CRH1 y CRH2), un dominio tipo II de fibronectina (FN III), un dominio tipo III de fibronectina y un dominio de unión a inmunoglobulina. El dominio intracelular varía entre las isoformas, siendo la isoforma a la que contiene las tres cajas (BOX1, BOX2, BOX3) que pueden desencadenar fosforilación de las moléculas STAT para continuar la vía de señalización (modificado de Bernotiene *et al.*, 2006).

Debido a su estructura, el receptor se ha clasificado dentro de la familia de receptores de citoquinas de clase I, a la que pertenecen los receptores de Interleuquina 2 (IL-2), hormona del crecimiento (GH) e Interferón (IFN). Cuando la leptina se une a las isoformas cortas, el receptor dimerizado desencadena la vía de la fosforilación de una IRS (Insuline Receptor Sustrate) y consecuentemente se activa la vía de la MAPK (Mitogenactivated Protein Kinase). Sin embargo, la vía de señalización y su importancia no está claramente establecida (Munzberg *et al.*, 2004; Gertler, 2009).

La activación de MAPK por cualquiera de las dos vías tiene un efecto de proliferación celular y efectos en la oxidación de ácidos grasos (Yamaji *et al.*, 2007). La unión de la hormona a la isoforma larga del receptor inicia la vía de señalización por el sistema JAK2 (Janus Kinasa 2, de la familia tirosina quinasa), el cual genera fosforilación de los residuos de tirosina, que luego activan moléculas de transcripción STAT 1, 3 y 5 (Signal Transducer and Activators of Transcription) (Munzberg *et al.*, 2004; Aizawa-Abe *et al.*, 2000; Miralles *et al.*, 2006; Yamaji *et al.*, 2007). Ob-Rb es selectivo para activar JAK2 e inducir fosforilación del complejo formado por la hormona, el receptor y JAK2; luego se da inicio a una cascada de fosforilaciones que involucra diversos sistemas enzimáticos; el primero es JAK2 que fosforila todas las proteínas con dominios SH2, las cuales pertenecen a tres familias diferentes: ERK (Extracelullar signal regulated kinase), las proteínas STAT3 (que actúan como reguladoras transcripcionales) y, las IRS (Insulin receptor substrate) o proteínas acopladoras asociadas al complejo hormona – Ob-Rb – JAK2 (Butte *et al.*, 1997; Laud *et al.*, 1999; Bernotiene *et al.*, 2006).

Una vez se ha dado la unión de la hormona al receptor, éste sufre un cambio conformacional por transfosforilación que activa a JAK, generando la

fosforilación de residuos de tirosina en la región citoplasmática del receptor de leptina (Gertler, 2009). La fosforilación en la tirosina 1138 del receptor es seguida por una asociación de las proteínas STAT3, las cuales también se fosforilan y causan la disociación del receptor y se translocan al núcleo para regular la expresión génica (Gertler, 2009).

Las proteínas STAT5 fosforiladas desencadenan una vía de señalización hacia la mitocondria relacionada con la apoptosis celular (Gertler, 2009). La activación y señalización de la molécula STAT1, vía JAK2, aún no se ha clarificado completamente, pero se sugiere que por esta vía la leptina puede inducir una respuesta a las citoquinas (Interferón).

La leptina induce una fuerte activación de STAT1 en ausencia de STAT3, lo que sugiere que STAT3 puede reprimir la activación de STAT1 (Gertler, 2009). Por su parte, las proteínas IRS pueden ser fosforiladas por varios sistemas de tirosina quinasa, ya sea relacionados con las isoformas larga o corta, y por esta vía activar la fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3-K) que a su vez puede desencadenar otras vías de señalización intrínseca a través de proteínas AKT (Activity Tyrosine Kinase), relacionadas con la síntesis de glicógeno y metabolismo de la glucosa (Figura 2) (Butte *et al.*, 1997). Esta última vía de señalización puede alterarse desencadenando un fenómeno conocido como resistencia a la leptina, modelo estudiado en roedores obesos en los cuales también se encontró resistencia a la insulina, por lo que una disfunción del Ob-R se relaciona con diabetes (Munzberg *et al.*, 2004; Münzberg *et al.*, 2005). Es tal vez por esto que se encuentran individuos obesos con niveles elevados de leptina, situación que se puede comparar con la diabetes tipo II, en la cual hay un elevado nivel de producción de insulina mientras se exhibe resistencia a ella (Tartaglia, 1997; Cheng *et al.*, 2009).

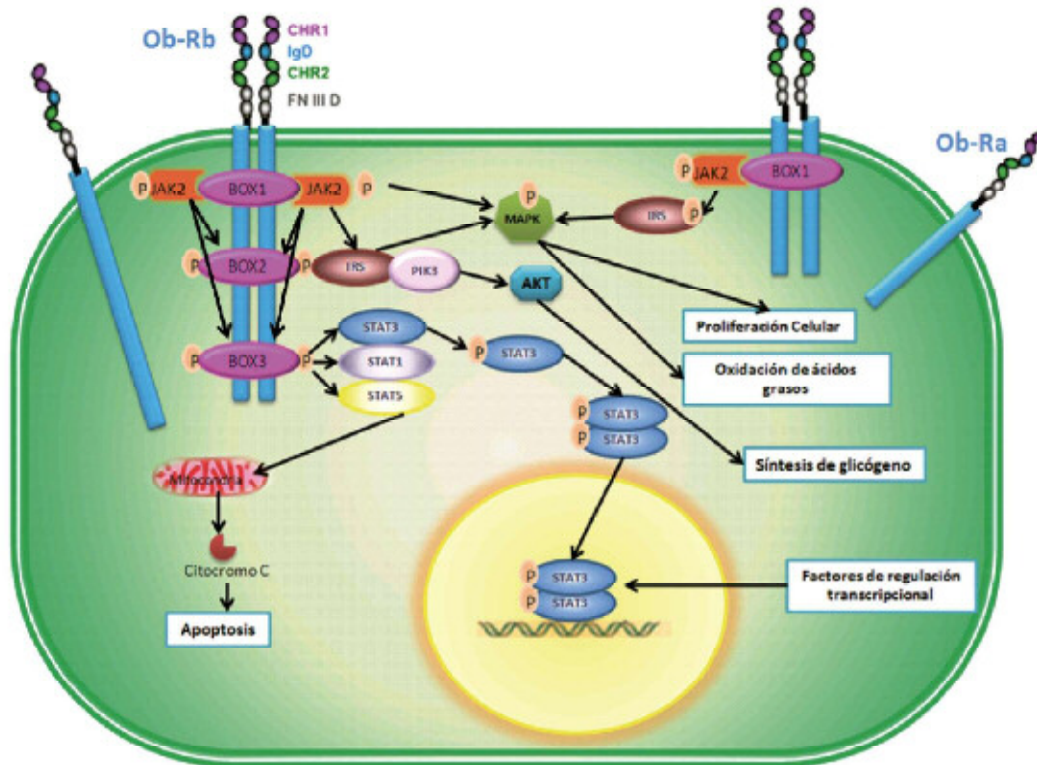


Figura 2. Vías de señalización del receptor de leptina. En la imagen se ilustran las vías de señalización desencadenadas por la fosforilación de las moléculas JAK2 tanto por la isoforma larga como por la corta. La JAK2 activada puede fosforilar los residuos de tirosina del receptor y activar las moléculas STAT. El STAT3 participa como regulador transcripcional; el STAT5 puede activar la vía apoptótica y la activación de STAT1 aún no se ha dilucidado completamente. Por su parte, la molécula IRS puede activar MAPK y PIK3 para desencadenar vías de señalización relacionadas con proliferación celular, oxidación de ácidos grasos y metabolismo de la glucosa (modificado de Houseknecht y Portocarrero, 1998; Gertler, 2009).

Leptina y glándula mamaria

El adecuado desarrollo de la glándula mamaria es un punto crítico para la futura lactancia en especies domésticas como la vaca lechera. Durante la gestación, los lactocitos aumentan en número, y de cuán significativa sea esta proliferación, dependerá la producción de leche. Algunos estudios realizados plantean que la leptina tiene un papel en la regulación directa del crecimiento y desarrollo del parénquima de la glándula mamaria, ejerce un rol paracrino y autocrino en la proliferación, diferenciación y apoptosis de las células epiteliales mamarias (CEM), de los adipocitos y de las células mioepiteliales (Laud *et al.*, 1999; Meyer *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2010).

Algunos análisis de ARNm de leptina en glándula mamaria realizados por Reacción en Cadena de la Polimerasa con Transcriptasa Inversa (RT-PCR) han mostrado que la expresión de este

gen es regulada durante la gestación y distintas etapas de la lactancia en ovejas, en las cuales los niveles de ARNm son altos en el inicio de la gestación, tienden a decaer hasta la mitad de la gestación y permanecen bajos hasta la finalización de la lactancia (Laud *et al.*, 1999). Sin embargo, este análisis careció de la medición de la proteína para verificar si había traducción del ARNm.

En bovinos que reciben dietas altamente energéticas durante la pubertad, se han reportado mayores niveles de leptina en plasma que coinciden con un inadecuado desarrollo de la glándula mamaria (Silva *et al.*, 2002). Si bien es claro que la producción de leptina por otros tejidos distintos a glándula mamaria podría ejercer un efecto sobre su parénquima, el principal efecto está dado por los niveles de leptina producidos por los adipocitos presentes en este órgano. Por lo tanto, no se puede establecer que la variación de la leptina circulante pueda ejercer o no un efecto directo sobre el

parénquima mamario, dado que la glándula mamaria sintetiza la leptina y expresa sus receptores así como puede realizarlo con otras hormonas y nutrientes, de acuerdo al estadio de reproducción.

El patrón de expresión de receptores en glándula mamaria de una especie no se puede extrapolar a los de otras especies, ya que los efectos desencadenados por las vías de señalización pueden diferir de acuerdo a condiciones fisiológicas y de manejo. Aún falta establecer dichos patrones en los bovinos, dilucidar las vías de señalización que se pueden desencadenar durante la pubertad, la gestación, el parto, la lactancia y el periodo seco, y comparar resultados con diversas condiciones ambientales, de manejo y de raza para, determinar qué tanto se puede variar o modificar ese patrón de expresión de receptores.

En la glándula mamaria bovina se han encontrado receptores de leptina Ob-Ra y Ob-Rb, éste último en mayor cantidad (Kawachi *et al.*, 2007). Estos receptores pueden inducir proliferación, diferenciación y apoptosis celular a través de las moléculas STAT. Se cree que en hembras con dietas energéticas altas, el efecto en la inhibición del desarrollo adecuado de la glándula mamaria estaría dirigido por la señalización generada por la unión de la leptina al Ob-Rb, dando lugar a la inhibición de la secreción del factor de crecimiento insulínico (IGF) y antagonizando la síntesis de ADN de las CEM bovinas, de esta forma se afecta el crecimiento y desarrollo; pero aún no se ha descrito bien este mecanismo (Silva *et al.*, 2002).

Durante el primer tercio de la gestación, donde se inicia la proliferación de las CEM, Bonnet *et al.*, encontraron un incremento de leptina en sangre, sugiriendo que tanto la leptina sanguínea, como la de glándula mamaria, vía receptores de leptina, ejercen un control endocrino sobre la mamogénesis (Bonnet *et al.*, 2002). Sin embargo, para confirmar que tanto la leptina mamaria como la leptina sistémica ejercen dicho efecto sinérgico, se requiere realizar estudios que permitan cuantificar la expresión de receptores y proteínas, y controlar variables como condición corporal, alimentación, raza, entre otros.

Actualmente, se dispone de novedosas herramientas moleculares para ser más precisos en estos análisis cuantitativos y cualitativos. Es importante recalcar que la producción de leche en la hembra bovina no está correlacionada con la condición corporal, ni la cantidad de tejido graso del animal (Maza *et al.*, 2001); es un evento que busca garantizar una fuente suficiente de nutrientes para el neonato, así la glándula mamaria inicia un proceso de proliferación celular para cumplir con dicha función. En esta proliferación celular también se ha estudiado el papel de la leptina, encontrándose datos interesantes, como por ejemplo que no tiene ninguna relación con el ingreso de la glucosa a la glándula mamaria para la síntesis de lactosa, que es la que finalmente determina el volumen de leche producida (Accorsi *et al.*, 2005). Por otro lado, se ha encontrado que puede desencadenar una vía de señalización a través de las moléculas JAK2 y STAT3, para activar transcripción de genes mitogénicos (Gertler, 2009). Aún falta por aclarar detalles de estas cascadas de señalización celular y experimentar si pueden ser modificadas de alguna manera para que la proliferación celular de lactocitos directa o indirectamente, tenga efecto sobre la producción láctea en bovinos.

Durante el periodo seco y la lactancia de los bovinos, Bartha *et al.* no encontraron diferencias en los niveles de ARNm de leptina en glándula mamaria (Bartha *et al.*, 2005). Un alto número de células adiposas en el tejido conectivo de animales en periodo seco son responsables de una alta producción de leptina; las CEM serían las que la producen durante la lactancia, pero la expresión de sus receptores no fue cuantificada (Zigman, 2003). Estos resultados en las concentraciones de la hormona coinciden con los hallados en mujeres (Butte *et al.*, 1997), donde los niveles no variaron entre lactantes y no lactantes y difieren de los encontrados en cabras, en las cuales la concentración de leptina mamaria fluctúa durante los diferentes estadios fisiológicos (Li *et al.*, 2010).

En un estudio más reciente realizado por Mehta y Petrova (2011), se concluyó que existe una disminución de la leptina y otros péptidos biológicamente activos durante el primer mes de lactancia en glándula mamaria de mujeres (Gertler,

2009). Es importante aclarar que la metodología usada en los estudios varía con el tiempo, lo cual puede representar diferencias importantes en los hallazgos de las investigaciones recientes comparadas con aquellas realizadas años atrás.

Es probable que la leptina producida en las CEM sea transferida a la leche, mientras que la leptina producida por el tejido adiposo mamario actúe localmente en la glándula mamaria o entre a circulación sanguínea (Smith y Sheffield, 2002). Otros estudios hallaron diferencias significativas en los niveles de expresión de receptores de leptina en glándula mamaria de cabras durante los diferentes estadios reproductivos, lo que sugiere que el efecto local de la hormona también es distinto en estas etapas (Li *et al.*, 2010).

Muchos estudios concuerdan en que la expresión de los receptores de leptina es directamente proporcional a los niveles de la hormona (Li *et al.*, 2010). Si esto se cumpliera en todas las especies, se podría suponer que en bovinos no hay una diferencia en la expresión de los receptores durante el periodo seco y la lactancia y, por lo tanto, no existiría un efecto marcado generado por la leptina en cualquiera de las dos etapas. Esta suposición no tiene fundamentos suficientes ya que en glándula mamaria de ovinos se ha encontrado una variación considerable en la expresión de la leptina y de su receptor durante la gestación y la lactancia. La relación hormona-receptor en bovinos, no ha sido descrita, y los hallazgos que se reportan dejan mayores incógnitas por resolver.

Es importante citar los resultados hallados por Bonnet *et al.*, donde la determinación cuantitativa de los niveles de ARNm por RT-PCR en tiempo real, mostraron que la expresión de leptina en pequeños rumiantes fue alta durante la primera mitad de la gestación y, menos marcada durante el parto; mientras que los niveles de ARNm de los receptores de leptina fueron mayores entre los 70 y 106 días de gestación y, menores durante la finalización de la misma y el inicio de la lactancia. Además, se han observado diferencias en la proporción de isoformas corta y larga del Ob-R en el tejido mamario de ovinos y bovinos, ya que las CEM de esta última especie expresan en mayor

medida la isoforma larga, mientras que en los ovinos predomina la expresión de la isoforma corta (Bonnet *et al.*, 2002).

Otra asociación importante que se ha encontrado, es que el momento de mayor expresión de los receptores de leptina, que es el día 70 de la gestación, coincidió con un incremento periférico en las concentraciones de estradiol y con cambios marcados en otras hormonas como la progesterona, prolactina, lactógeno placentario y hormona del crecimiento. Esta asociación encontrada por los autores aún no se comprende en su totalidad, pero se sabe que está relacionada con el cambio que empieza a sufrir el lactocito para poder sostener una futura síntesis de los componentes de la leche (Bonnet *et al.*, 2002).

Ha sido posible identificar la leptina en glándula mamaria de cabras por medio de análisis inmunohistoquímicos y se determinó que la hormona se encontraba en los adipocitos mamaros durante estadios tempranos de gestación, en CEM y principalmente en su membrana apical justo después del parto, y en células mioepiteliales durante la lactancia. Mientras que el receptor de leptina fue exclusivamente localizado en CEM por hibridización *in situ* (Li *et al.*, 2010). En ovejas, la síntesis de leptina por los adipocitos al inicio de la gestación probablemente juegue un rol paracrino en la proliferación y/o diferenciación de las CEM, las cuales también están expresando muchos receptores para la hormona durante esa misma época. Luego del parto, la leptina se localizó en las células mioepiteliales, probablemente producida por estas mismas. Al mismo tiempo, el receptor de leptina se encontró expresado en las CEM; por lo que se cree que la leptina puede participar en el control del crecimiento y apoptosis de las CEM en esta especie (Li *et al.*, 2010).

En otros rumiantes como las cabras se conoce que la leptina induce la expresión del receptor OB-Rb en glándula mamaria y controla el desarrollo y función fisiológica en la glándula mamaria por unión al receptor (Vernon *et al.*, 2002). La leptina estimula la proliferación y diferenciación de células del epitelio ductal en la preñez por vía de señalización JAK-MAPK, activa la expresión

de β caseína en cultivos de glándula mamaria por vía JAK-STAT5 y, permite que en el estadio de involución el ducto desaparezca y se induzca apoptosis de las CEM, así como su restitución por adipocitos, a través de la vía de señalización JAK-STAT3. (Figura 3) (Li *et al.*, 2010).

En esta especie, la síntesis de leptina por los adipocitos mamarios en la etapa de la pubertad es alta, similar a lo que ocurre al inicio de la preñez. En el segundo tercio de la gestación disminuye la expresión de leptina, debido a la involución de tejido adiposo mamario, y en el último tercio, los niveles de leptina vuelven a ser similares a los del

primer tercio (Li *et al.*, 2010); esto se debe a que las CEM pueden secretar leptina en la preñez avanzada y en la lactancia, pero durante esta última etapa, la leptina permanece baja debido al efecto inhibitorio de la prolactina, la insulina, el cortisol y la somatotropina (Aoki *et al.*, 1999). En la involución de la glándula mamaria el tejido adiposo aumenta al igual que la cantidad de leptina. En todo el ciclo de desarrollo de la glándula mamaria del caprino, los niveles de leptina y OB-Rb están positivamente correlacionados. La leptina por lo tanto, tiene un efecto paracrino y autocrino para regular el crecimiento, desarrollo y función de la glándula mamaria a través de su receptor.

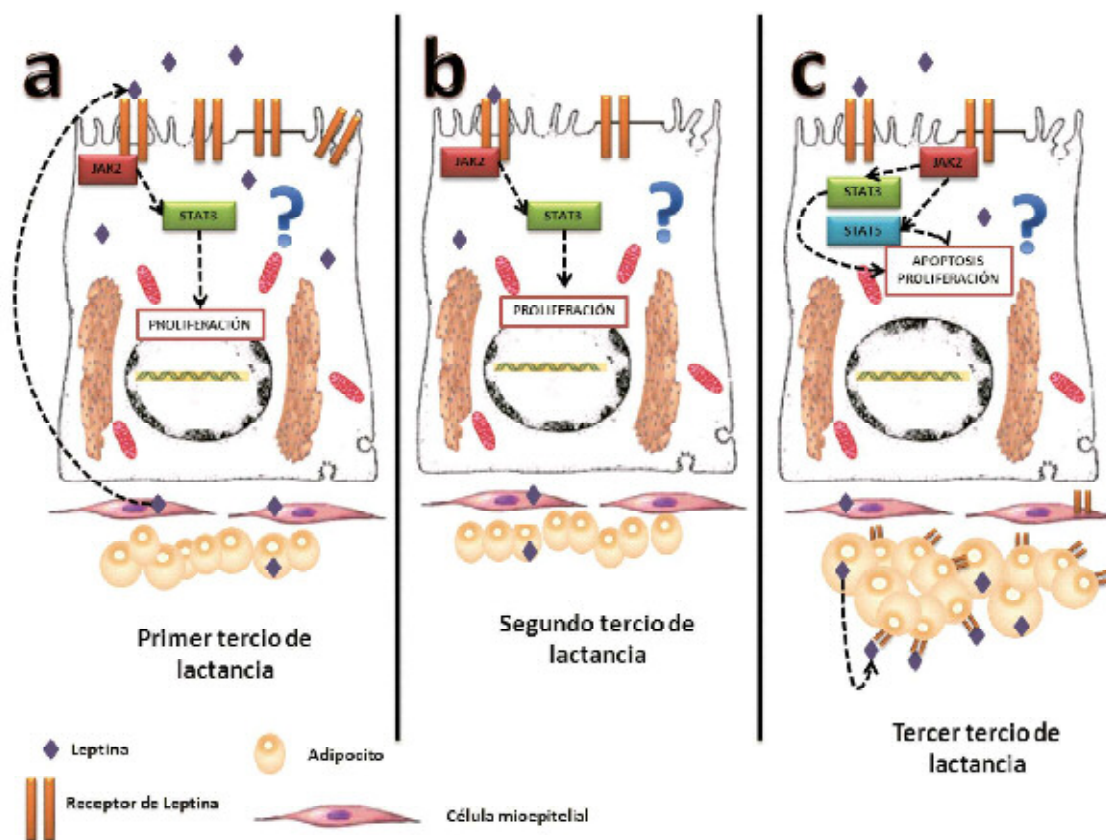


Figura 3. Hipótesis del patrón de expresión de los receptores de leptina y la leptina en glándula mamaria durante la lactancia en bovinos. En la figura 3a se esquematiza la posible vía de señalización a través de JAK2-STAT3 ejercida por la leptina para favorecer proliferación de los lactocitos y se pueda establecer una adecuada producción láctea. La leptina es sintetizada en adipocitos, células mioepiteliales y en el lactocito, pero los receptores se expresan principalmente en el lactocito, ejerciendo un efecto paracrino sobre la célula epitelial mamaria. En la figura 3b se esquematiza como se puede continuar con la proliferación celular mediada por JAK2-STAT3, sin embargo, la expresión de los receptores podría variar en este estadio. En la figura 3c se ilustra como por medio de JAK2-STAT3 y JAK2-STAT5 se establecen eventos de proliferación y apoptosis respectivamente, especialmente finalizando la lactancia e iniciando el periodo seco para favorecer la remodelación tisular. La leptina es producida por los adipocitos en mayor cantidad en este periodo y también expresan receptores para ejercer efectos autocrinos y paracrinos.

Yamaji *et al.* (2007), observaron en cultivos *in vitro* tridimensionales que la leptina inhibe la proliferación de las CEM bovinas, aún cuando éstas fueron suplementadas con factores de crecimiento como Hepatocyte Growth-Factor (HGF), compuesto que interviene la proliferación de las CEM, durante la morfogénesis de las estructuras ductales (Yamaji *et al.*, 2007; Sunil *et al.*, 2002). Esto coincide con un estudio de Silva *et al.* (2008), donde se demostró *in vivo* que la aplicación de leptina por el canal del pezón regula la proliferación del epitelio de los conductos y los alvéolos mamaros, ya que disminuye en un 48% la cantidad de CEM en la fase S del ciclo celular, mediante la expresión de caspasa 3 (Silva *et al.*, 2008). Lo anterior, sugiere que la disminución de los niveles de leptina en el segundo tercio de la gestación permite que se dé la formación de conductos glandulares. El incremento de los niveles de leptina en el último tercio de la gestación y durante la lactancia, coinciden con un aumento de las concentraciones de prolactina, teniendo actividad sinérgica sobre explantes cultivados de glándula mamaria bovina *in vitro* (Motta *et al.*, 2004). Se ha encontrado que la interacción de la leptina con las hormonas lactogénicas, como la prolactina, la insulina, la somatotropina y el cortisol, controla la proliferación de CEM (Aoki *et al.*, 1999; Yonekura *et al.*, 2006)

Se ha observado que la leptina regula el efecto de la prolactina sobre la síntesis de ácidos grasos, alfa caseína y beta lacto-albumina, aumentando la síntesis de estos componentes de la leche en cultivos *in vitro* de explantes de tejido mamario de vacas; por otro lado, la prolactina aumentó 25 veces la expresión del receptor de leptina, lo que sugiere que la prolactina aumenta la sensibilidad a la leptina y que en ausencia de prolactina, el mecanismo desencadenado sobre la célula sería la apoptosis a través de la caspasa 3 (Feuermann *et al.*, 2004; Motta *et al.*, 2004; Silva *et al.*, 2008). Así, se ha demostrado que los efectos fisiológicos, las interacciones endocrinas y las vías de señalización desencadenadas por la leptina en las CEM, podrían contribuir a encontrar estrategias que mejoren la calidad nutricional de la leche.

Además de la complejidad de funciones sobre la glándula mamaria, la leptina es secretada en leche

por lo que se cree que su rol en el neonato tiene una mayor importancia de la que hasta ahora se conoce (Ehrhardt *et al.*, 2001). Estudios sugieren que una alta concentración de leptina en el calostro puede tener efectos sobre el intestino del potro, además de llevar a cabo mecanismos termorreguladores, metabólicos u hormonales para inducir el control de la saciedad en el neonato (Romagnoli *et al.*, 2007). En el recién nacido humano, se ha encontrado que la leptina actúa al unirse a receptores localizados en la mucosa gastrointestinal y está involucrada en la citoprotección de esta mucosa en procesos inflamatorios y en la secreción de hormonas gástricas como la gastrina y somatostatina, y en la proliferación de células intestinales. También participa en la inmunidad del neonato, ya que la leptina modula la producción de citoquinas, el tamaño del timo, la activación de monocitos, macrófagos y la proliferación y apoptosis de linfocitos T citotóxicos y T ayudadores (Bonnet *et al.*, 2002). Una adecuada ingesta de leptina en neonatos humanos podría prevenir futuros problemas de obesidad (Palou, 2009).

Conclusiones

En pequeños rumiantes, el efecto de la leptina en glándula mamaria ha sido muy estudiado en los diferentes estadios reproductivos. Sin embargo, en bovinos aún no se han dilucidado completamente los niveles de expresión del receptor de leptina en glándula mamaria durante estos períodos. Antes de la lactancia, la ubre sufre cambios morfofisiológicos para poder mantener la producción láctea, de ahí la importancia de evaluar si hay variaciones en la expresión de OB-Rb durante diferentes momentos de esta etapa, y poder determinar si existe una asociación entre las variaciones de los niveles de expresión del receptor, con los cambios en glándula mamaria y la producción de leche en bovinos.

Hasta ahora se conoce que la leptina juega un papel importante en la regulación del crecimiento y desarrollo del parénquima de la glándula mamaria, ejerciendo un rol paracrino y autocrino en la proliferación, diferenciación y apoptosis de las CEM, los adipocitos y las células mioepiteliales, mediante la interacción con la prolactina; proceso

indispensable para desencadenar la síntesis de las principales proteínas de la leche y algunos ácidos grasos (Silva *et al.*, 2008). Tal vez en este mecanismo se encuentre la clave para comprender como influye la leptina en la síntesis de los componentes lácteos de interés para el consumo humano y con base en esto, sería posible plantear estrategias de mejoramiento genético de hatos lecheros, manipulación genética u organismos transgénicos, entre otros. Además, la industria láctea podría desarrollar alimentos funcionales, o estrategias que permitan aumentar la producción láctea o modificar su composición, a partir de los resultados obtenidos durante la investigación de esta hormona y su función en la glándula mamaria bovina.

Por otra parte, los eventos y factores moleculares que definen la vía de señalización celular que la leptina desencadena en las CEM bovinas (JAK2-STAT1, JAK2-STAT3 o JAK2-STAT5) y que regulan su tasa de proliferación, todavía no están dilucidados completamente. Conocerlos permitiría comprender más a fondo la fisiología de la leptina en la lactancia, lo que abriría las puertas al desarrollo de posibles estrategias farmacológicas para el tratamiento de disfunciones en la glándula mamaria, así como terapias que inhiban la proliferación celular asociada a la leptina en carcinomas mamarios y otras neoplasias, como el péptido allo-aca, que tal vez salga al mercado como parte de los repertorios para la terapia anticancerígena (Otvos *et al.*, 2011).

El estudio de la leptina y sus receptores es un campo abierto a la investigación en todas las especies animales en un nivel productivo, reproductivo y de salud.

Referencias

Accorsi PA, Gamberoni M, Isani G, Govoni N, Viggiani R, Monari M, De Ambrogi M, Munno A, Tamanini C, Seren E. Leptin does not seem to influence glucose uptake by bovine mammary explants. *J Physiol Pharmacol* 2005; 56:689-698.

Acosta A. Rol de la leptina en la fisiología reproductiva. *Siriv* 2006:1-9.

Aizawa-Abe M, Ogawa Y, Masuzaki H, Ebihara K, Satoh N, Iwai H, Matsuoka N, Hayashi T, Hosoda K, Inoue

G. Pathophysiological role of leptin in obesity-related hypertension. *J Clin Invest* 2000; 105:1243-1243.

Aoki N, Kawamura M, Matsuda T. Lactation-dependent down regulation of leptin production in mouse mammary gland. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1427:298-306.

Bartha T, Sayed-Ahmed A, Rudas P. Expression of leptin and its receptors in various tissues of ruminants. *Domest Anim Endocrinol* 2005; 29:193-202.

Bernotiene E, Palmer G, Gabay C. The role of leptin in innate and adaptive immune responses. *Arthritis Res Ther* 2006; 8:217-220.

Bonnet M, Delavaud C, Laud K, Gourdou I, Leroux C, Djiane J, Chilliard Y. Mammary leptin synthesis, milk leptin and their putative physiological roles. *Reprod Nutr Dev* 2002; 42:399-413.

Butte N, Hopkinson J, Nicolson M. Leptin in human reproduction: serum leptin levels in pregnant and lactating women. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:585-592.

Cheng S, Chi C, Tzen C, Yang T, Lee J, Liu T, Liu C. Clinicopathologic significance of leptin and leptin receptor expressions in papillary thyroid carcinoma. *Surgery* 2009; 147:847-853.

Ehrhardt R, Slepatis R, Bell A, Boisclair Y. Maternal leptin is elevated during pregnancy in sheep. *Domest Anim Endocrinol* 2001; 21:85-96.

Feuermann Y, Mabeesh S, Shamay A. Leptin affects prolactin action on milk protein and fat synthesis in the bovine mammary gland. *J Dairy Sci* 2004; 87:2941-2946.

Gertler A. *Leptin and Leptin Antagonists*. Austin: Landes Bioscience; 2009.

Ghilardi N, Skoda R. The leptin receptor activates janus kinase 2 and signals for proliferation in a factor-dependent cell line. *Mol Endocrinol* 1997; 11:393-399.

Houseknecht K, Portocarrero C. Leptin and its receptors: regulators of whole-body energy homeostasis. *Domest Anim Endocrinol* 1998; 15:457-475.

Ishikawa M, Kitayama J, Nagawa H. Enhanced expression of leptin and leptin receptor (OB-R) in human breast cancer. *Clin Cancer Res* 2004; 10:4325-4331.

Kawachi H, Yang SJ, Hamano A, Matsui T, Smith SB, Yano H. Molecular cloning and expression of bovine (*Bos taurus*) leptin receptor isoform mRNAs. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 2007; 148:167-173.

Laud K, Gourdou I, Bélair L, Keisler DH, Djiane J. Detection and regulation of leptin receptor mRNA in ovine mammary epithelial cells during pregnancy and lactation. *FEBS Lett* 1999; 463:194-198.

Li M, Li Q, Gao X. Expression and function of leptin and its receptor in dairy goat mammary gland. *J Dairy Res* 2010; 77:213-219.

- Maza L, Salgado RD, Vergara G. Efecto de la condición corporal al parto sobre el comportamiento reproductivo y variación de peso corporal postparto de vacas mestizas lecheras. *Rev MVZ Córdoba* 2001; 6:75-80.
- Meyer M, Capuco A, Ross D, Lintault L, Van Amburgh M. Developmental and nutritional regulation of the prepubertal bovine mammary gland: II. Epithelial cell proliferation, parenchymal accretion rate, and allometric growth. *J Dairy Sci* 2006; 89:4298-4304.
- Miralles O, Sánchez J, Palou A, Picó C. A Physiological Role of Breast Milk Leptin in Body Weight Control in Developing Infants. *Obesity* 2006; 14:1371-1377.
- Motta M, Accornero P, Baratta M. Leptin and prolactin modulate the expression of SOCS-1 in association with interleukin-6 and tumor necrosis factor-[alpha] in mammary cells: a role in differentiated secretory epithelium. *Regul Pept* 2004; 121:163-170.
- Munzberg H, Flier JS, Bjorbaek C. Region-specific leptin resistance within the hypothalamus of diet-induced obese mice. *Endocrinology* 2004; 145:4880-4889.
- Münzberg H, Myers MG. Molecular and anatomical determinants of central leptin resistance. *Nat neurosci.* 2005; 8:566-570.
- Otvos JR, Kovalszky I, Riolfi M, Ferla R, Olah J, Sztodola A, Nama K, Molino A, Piubello Q, Wade J, Surmacz E. Efficacy of a leptin receptor antagonist peptide in a mouse model of triple-negative breast cancer. *Eur J Cancer* 2011; 47:1578-1584.
- Palou A, Picó C. Leptin intake during lactation prevents obesity and affects food intake and food preferences in later life. *Appetite* 2009; 52:249-252.
- Romagnoli U, Macchi E, Romano G, Motta M, Accornero P, Baratta M. Leptin concentration in plasma and in milk during the interpartum period in the mare. *Anim Reprod Sci* 2007; 97:180-185.
- Silva L, Etchebarne B, Weber-Nielsen M, Liesman J, Kiupel M, VandeHaar M. Intramammary infusion of leptin decreases proliferation of mammary epithelial cells in prepubertal heifers. *J Dairy Sci* 2008; 91:3034-3044.
- Silva L, VandeHaar M, Weber-Nielsen M, Smith G. Evidence for a Local Effect of Leptin in Bovine Mammary Gland. *J Dairy Sci* 2002; 85:3277-3286.
- Smith J, Sheffield L. Production and regulation of leptin in bovine mammary epithelial cells. *Domest Anim Endocrinol* 2002; 22:145-154.
- Sunil N, Bennett JM, Haslam SZ. Hepatocyte growth factor is required for progestin-induced epithelial cell proliferation and alveolar-like morphogenesis in serum-free culture of normal mammary epithelial cells. *Endocrinology* 2002; 143:2953.
- Tartaglia L. The leptin receptor. *J Biol Chem* 1997; 272:6093-6096.
- Vernon R, Denis R, Sorensen A, Williams G. Leptin and the adaptations of lactation in rodents and ruminants. *Horm Metab Res* 2002; 34:678-685.
- Yamaji D, Kamikawa A, Soliman MM, Ito T, Ahmed MM, Makondo K, Watanabe A, Saito M, Kimura K. Leptin inhibits hepatocyte growth factor-induced ductal morphogenesis of bovine mammary epithelial cells. *Jpn J Vet Res* 2007; 54:183-189.
- Yonekura S, Sakamoto K, Komatsu T, Hagino A, Katoh K and Obara Y. Growth hormone and lactogenic hormones can reduce the leptin mRNA expression in bovine mammary epithelial cells. *Domest Anim Endocrinol* 2006; 31:88-96.
- Zanardo V, Nicolussi S, Cavallin S, Trevisanuto D, Barbato A, Faggian D, Favaro F, Plebani M. Effect of maternal smoking on breast milk interleukin-1alpha, beta-endorphin, and leptin concentrations and leptin concentrations. *Environ Health Perspect* 2005; 113:1410-1413.
- Zigman JM, Elmquist JK. Minireview: From anorexia to obesity the yin and yang of body weight control. *Endocrinology* 2003; 144:3749-3757.
- Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372:425-432.