

materia

Aspectos Básicos e Clínicos da Lactación

unidade didáctica 2

Bioquímica da Lactación

José Antonio Villamarín Cid

Departamento de Bioquímica e Bioloxía Molecular
Facultade de Veterinaria

titulación

Grao en Veterinaria



Vicerreitoría de Cultura



unidade didáctica 2

Bioquímica da Lactación

José Antonio Villamarín Cid
Departamento de Bioquímica e Bioloxía Molecular
Facultade de Veterinaria



© Universidade de Santiago de Compostela, 2010

Deseño

Unidixital

Edita

Vicerreitoría de Cultura
da Universidade de Santiago de Compostela
Servizo de Publicacións
da Universidade de Santiago de Compostela

Imprime

Unidixital
Servizo de Edición Dixital da
Universidade de Santiago de Compostela

Dep. Legal: C 1184-2010

ISBN 978-84-9887-298-9

ADVERTENCIA LEGAL: reservados todos os dereitos.
Queda prohibida a duplicación, total ou parcial desta
obra, en calquera forma ou por calquera medio (elec-
trónico, mecánico, gravación, fotocopia ou outros) sen
consentimento expreso por escrito dos editores.

MATERIA: Aspectos básicos e clínicos da lactación

TITULACIÓN: Grao en Veterinaria

PROGRAMA XERAL DO CURSO

Localización desta unidade didáctica

Unidade I. Estrutura e desenvolvemento da glándula mamaria

Unidade II. Bioquímica da lactación

Propiedades do leite

Composición do leite

Síntese da lactosa

Síntese da graxa

Síntese das proteínas

Secreción dos compoñentes do leite

Unidade III. Regulación neuroendócrina da lactación

Unidade IV. Protocolos de actuación fronte á mamite bovina

Unidade V. Enfermidades metabólicas relacionadas coa lactación

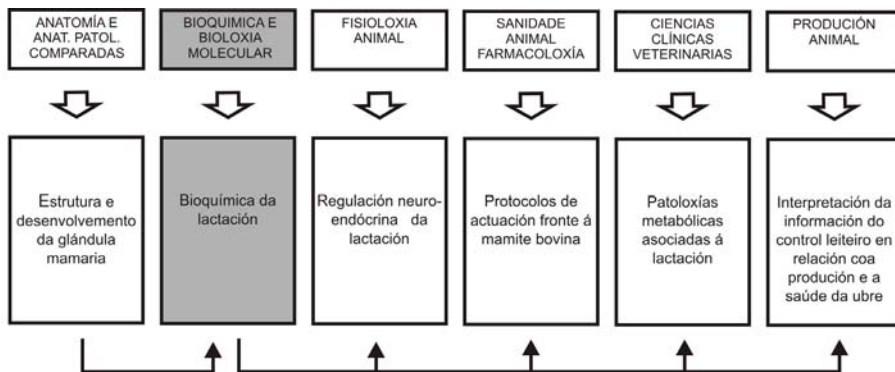
**Unidade VI. Interpretación da información do control leiteiro en
relación coa produción e a saúde do ubre**

ÍNDICE

Presentación	7
Obxectivos	8
Metodoloxía	10
Contidos	10
1. Composición e características do leite.....	11
1.1. Visión global	11
1.2. Propiedades do leite.....	11
1.3. Diversidade da composición do leite.....	12
2. Síntese dos compoñentes bioquímicos do leite	12
2.1. Os glúcidos.....	12
2.2. A graxa	13
2.3. As proteínas	14
2.4. Outros compoñentes do leite	15
3. Vías de transporte-secretión dos compoñentes do leite	15
Actividades propostas	15
Avaliación	16
Anexos	17
Bibliografía	19

PRESENTACIÓN

Esta unidade didáctica denominada «Bioquímica da lactación» forma parte da materia «Aspectos básicos e clínicos da lactación» que se imparte no primeiro semestre do 5º curso do Grao en Veterinaria. Nesta materia trátase o proceso fisiolóxico da lactación dun xeito transversal. Nunha primeira parte estúdanse os aspectos básicos do proceso relacionados coa estrutura anatómica e a formación da glándula mamaria, coa síntese e secreción dos compoñentes do leite e coa regulación hormonal da lactación. A continuación trátanse aspectos máis aplicados do proceso, relacionados coa produción de leite ou co diagnóstico, tratamento e prevención de enfermidades relacionadas coa lactación. Polo tanto, a materia estrutúrase en diferentes unidades didácticas que son impartidas por diferentes áreas de coñecemento, como se amosa no seguinte esquema.



Xustificación da unidade temática no contexto da materia e da titulación

Unha das competencias disciplinares dos profesionais veterinarios é a optimización dos sistemas de produción animal, entre os que se inclúe a produción de leite por animais de renda. Esta competencia require que o veterinario teña coñecementos básicos sobre os procesos bioquímicos de síntese e secreción dos compoñentes do leite para, deste xeito, poder incidir na optimización do proceso de produción e intervir adecuadamente no diagnóstico, tratamento e prevención das enfermidades asociadas ao proceso de lactación. Estes coñecementos básicos trátanse nesta unidade didáctica.

Duración e destinatarios

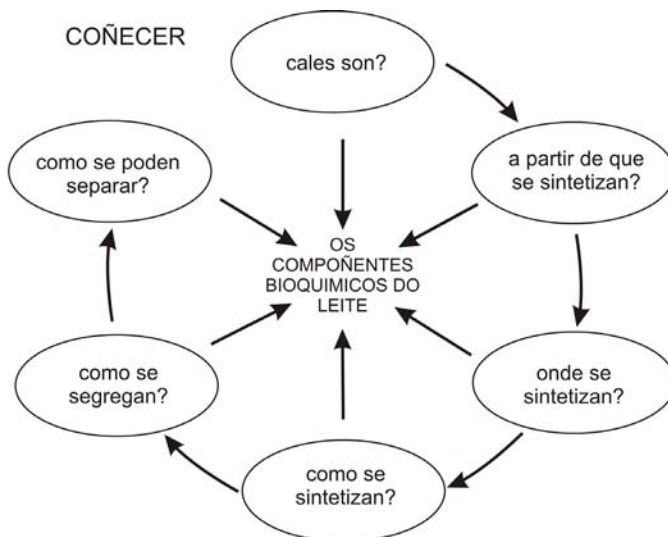
Os contidos desta unidade didáctica van dirixidos a estudantes do Grao en Veterinaria con coñecementos previos de bioquímica, fisioloxía e anatomía

veterinaria, e serán impartidos en sete horas: tres de docencia teórica e catro de prácticas de laboratorio.

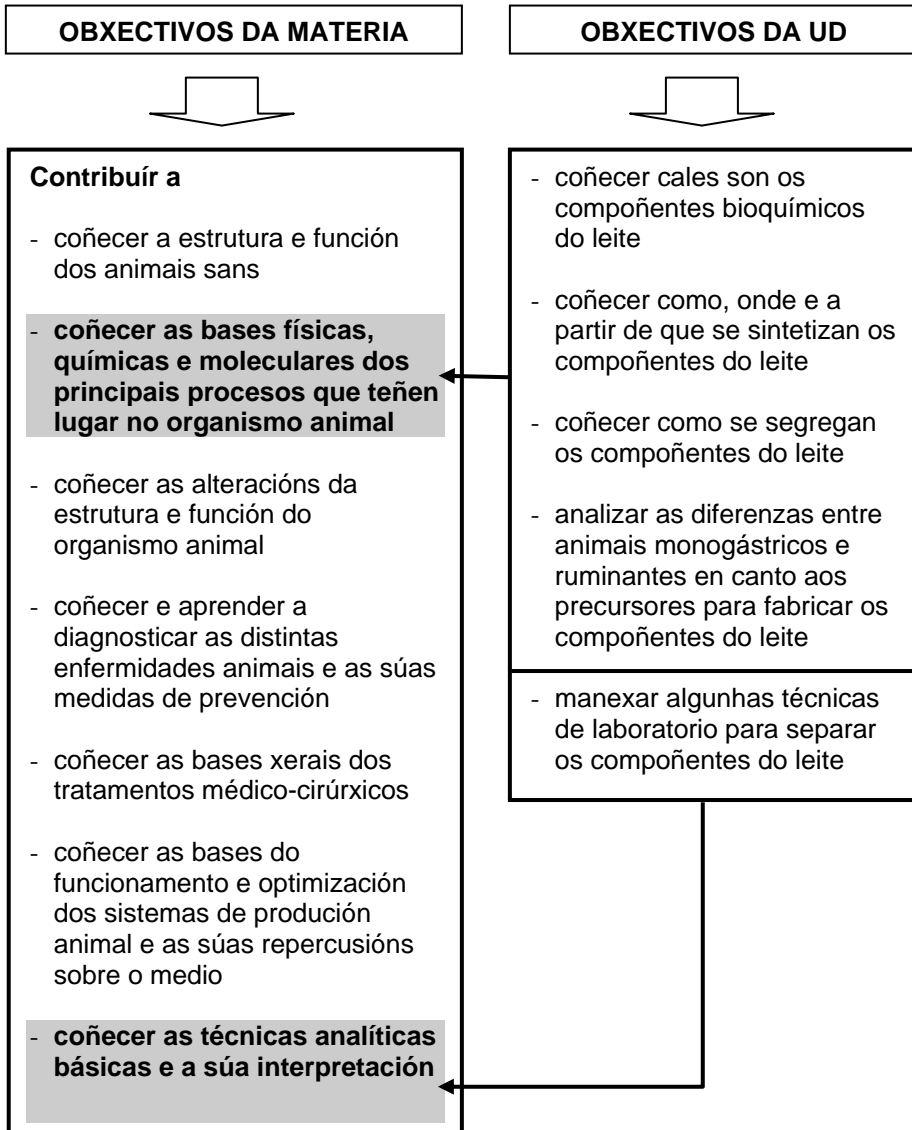
OBXECTIVOS

Os obxectivos que se pretenden alcanzar nesta unidade didáctica son os seguintes:

- coñecer cales son os compoñentes bioquímicos do leite;
- coñecer como, onde e a partir de que se sintetizan os compoñentes do leite;
- coñecer como se segregan os compoñentes do leite;
- analizar as diferenzas entre animais monogástricos e ruminantes en canto á procedencia dos precursores para fabricar os compoñentes do leite;
- manexar algunhas técnicas de laboratorio para separar os compoñentes do leite.



Relación dos obxectivos da unidade didáctica cos obxectivos globais da materia



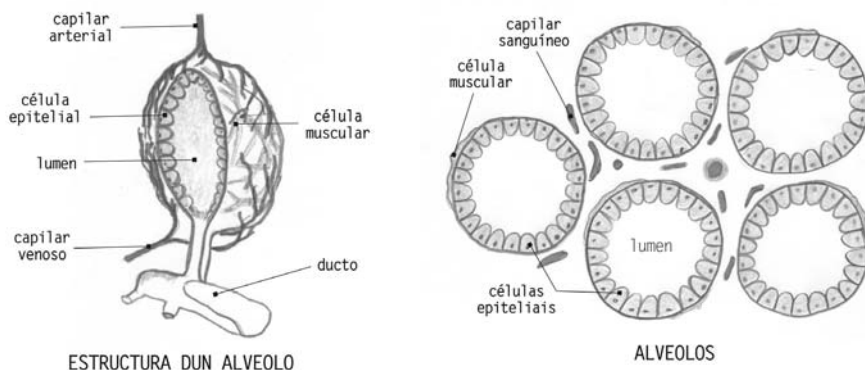
METODOLOXÍA

Os contidos teóricos desenvolveranse en tres clases expositivas de 50 minutos cada unha. Empregaranse os medios audiovisuais dispoñibles na aula para proxectar unha presentación que sirva de guía á exposición, e o encerado para explicar e detallar as rutas metabólicas implicadas na síntese dos compoñentes do leite. Para o seguimento das devanditas clases, os estudantes disporán dun material didáctico —basicamente esquemas e resumos coas ideas-eixe e os conceptos fundamentais— que poderán obter a través da USC virtual. Para unha mellor comprensión dos procesos metabólicos que teñen lugar nas células da glándula mamaria, será de moita utilidade o manexo do mapa metabólico que os estudantes deben elaborar de xeito obrigatorio na materia troncal «Bioquímica», cursada previamente.

Os contidos prácticos desenvolveranse no laboratorio, en dúas xornadas consecutivas de dúas horas cada unha. Os grupos serán de doce estudantes como máximo. Para o seguimento das actividades os estudantes disporán dun boletín de prácticas que poderán obter a través da USC virtual.

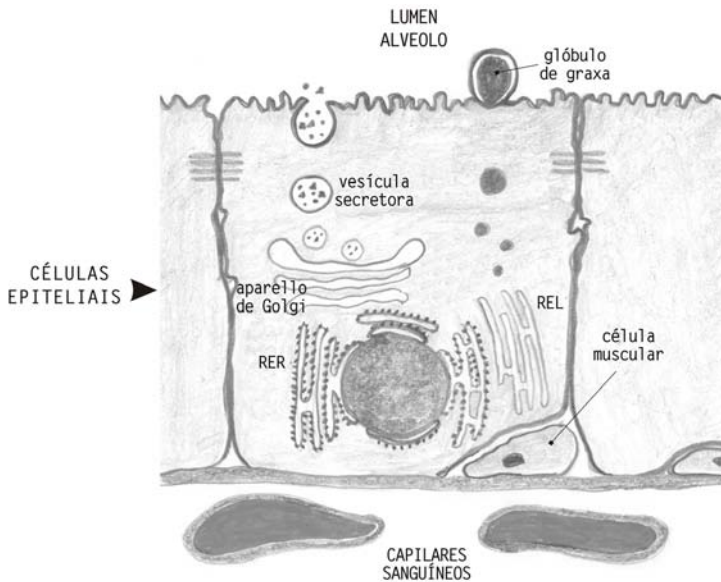
CONTIDOS

A formación do leite ten lugar nos chamados alvéolos que constitúen as unidades funcionais da glándula mamaria. Os alvéolos son unhas estruturas esféricas formadas por unha soa capa de células epiteliais que delimitan unha cavidade interior, chamada lumen, drenada a través dun conduto. No lumen é onde se mesturan todos os compoñentes individuais do leite sintetizados nas células epiteliais, é dicir, é onde realmente se forma o leite.



As células epiteliais que forman os alvéolos son «as fábricas» onde ocorren os procesos metabólicos que se tratan nesta unidade didáctica, mediante os

cales se sintetizan os compoñentes bioquímicos individuais do leite: a lactosa, a graxa e as proteínas. Estas células captan moléculas precursoras procedentes do sangue pola súa cara basal e, a partir delas, sintetizan os compoñentes do leite, que son segregados ao lumen dos alvéolos a través da cara apical. A mestura dos compoñentes individuais no lumen dos alvéolos é o líquido que coñecemos como leite.



1. Composición e características do leite

1.1. Visión global

A composición do leite é un tema de grande interese para diversas ciencias e tamén para as industrias. Isto é debido a que os compoñentes individuais do leite poden ser considerados desde diferentes perspectivas:

- a bioquímica de cada compoñente;
- os mecanismos de síntese de cada compoñente;
- o papel de cada compoñente nas propiedades físico-químicas do leite;
- a función de cada compoñente na glándula mamaria;
- a importancia de cada compoñente na alimentación das crías;
- a importancia de cada compoñente na fabricación de produtos derivados do leite na alimentación humana;
- os factores que afectan á variabilidade da composición do leite.

1.2. Propiedades do leite

1.2.1. Propiedades físico-químicas do leite

A simple vista, o leite pode ser considerado como un simple líquido branco pero, de feito, é unha mestura complexa dun amplo rango de compostos importantes para o neonato. En resumo, o leite é unha emulsión de glóbulos de graxa e unha suspensión de micelas de caseína, ambas suspendidas nunha fase acuosa que contén, en forma soluble, lactosa, proteínas de soro e algúns minerais.

1.2.2. Outras propiedades do leite

Nesta sección trátanse outras propiedades do leite como o pH, a osmolaridade, a forza iónica, a densidade, a cor ou o punto de conxelación, utilizado como método para detectar fraudes por adición de auga.

1.3. Diversidade da composición do leite

A enorme variación cuantitativa nos compoñentes do leite entre os animais é un dos aspectos particularmente interesantes na bioloxía da lactación. Esta sección introduce algúns conceptos que sustentan a diversidade da composición do leite. A composición do leite varía segundo a especie animal, a raza, a etapa de lactación ou incluso a fase de muxidura. A graxa é o compoñente do leite que máis varía e a lactosa o que menos.

2. Síntese dos compoñentes bioquímicos do leite

Nesta sección abórdase o estudo dos procesos relacionados coa síntese dos compoñentes individuais do leite nas células epiteliais da glándula mamaria e o proceso de secreción destes ao lumen dos alvéolos onde, unha vez mesturados, se xera o leite.

2.1. Os glúcidos

A lactosa é o principal glúcido no leite da maior parte dos mamíferos. A síntese deste disacárido, formado por glicosa e galactosa, ten lugar nas células epiteliais da glándula mamaria a partir da glicosa achegada polo sangue. A lactosa sintetizada queda englobada no interior das vesículas do aparello de Golgi, que se van desprendendo e migrando ata a membrana apical da célula, vertendo o seu contido ao lumen alveolar por un proceso de exocitose.

2.1.1. Estrutura da lactosa

2.1.2. Utilización da lactosa polo neonato

2.1.3. Fontes de glicosa para a síntese de lactosa en monogástricos e ruminantes

A glicosa é absolutamente necesaria para a formación do leite pola glándula mamaria e non pode ser substituída por ningún outro azucre. Nos animais non ruminantes, os azucres inxeridos na dieta son absorbidos a nivel intestinal e contribúen a manter a glicemia. En cambio, nos ruminantes os azucres da dieta son fermentados no rume e polo tanto non contribúen directamente ao mantemento da glicemia.

2.1.4. Utilización da glicosa pola glándula mamaria

A glándula mamaria utiliza a maior parte da glicosa captada do sangue para fabricar a lactosa. Non obstante, unha fracción significativa da glicosa utilizada pola glándula mamaria é degradada mediante o chamado ciclo das pentosas-fosfato para xerar poder redutor en forma de NADPH, necesario para a síntese dos ácidos graxos. Outra pequena fracción de glicosa é utilizada para fabricar glicerol-3-fosfato, necesario para a síntese dos triglicéridos.

2.1.5. Síntese da lactosa: lactosa sintasa

Nesta sección explicarase a estrutura e funcionamento da lactosa sintasa, a encima responsable da síntese de lactosa, que só é activa no período de lactación. Ademais, tamén se explicará como se fabrica a galactosa a partir da glicosa e como ambos azucres se transportan ao interior dos sacos do aparello de Golgi para xerar a lactosa.

2.1.6. Secreción da lactosa ao lumen alveolar.

2.1.7. A lactosa é o principal compoñente osmótico do leite.

Nesta sección explicarase por que o volume de leite producido depende, en gran medida, da cantidade de lactosa sintetizada polas células epiteliais da glándula mamaria.

2.2. A graxa

2.2.1. Composición da graxa do leite

Os triglicéridos que se sintetizan nas células epiteliais da glándula mamaria a partir de glicerol e ácidos graxos son o compoñente maioritario da graxa do leite. Os ácidos graxos utilizados para formar os triglicéridos poden ser de procedencia esóxena, maioritariamente do tecido adiposo, ou ser sintetizados *de novo* na glándula mamaria.

2.2.2. Fontes de ácidos graxos

Nesta sección analízanse as diferenzas entre animais ruminantes e non ruminantes en canto aos precursores carbonados para a síntese de ácidos graxos.

2.2.3. Síntese de triglicéridos

Neste apartado explícase o proceso de síntese dos triglicéridos a partir de ácidos graxos e glicerol-3-fosfato, que ten lugar no retículo endoplásmico liso (REL).

2.2.4. Secreción da graxa do leite

Neste apartado explícase como as gotiñas de triglicéridos sintetizados van migrando cara ao polo apical das células epiteliais onde son envoltas por un fragmento de membrana celular. Deste xeito, os chamados glóbulos de graxa que se desprenden ao lumen alveolar poden ser emulsionados na auga do leite grazas aos lípidos anfipáticos e ás proteínas procedentes da membrana celular.

2.2.5. Alteracións da graxa do leite

2.2.5. Separación da graxa do leite mediante centrifugación (contido práctico).

2.3. As proteínas

As proteínas do leite pódense separar en dous grandes grupos: as caseínas e as proteínas do soro. As primeiras, maioritarias, teñen unha función nutritiva como fonte de aminoácidos para o neonato e forman, xunto co calcio e o fósforo, unhas estruturas supramoleculares chamadas micelas de caseína, que se atopan en suspensión no leite. As proteínas do soro teñen funcións diversas e atópanse no leite en forma soluble. A maior parte

das proteínas do leite sintetízanse e maduran nas células epiteliais da glándula mamaria desde onde son segregadas por exocitose ao lumen dos alvéolos, onde se mesturan co resto dos compoñentes do leite. Nesta sección tamén veremos de xeito práctico, no laboratorio, como se poden separar os diferentes tipos de proteínas do leite.

2.3.1. Visión global

2.3.2. As caseínas: tipos de caseínas e estrutura das micelas

2.3.3. As proteínas do soro

2.3.4. Fonte de aminoácidos para a síntese de proteínas na glándula mamaria

2.3.5. Síntese, maduración e secreción das proteínas do leite

2.3.6. Importancia das proteínas na calidade do leite

2.3.7. Separación no laboratorio dos diferentes tipos de proteínas do leite mediante electroforese. Comparación do leite de diferentes especies (contido práctico).

2.4. Outros compoñentes do leite

Nesta sección estúdanse outros compoñentes do leite: minerais —entre os que destacan o calcio e o fósforo—, vitaminas, metabolitos, células do sistema inmune, e incluso potenciais axentes infecciosos como bacterias ou virus.

2.5. Vías de transporte-secreción dos compoñentes do leite

Nesta sección, coa que remata a unidade didáctica, dáse unha visión global das vías a través das cales son transportados e/ou segregados os compoñentes do leite sintetizados nas células epiteliais ata o lumen alveolar. Destácase o papel das células epiteliais que constitúen os alvéolos ou unidades funcionais da glándula mamaria. Estas células captan, a través da súa membrana basal, diferentes precursores achegados polo sangue e transfórmanos nos diferentes compoñentes do leite, que segregan pola súa cara apical ao espazo interior dos alvéolos onde, unha vez mesturados todos os compoñentes individuais, se forma o leite.

ACTIVIDADES PROPOSTAS

Desenvolveranse as seguintes actividades prácticas no laboratorio:

- 1) separación da graxa e do plasma dunha mostra de leite mediante centrifugación;
- 2) separación das caseínas e do soro do leite mediante acidificación e centrifugación;
- 3) separación das diferentes caseínas e das proteínas de soro mediante electroforese en xeles de poliacrilamida-SDS;
- 4) identificación das diferentes caseínas e das proteínas de soro maioritarias. Diferenzas entre especies animais.

Durante a primeira sesión realizaranse as actividades 1 e 2, e a parte da actividade 3 correspondente á construción do xel de poliacrilamida. Na segunda sesión levarase a cabo a separación de proteínas mediante electroforese (parte da actividade 3) e a súa identificación (actividade 4).

AVALIACIÓN

Os contidos teóricos avaliaranse mediante un exame de dúas ou tres preguntas curtas nas que se valorará a adquisición por parte dos/das estudantes dos coñecementos relacionados cos contidos teóricos explicados na unidade didáctica e a capacidade para relacionalos cos tratados noutras partes da materia. Os estudantes dispoñen dunha serie de preguntas de autoavaliación (ver anexo I) que poderán utilizar para comprobar o grao de comprensión dos contidos tratados na unidade didáctica e a capacidade para relacionalos con outras partes da materia e da titulación.

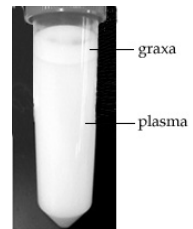
A avaliación das prácticas farase mediante a observación. Valorarase a comprensión dos procesos que se levan a cabo e do fundamento das técnicas utilizadas, a limpeza e a orde no traballo e o coidado do material de laboratorio e dos equipos empregados.

ANEXOS

Preguntas de autoavaliación

1. Seguro que tes moi bo «ollo para a bioquímica» e es capaz de «observar» moléculas de glicosa no sangue dun mamífero en lactación. Non podes ver que tipo de mamífero é pero estás moi interesado nesas moléculas de glicosa en particular.
 - Discute acerca de todas as orixes potenciais desas moléculas de glicosa.
 - Discute acerca de todos os destinos potenciais desas moléculas de glicosa se son captadas por unha célula epitelial da glándula mamaria.
 - Se a esas moléculas de glicosa lles puidésemos unir un fluorocromo, obteríamos leite fluorescente?
 - De que xeito poden estas moléculas de glicosa formar parte do leite?
 - Pode ter influencia a cantidade de moléculas de glicosa no sangue no volume de leite producido?Razoa as respostas.

2. Esta imaxe corresponde a unha mostra de leite de vaca sometida a centrifugación para separar a graxa do plasma.
 - En que fracción desta mostra esperarías atopar a maior parte da vitamina D?
 - En que fracción desta mostra esperarías atopar a maior parte da vitamina B6?Razoa as respostas.



3. Recorda os seguintes temas e logo contesta a pregunta formulada debaixo.
 - Que aprendiches acerca da función da α -lactalbúmina?
 - Que aprendiches sobre a función da lactosa no proceso de produción de leite?
 - Que aprendiches sobre a función da auga no leite?
 - Tendo en conta todo isto que aprendiches, que se podería esperar do proceso de lactación nun animal cunha mutación no xene da α -lactalbúmina?
4. Pensa como poderías alterar a composición da graxa do leite nas seguintes especies:
 - porco
 - vaca
 - coello

5. Imagina que é posible transplantar a glándula mamaria dunha vaca en lactación ao pescozo dunha porca. Asume que o ubre de vaca transplantada non sería rexeitada polo sistema inmunolóxico da porca e que sería capaz de producir leite. Pregunta: a composición do leite producido pola glándula transplantada será como o leite de porca, como o leite de vaca, ou como unha combinación dos dous? Antes de responder a esta pregunta pensa como son sintetizados os compoñentes individuais do leite, como se podería comparar a composición do leite da glándula transplantada coa composición do leite de porca (o receptor do transplante) e coa composición do leite de vaca (o donante do transplante).

6. É moi importante que teñas unha visión global dos procesos metabólicos que ocorren nun animal. Compróbaos. Pensa nunha vaca en lactación alimentada só con forraxe. Pensa na estrutura da celulosa e na lactosa; ambos son hidratos de carbono pero non se parecen moito.

— É posible que unha fracción da celulosa inxerida se converta en lactosa do leite? Pensa como sería esta transformación paso a paso.

— En que órganos do animal terían lugar estes procesos metabólicos?

— É posible que unha fracción da celulosa inxerida dea lugar a outros compoñentes do leite? A cales? Como?

Nota: recorda que unha vaca é un ruminante!

7. Comprobaches no laboratorio que as caseínas do leite precipitan a pH ácido (~pH 3.5). Agora pensa cando abres un iogur. Atopas unha parte sólida sobre a que se observa unha pequena cantidade de líquido.

— Cal é a composición de cada fase?

— Por que se formou a fase sólida?

— Haberá a mesma cantidade de lactosa no iogur que no volume de leite que se utilizou para fabricalo?

Razoa as respostas.

BIBLIOGRAFÍA

Textos de bioquímica xeral e bioquímica clínica

- BERG, J.M., J.L. TYMOCZKO & L. STRYER (2008) *Bioquímica*, 6ª ed., Barcelona: Reverté.
- KANEKO, J.J., J.W. HARVEY & M.L. BRUSS (eds.) (2008) *Clinical biochemistry of domestic animals*, 6ª ed., Amsterdam: Academic Press.

Textos sobre bioquímica da lactación

- FOX, P.F. & P.L.H. MCSWEENEY (eds.) (2003) *Advanced dairy chemistry*, vol. 1: *proteins*, 3ª ed., New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers.
- (2006) *Advanced dairy chemistry*, vol. 2: *lipids*, 3ª ed., New York: Springer.
- MCSWEENEY, P.L.H. & P.F. FOX (eds.) (2009) *Advanced dairy chemistry*, vol. 3: *lactose, water, salts and minor constituents*, 3ª ed., New York: Springer.
- MEPHAM, T.B. (ed.) (1983) *Biochemistry of lactation*. Amsterdam: Elsevier.

Recursos en internet sobre bioquímica da lactación

- HURLEY, H.L. «Lactation Biology Website». Disponible en <http://classes.ansci.uiuc.edu/ansc438/> [citado 20 de xullo de 2009]

Artigos de revisión específicos

- BURGOYNE, R.D. & J.S. DUNCAN (1998) «Secretion of milk proteins», *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 3, 275-286.
- HAYSSEN, V. & D.G. BLACKBURN (1985) « α -lactalbumin and the origins of lactation». *Evolution*, 39, 1147-1149.
- MITRANIC, M.M., M.R. PAQUET & M.A. MOSCARELLO (1988) «The interaction of bovine milk galactosyltransferase with lipid and α -lactalbumin». *Biochimica et Biophysica Acta*, 956, 277-284.
- SHENNAN, D.B. (1988) «Mammary gland membrane transport systems», *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 3, 247-258.
- SUTTON, J.D. (1989) «Altering milk composition by feeding». *Journal of Dairy Science*, 72, 2801-2914.



Unha colección orientada a editar materiais docentes de calidade e pensada para apoiar o traballo de profesores e alumnos de todas as materias e titulacións da universidade



Servizo de Normalización
Lingüística