INCORPORACION DE LA LEUCINA PLASMATICA EN LAS DISTINTAS FRACCIONES CASEINICAS MAYORES DE LA LECHE DE CABRA.

Joaquín Rubert Alemán[1], Guido Rychen[2], Stefan Jurjanz[2], François Laurent[2].
1: División de Producción Animal. Departamento de Tecnología Agroalimentaria. Universidad Miguel Hernández. Ctra. De Beniel km. 3,2. 03312 Orihuela.
2: Laboratoire de Sciences Animales. Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires. 2, Av. Fôret de Haye. 54505 Vandoeuvre. Francia.

INTRODUCCION

Durante la lactación la demanda de aminoácidos por la glándula mamaria para la síntesis proteica se caracteriza por ser de una gran magnitud (30 % del flujo total de aminoácidos, Baracos et al.; 1991, Bequette et al., 1994). Paralelamente, la secreción de proteínas en la leche tan sólo representa una parte de la síntesis proteicas total de la glándula mamaria (40-60 % Oddy et al., 1988; Champredon et al., 1990; Baracos et al., 1991). Esto implica pues la existencia de un proceso de degradacion de las proteínas sintetizadas de novo por la glándula mamaria. Por otro lado, las diferencias en cuanto a composición en aminoácidos, naturaleza y función estructural en la micela de las diferentes proteínas que componen la fracción caseínica de la leche podrían implicar comportamientos diferenciales en cuanto a la incorporación de aminoácidos plasmáticos. El objetivo del presente trabajo es el estudio de la eventual utilización diferencial de la leucina plasmática en los procesos de incorporación de la misma en las fracciones caseínicas de la leche de cabra.

MATERIAL Y METODOS

Para la presente experiencia se utilizarón 3 cabras adultas en 3ª lactación de raza Alpina (63±6 kg PV) con una producción media en dos ordeños de 3,1±0,3 kg/día. La ración estaba constituida a base de heno de hierba y alfalfa deshidratada como forraje y una mezcla de trigo, cebada y soja como concentrado. Las cantidades administradas y la composición de la ración fueron calculadas según las recomendaciones de Morand-Fehr et al. (1987). La experiencia consistió en una perfusión intravenosa de 51,9±8,4 kBq/kg PV de L-(1-^{14}C)-leucina durante 12 horas. Una alícuota de la leucina radioactiva (12 % del total, 6,2±1,0 kBq/kg PV) fue inyectada como dosis de cebado. El resto de la leucina radioactiva (45,7±7,4 kBq/kg PV) fue administrada como perfusión durante 12 horas a un caudal constante de 20 ml/hora.

Se tomaron muestras sanguíneas cada 60 minutos durante toda la perfusión mientras que la toma de muestras de leche se realizó cada 4 horas. Los ordeños se realizarón a máquina, procediéndose al vaciado manual final de la glándula mamaria tras una inyección de 1 UI de oxitocina.

El plasma desproteinizado se obtuvo por acidificación de las muestras sanguíneas con TCA 20 % v :v, centrifugación (1000 g, 4 °C, 15 minutos) y posterior recuperación del sobrenadante. Las caseínas se obtuvieron por precipitación ácida a pH 4,4 con ClH 1 M.

La radioactividad de las muestras estudiadas fue determinado por centelleo líquido mediante un contador Packard Tri-Carb 460 CD.

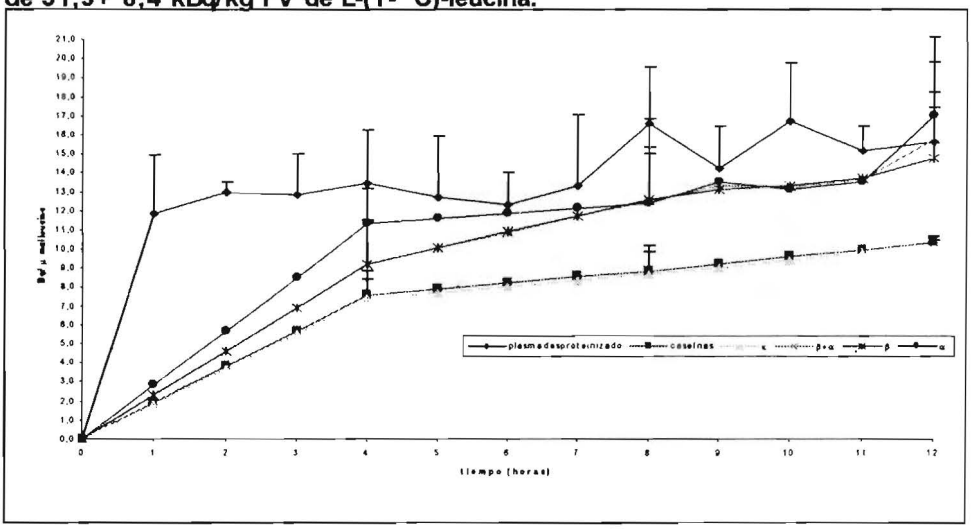
Las diferentes fracciones caseínicas mayores fueron separadas por cromatografía FPLC de intercambio de aniones (columna Mono Q HR 5/5) según una adaptación de la técnica descrita por Collin et al. (1991). El contenido en leucina de las diferentes muestras estudiadas fue determinado por cromatografía de gases según el método descrito por Husek (1991).

Las cinéticas de la radioactividad específica de la leucina (REL) libre del plasma, de la REL de las caseínas y de la REL de las fracciones caseínicas mayores fueron modelizadas mediante la ecuación exponencial REL= $A-B^* e^{-kt}$.

RESULTADOS Y DISCUSION

La figura 1 muestra las cinéticas de la radioactividad específica de la leucina (REL) libre del plasma, de las caseínas y de las fracciones caseínicas mayores. El cuadro 1 indica los parámetros del modelo de la curva de la radioactividad de las diferentes fracciones estudiadas.

Figura 1: Cinética de la REL libre del plasma, de las caseínas y de las fracciones caseínicas mayores en cabras sometidas a una perfusión intravenosa (12 horas) de 51,9+ 8,4 kBq/kg PV de L-(1-^{14}C)-leucina.



Cuadro 1: Parámetros de la modelización de la cinética de la REL libre del plasma, de las caseínas y de las diferentes fracciones caseínicas mayores.

Fracción	Parámetros del modelo REL = A – B * e^{-kt}					
	CD	DTR	GL	A (Bq/µmol) IC	B (Bq/µmol) IC	k (/h) IC
Plasma	0,97	2,519	35	14,158[b] 13,209-15,107	14,111 11,064-17,158	1,650 0,556-2,744
Caseínas	0,96	2,158	9	13,431[ab] 8,335-18,527	13,418 8,128-18,708	0,199 0,002-0,396
κ-caseína	0,98	1,108	9	9,862[a] 8,437-11,287	9,839 7,983-11,695	0,329 0,145-0,513
β-caseína	0,97	2,039	9	15,757[b] 11,395-20,119	15,724 11,086-20,362	0,213 0,051-0,375
α-caseína	0,94	3,321	9	16,919[ab] 10,608-23,230	16,750 9,802-23,698	0,233 0,023-0,489
β+α-caseína	0,96	2,158	9	13,431[ab] 8,335-18,527	13,418 8,128-18,708	0,199 0,002-0,396

a,b: diferencias significativas, P < 0,05. CD : Coeficiente de determinación. DTR : Desviación típica residual. GL : Grados de libertad. IC : Intervalo de confianza al 95 %.

El flujo de base de la leucina plasmática obtenido a partir del valor del parámetro A del modelo es de 4,384 µmol leucina/min/kg PV. Considerando un

contenido medio en leucina de las proteínas corporales de 147 mg leucina / g proteína (Reeds y Lobley, 1980) la síntesis proteica total estimada es de 5,624 g proteína/día/kg (15,059 g proteína/día/$kg^{0,75}$). Este valor es muy próximo a los obtenidos por Riis (1988) y Bequette et al. (1994) y ligeramente inferior a los de Tesseraud (1991).

La fase estacionaria en el plasma se alcanzo 1,8 horas tras el comienzo de la perfusión (pendiente de la curva inferior al 5 %) mientras que en las caseínas se alcanzó a las 15,1 horas. El valor estimado de la REL de las caseínas en la fase estacionaria representó el 94,9 % del valor estimado de la REL plasmática. Estos resultados indican la existencia de fuentes de aminoácidos intermedias a nivel intracelular con una baja tasa de renovación y/o la existencia de otros precursores de las caseínas además de los aminoácidos libres del plasma, posibilidad ya sugerida por otros autores (Oddy et al., 1988, Champredon et al., 1990, Baracos et al., 1991, Bequette et al., 1994, Backwell et al., 1994).

La leucina exportada por la glándula mamaria del torrente sanguíneo para su incorporación en las caseínas fue el 15 % del flujo de base de la leucina plasmática.

La fase estacionaria en las fracciones caseínicas mayores se alcanzó entre 3 y 8 horas después del inicio de la perfusión según la fracción estudiada. El valor de la REL alcanzado representó entre el 70 % (κ-caseína) y el 124 % (fracción β+α-caseína) del valor de la REL plasmática. Las tasas de renovación obtenidas variaron entre el 10 % / h y el 33 % / h.

Estas diferencias entre las cinéticas de la REL de la κ-caseína y las cinéticas de las otras fracciones caseínicas mayores, podrían indicar bien una especialización celular de los sitios de síntesis de cada una de las caseínas, bien la existencia de diferentes fuentes de aminoácidos para cada una de las proteínas o bien un proceso de síntesis y/o de renovación de las caseínas neosintetizadas diferente para cada una de las caseínas.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Backwell F.R.C., Bequette B.J., Wilson D., Graham Calder A., Metcalf J.A., Wray-Cahen D., MacRae J.C., Beever D.E., Lobley G.E., 1994. Am. J. Physiol., 267, 1-6.

Baracos V.E., Brun-Bellut J., Marie M., 1991. British J. Nutr., 66, 451-465.

Bequette B.J., Backwell F.R.C., Dhaona M.S., Walker A., Calder A.G., Wray-Caen D., Metcalf J.A., Sutton J.D., Beever D.E., Lobley G.E., Mac Rae J.C., 1994. British J. Nutr., 72, 211-220.

Champredon C., Debras E., Mirand P.P., Arnal M., 1990. J. Nutr., 120, 1006-1015.

Collin J.C., Kokelaar A., Rollet-Repecaud O., Delacroix-Buchet A., 1991. Lait, 71, 339-346.

Husek, 1991. J. Chromatography, 552, 289-299.

Morand-Fehr P., Sauvant D., Brun-Bellut J., 1987. Bulletin Technique C.R.V.Z. Theix, I.N.R.A. 70, 212-222.

Oddy V.H., Lindsay D.B., Fleet I.R., 1988. J. Dairy Res., 55, 143-154.

Reeds P.J., Lobley G.E., 1980. Proc. Nutr. Soc., 39, 43-52.

Riis P.M., 1988. J. Animal Physiol. Animal Nutr., 60, 86-95.

Tesseraud S., 1991. Thèse de Doctorat. Univ. de Rennes I, Rennes, France.