

Consecuencias neuroendocrinas de la disrupción génica de los Receptores de Estrógenos

DOMINGO NAVARRO BOSCH

RESUMEN

El patrón de liberación de la Hormona del Crecimiento (GH) está estrictamente regulado por varios factores endocrinos, entre ellos la principal hormona sexual femenina, el estradiol. Todos estos factores modulan la frecuencia de liberación de la GH de diferente manera en el macho y en la hembra, regulando también los diversos efectos que esta hormona tiene en la síntesis hepática de ciertas proteínas específicas de sexo.

Mediante la disrupción génica de uno de los factores envueltos en dicha regulación, los receptores para los estrógenos (RE), hemos estudiado los efectos que dicha ausencia tuvieron sobre el control de la expresión de ciertas proteínas hepáticas directamente reguladas por la GH.

El efecto más llamativo observado fue la capacidad de los machos para expresar proteínas específicas de hembras y, en algunos casos, de hembras expresando proteínas específicas de machos, demostrando que los RE juegan un papel determinante en el control que la GH ejerce sobre la expresión hepática de ciertas proteínas.

ABSTRACT

Neuroendocrine consequences of the genic disruption of estrogen receptors

The growth hormone (GH) secretory pattern from the pituitary is strictly regulated by several endocrine factors, among them the main feminine sexual hormone, the estradiol. All these factors modulate the frequency of GH secretion in a different way in both males and females, thus regulating the diverse effects that this hormone has on hepatic synthesis of certain sex-specific proteins. By gen-disrupting one of the factors involved on this regulation, the estrogen receptor (ER), I have studied the effects that this absence had on the control of expression of several proteins directly regulated by GH in liver.

The more significative effect observed was the capacity of males to express female-specific proteins and, in some cases, females expressing male-specific proteins, demonstrating that ER plays a decisive role in controlling the hepatic expression of certain sex-specific proteins regulated by GH.

En la naturaleza, la diferencia existente entre un macho y una hembra parece un hecho bastante evidente, al menos para la mayoría de las especies. Esta diferenciación física, denominada dimorfismo sexual, es debida principalmente a la acción de diferentes hormonas en ambos sexos. El hecho de que predomine una sobre otra en un determinado estadio del desarrollo llevará al animal a adquirir los caracteres propios de una hembra o de un macho. Evidentemente, esta predisposición hacia un sexo u otro no depende de factores climáticos precisamente, sino más bien de la dotación genética del individuo, heredada de sus progenitores. Son por tanto una serie de genes los que, en definitiva, determinarán qué sexo tendrá el nuevo miembro de la familia.

Evidentemente, una vez determinado el sexo genético queda lo más difícil por hacer, que es empezar a construir todo el entramado fisiológico y anatómico del nuevo individuo. De esto se encargan una serie de sustancias sintetizadas por ciertas células o grupos de ellas, y que reciben el nombre genérico de hormonas. Algunas hormonas son sintetizadas más o menos en igual medida sin tener en cuenta el sexo, pero hay otras que no, que dependiendo de cuál sea éste serán más abundantes en uno que en el sexo contrario, siendo este hecho precisamente uno de los factores que determinan la aparición de los órganos reproductores propios del sexo femenino en las hembras, y consecuentemente lo contrario en los machos, al menos en la gran mayoría de las especies.

Esta diferente acción de las hormonas sobre el organismo según se trate de “ella” o de “él” no termina con el desarrollo del animal hasta la edad adulta. Antes al contrario, la diferenciación hormonal persiste a lo largo de toda la vida, si bien es verdad que a medida que esta avanza (o acaba, según se mire) la acción de estas hormonas puede ser más o menos igual en ambos sexos.

En este artículo se intentarán exponer, de la manera más asequible posible, algunos hechos relacionados con la expresión diferencial de ciertas hormonas, sus consecuencias y las posibles alteraciones en estos patrones cuando introducimos anomalías artificiales que afectan de lleno al control general que el organismo ejerce mediante la liberación de esas sustancias.

INTRODUCCIÓN

Las funciones generales del organismo son reguladas por éste mediante dos grandes sistemas de control: el nervioso y el endocrino u hormonal. A través de ellos, nuestro cuerpo sabe exactamente qué es lo que está pasando en él en cada momento y por tanto sabe emplear las respuestas adecuadas a cada situación.

Estos dos grandes sistemas no son en absoluto independientes entre sí, sino que forman un entramado bastante complicado, siendo difícil a veces hacer una buena separación fisiológica y anatómica entre ambos. Por ejemplo, algunas hormonas son liberadas en respuesta a un estímulo nervioso (el dolor li-

bera adrenalina), mientras que en otras ocasiones es una hormona la que inhibe en cierta medida la transmisión nerviosa (las neuroendorfinas atenúan la sensación de dolor).

El cómo y el porqué de estos y otros muchos hechos es algo que se lleva investigando hace muchos años, llegando a un punto en el cual algunos hechos pueden ser bien explicados, mientras que otros permanecen todavía escondidos para la ciencia.

Un aspecto crucial en esta investigación es averiguar de qué manera una hormona puede ejercer su efecto en una determinada población celular, lo que generalmente se conoce como “mecanismos moleculares de la acción hormonal”, o más simple, por qué una célula responde de una manera a una hormona y no lo hace igual frente a otra.

Mecanismo de acción hormonal

De la misma manera que a cada llave le corresponde una cerradura (o al revés, según como se mire), a cada hormona le corresponde lo que se llama un “receptor”, que viene siendo como la vía o puerta de entrada de la hormona en la célula. Los receptores son proteínas que reconocen específicamente a su hormona, y que son sintetizados por la propia célula con la finalidad de poder responder a esa hormona determinada. Por regla general, mientras más receptores tenga una célula para una hormona dada, más sensible será al control que el sistema endocrino quiera ejercer sobre esa célula.

De manera muy esquemática, la Figura 1 muestra cómo una hormona proveniente de la sangre se une a su receptor celular, produciendo un determinado efecto que, en el caso de esta representación, consiste en la síntesis de nuevas proteínas. Este es un mecanismo muy general para muchas hormonas, ya que muchas de ellas tienen un efecto inductor en la síntesis proteica.

Comentábamos antes que los receptores hormonales están constituidos por proteínas, y por tanto éstas han de ser producidas por la célula. ¿Cómo consigue saber dicha célula qué proteína sintetizar? O, dicho de otro modo, ¿cuál es el molde para fabricar esta nueva proteína?. El “molde”, la información necesaria para que la célula sintetice esa proteína y no otra, se halla contenida en el núcleo celular, en unas estructuras denominadas cromosomas. Cada cromosoma contiene la información de cientos o miles de proteínas, susceptibles de ser

fabricadas por la célula en respuesta a un estímulo adecuado. Lo que tiene que hacer la maquinaria celular encargada de sintetizar nuevas proteínas es “leer” primero ese molde, para poder traducirlo a un lenguaje más asequible. Este lenguaje “más asequible” está constituido por los llamados ARNm, Acido Ribonucleico mensajero, que como su propio nombre indica, transporta la información leída del ADN hasta las estructuras celulares encargadas de ensamblar la nueva proteína, leyendo la información de este ARNm para saber en qué orden han de colocar los aminoácidos, y por tanto dar lugar exactamente a la proteína codificada por el ADN.

Modelos animales genéticamente modificados

En la corta historia del estudio de los mecanismos de acción hormonal, nunca antes nos habíamos encontrado con un material de estudio tan interesante como ciertos animales a los cuales se les ha modificado drásticamente su capacidad de respuesta hormonal.

No es sencillo entender el mecanismo mediante el cual se están produciendo la última generación de animales así modificados, pero de manera muy esquemática, el proceso es el siguiente:

Cuando una hormona interactúa con su receptor, éste puede tener un efecto inductor en la síntesis de nuevas proteínas, tal y como se ve en la Figura 1. Para realizar su misión, el re-



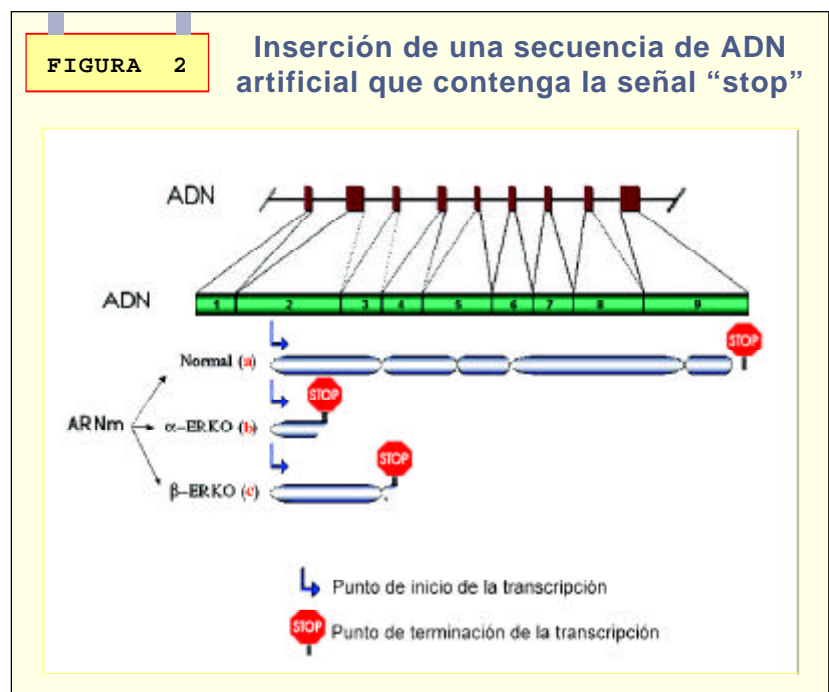
ceptor se une a zonas del ADN, llamadas secuencias, que reconoce de manera específica. Es como si hubiera un segundo receptor a este nivel, pero en este caso para el propio receptor unido a su hormona. A estas secuencias se les conoce genéricamente como “elementos de respuesta”, y son la clave para activar el inicio de la transcripción de la información contenida en el ADN para dar lugar al ARNm que se comentaba antes. A partir de la unión del complejo hormona-receptor a su elemento de respuesta se activa todo el mecanismo de copia antes mencionado. Esto no implica que la acción de la hormona lleve al copiado de todo el ADN. Todo lo que tiene un comienzo debe tener también un final, y en este caso el final está también constituido por una pequeña secuencia de ADN que indica a la maquinaria copiadora que ahí acaba su trabajo. El resultado final de éste será pues un ARNm más o menos largo según lo sea también el tamaño de la proteína a fabricar. Esta etapa se corresponde con la parte (a) de la Figura 2.

¿En qué consiste pues el proceso de generación de estos animales genéticamente modificados? Pues sencillamente en insertar una secuencia de ADN “artificial” a medio camino que contenga una señal de “stop” mucho antes de que la maquinaria copiadora termine su trabajo, con lo que el ARNm que se producirá en este caso será mucho más corto de lo normal, y por lo tanto la proteína resultante será una mínima expresión de lo que en realidad debería ser, no teniendo ninguna funcionalidad, lo que sencillamente significa que no sirve absolutamente para nada. En

pocas palabras, engañamos a la célula, haciéndole creer que todo funciona perfectamente. Dos ejemplos de este proceso, que luego tomaremos en consideración, se pueden ver en la parte (a) y (c) de la misma figura 2, donde se producen dos ARNm extremadamente cortos, y que no contienen toda la parte de información que sí llevaría el ARNm en el caso (a) o normal. A estos animales, por ahora sólo ratones, se les conoce por el eufemismo boxístico de *knock out*, ya que realmente lo que hacemos es dejar “fuera de combate” a una determinada proteína alterando drásticamente la información genética que la codificaba.

Detección inmunológica de proteínas: western blot

Una de las técnicas más ampliamente usadas para detectar proteínas mediante el uso de anticuerpos específicos es la lla-



mada “*western blot*”. En síntesis, consiste en separar una mezcla de proteínas en solución en un gel de acrilamida y luego transferirlo a un papel especial o “membrana”, donde la proteína en cuestión será reconocida por el anticuerpo con el cual incubamos dicha membrana.

Si seguimos las fases de la Figura 3 podremos ver estos pasos más detenidamente. En (a) está esquematizado lo que es un gel de acrilamida y el desarrollo de una electroforesis, aplicando una diferencia de potencial entre los extremos (las proteínas migran hacia el polo positivo). La poli(acrilamida) es sencillamente un polímero especial el cual presenta una resistencia al paso de las proteínas en función de que éstas sean más grandes o más pequeñas. De esta manera, las proteínas de bajo peso molecular (tamaño pequeño) encontrarán menos resistencia en su avance que las de peso molecular elevado (tamaño grande) por lo que a menor peso molecular, más migración y vi-

ceversa. El resultado es que después de realizar esta fase del experimento, hemos conseguido separar las proteínas de una muestra en función de su tamaño.

Una vez terminada esta etapa, hace falta traspasar esas proteínas previamente separadas a un soporte o material que pudiera ser usado con nuestros anticuerpos. Este material es normalmente un papel bastante especial y caro: la nitrocelulosa. Esta nitrocelulosa presenta una peculiaridad: tiene una gran afinidad por las proteínas, propiedad que aprovecharemos para realizar el siguiente paso, la transferencia (b) desde el gel de poli(acrilamida) hasta este papel. Este paso también se hace aplicando una pequeña cantidad de corriente, pasando las proteínas desde el polo negativo hasta el positivo, quedando así “atrapadas” en la nitrocelulosa.

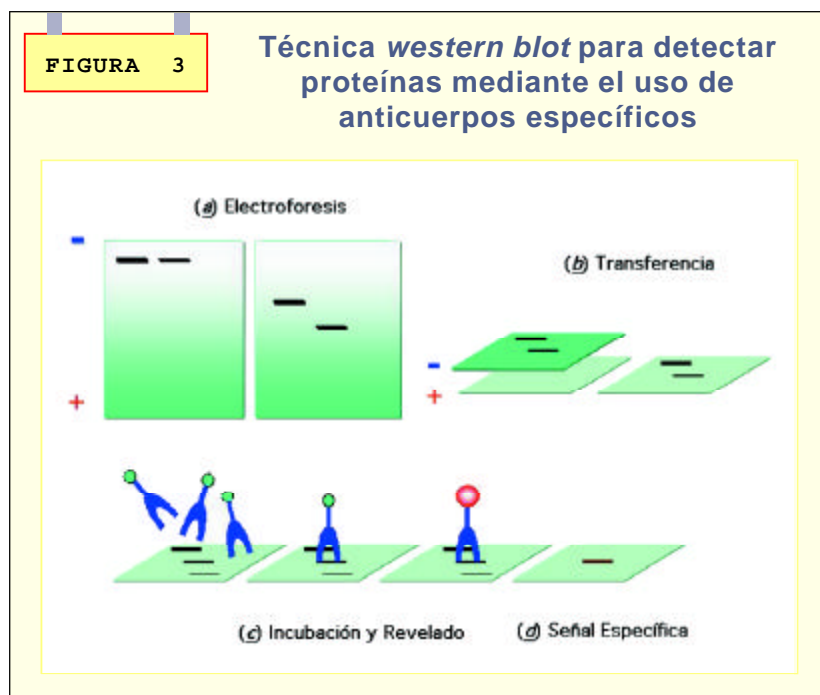
El proceso subsiguiente a esta etapa consiste en incubar este papel o membrana de nitroce-

lulosa con una solución del anticuerpo dirigido contra la proteína de nuestro interés (c), permitiendo en último término la visualización de esa proteína en la membrana o “blot”, usando varios sistemas que pueden originar color justo ahí donde se localiza el anticuerpo y, por ende, nuestra proteína (d).

Caso particular del Receptor de Estrógenos

El receptor de estrógenos (RE) constituye uno de los ejemplos gráficos de proteína que se une específicamente a una hormona determinada, tal y como se explicaba en el apartado anterior. En este caso, la hormona es el 17- β -estradiol, una de las hormonas sexuales que podríamos clasificar como “típicamente femenina”, y que consecuentemente predomina más en las hembras que en los machos. El estradiol ejerce su efecto sobre las células y los tejidos en los que va actuar uniéndose antes a su receptor, el RE. Una vez formado el complejo hormona-receptor, éste sigue los pasos esquematizados en la figura 1, uniéndose todo el conjunto a determinadas secuencias del genoma y promoviendo la síntesis de nuevas proteínas.

Como cualquier proteína, también el RE está codificado en el ADN, con la particularidad de que existen dos tipos diferentes de RE, uno denominado a, porque fue el primero que se descubrió hace ya más de treinta años, y el otro, lógicamente, denominado b, por haber llegado más tarde, concretamente en 1996. Ambos receptores y



su proceso de disrupción genética (producción de animales Knock Out para estas proteínas) es lo que se esquematiza en la figura 2, pero usando la terminología inglesa: a-ERKO para los animales que no pueden expresar el receptor a, y b-ERKO para los animales a los cuales se les ha impedido que sinteticen la forma b del RE. Ambos animales así generados presentan una serie de deficiencias acordes con la ausencia de cada receptor, con lo cual podemos estudiar individualmente las acciones de cada uno de ellos por separado, dado que cada modelo carece de un receptor, y por tanto, todas las acciones debidas al estradiol en esos animales serán debidas exclusivamente a la acción del que queda.

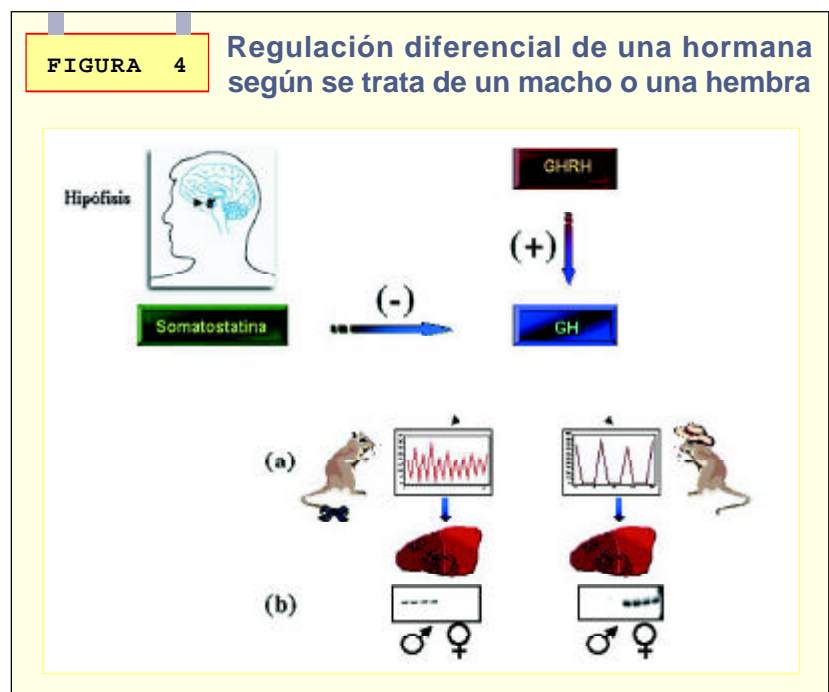
Caso especial de una hormona regulada de manera diferente según el sexo: la hormona del crecimiento

El ejemplo elegido para ilustrar de manera práctica cómo una hormona puede ser regulada de diferente manera según se trate de un macho o una hembra es la llamada Hormona del Crecimiento (Growth Hormone –GH– en la terminología inglesa). De manera muy sencilla, esta regulación diferencial puede verse esquematizada en la Figura 4.

A modo de introducción, la GH es producida y liberada a la sangre por una pequeña glándula situada en el cerebro justo donde está marcada la imagen de la Figura 4. Esta glándula, denominada hipófisis, tiene una función vital dentro del sistema endocrino, ya que no sólo produce GH

sino que sintetiza y libera otras importantísimas hormonas y factores estimulantes de hormonas necesarias para el correcto funcionamiento del sistema endocrino del/de la individuo/a.

Como en el caso de cualquier otra hormona, la liberación de GH hacia el torrente sanguíneo por parte de la hipófisis no es un hecho aleatorio, antes al contrario, esta hormona se sintetiza y se libera de acuerdo a un sistema de regulación también hormonal que dicta las pautas de comportamiento a seguir. En pocas palabras, una hormona en particular, la GHRH, estimula la liberación de GH mientras que otra, la Somatostatina, la inhibe, tal y como puede verse en la misma Figura 4. Este sistema de control en particular, con una hormona que favorece la síntesis y otra que la reprime, no constituye un caso aislado de control hormonal, pero a este nivel reviste especial importancia, puesto que estamos hablando de una hormona, la GH, con multitud de efectos



endocrinos prácticamente generalizados en todo el organismo. Así, la hormona del crecimiento influye en el metabolismo de los azúcares, grasas y proteínas, amén de contribuir al crecimiento general del organismo, como su propio nombre indica, bien de manera directa o bien indirectamente potenciando la síntesis de otros factores que también desempeñan esta misión, como lo son la IGF-I y II.

La GH tiene además otros efectos más concretos en algunos órganos determinados, como pueda ser el hígado. Aquí, esta hormona estimula la síntesis de una gran cantidad de factores endógenos con propiedades muy diferentes. Dos ejemplos de esto los constituyen por un lado las IGF antes mencionadas, con un papel importantísimo en el crecimiento, y algunos miembros de la familia de los citocromos P450.

Bajo el nombre genérico de “citocromos P450” nos encontramos con una verdadera amalgama de proteínas con un denominador común: son todas enzimas, esto es, proteínas altamente específicas que aceleran ciertas reacciones metabólicas, muchas de ellas relacionadas con la degradación de productos tóxicos, lo cual evidentemente reviste bastante importancia.

Dentro de esta enorme familia de proteínas, algunas de ellas son expresadas de forma muy similar tanto en el macho como en la hembra. Se dice entonces que la expresión de ese P450 en concreto no es característico de sexo. Sin embargo, hay algunos que sí lo son, y de manera muy acusada. Ejemplos clásicos de esto son los P450 denominados cyp2C11, específico de machos, y el cyp2C12,

éste expresado sólo en hembras ambos en la especie *Rattus Norvegicus*, o sea, ratas. Ambas proteínas se expresan en el hígado de manera diferente según sea el sexo del animal. Ahora bien, ¿cómo sabe el hígado que tiene que fabricar una proteína u otra? A primera vista parecería que las hormonas sexuales tendrían algo que decir en este asunto, y si bien es indudable que contribuyen en alguna medida, también está fuera de toda duda de que es la GH quien controla en último término cuál P450 es sintetizado.

Esto lleva a plantearse la siguiente cuestión: Si la GH es la que controla la expresión diferencial de un mismo P450 en el macho y en la hembra, y esta hormona es producida y liberada en ambos sexos, ¿cómo logra diferenciar el hígado cuando la GH es de un animal “él” o “ella”? Pues bien, aunque el mecanismo no esté del todo esclarecido, la diferencia estriba no tanto en la cantidad de GH circulante en cada momento, sino en el cómo la hipófisis libere esa GH a la sangre.

Efectivamente, el patrón de liberación de la hormona del crecimiento es muy diferente según se trate de un macho o de una hembra. En el primer caso, si medimos los valores plasmáticos (en sangre) de esta hormona durante un período de 24 horas, veremos cómo en el caso del macho nos encontramos con que podremos medir cantidades muy elevadas de esta hormona pero en lapsos muy concretos de tiempo. Es como si la hormona se liberase en forma de “pulsos” cada tres o cuatro horas, alcanzando un máximo de concentración en plasma al final de este intervalo de tiem-

po, para luego decaer hasta valores casi indetectables hasta que un nuevo episodio de liberación vuelve a suceder. Este esquema está representado en la figura 4 (a), en el diagrama correspondiente al macho (derecha).

El caso de la hembra es algo diferente. En ésta, la liberación de GH es más o menos continua, también mediante pulsos, pero éstos son más frecuentes y los picos máximos en suero son menos pronunciados. Es como si hubiera una liberación sostenida de GH, de manera que siempre podríamos medir cantidades de esta hormona en sangre, cosa que no pasaría en ciertos períodos en el macho. Este patrón es el que figura como (a) en la gráfica correspondiente a la hembra (izquierda) en la misma figura 4.

Por lo tanto, tenemos un ejemplo a través del cual se comprueba que para ejercer una acción bien diferente sobre la inducción proteica no hace falta usar dos hormonas diferentes. Antes al contrario, estableciendo un ritmo de liberación diferente entre ambos sexos, pero usando sólo una hormona, es señal suficiente para dirigir la síntesis de nuevas proteínas según se trate de un macho o una hembra.

En resumidas cuentas, la regulación de la expresión de ciertas proteínas hepáticas es específica de sexo, y la manera por la cual se realiza este control es mediante el ritmo de liberación de la GH de la hipófisis, más o menos continua en las hembras y drásticamente pulsátil en el macho.

Un ejemplo gráfico de este hecho está recogido en la última parte de la Figura 4. En la columna correspondiente a la

hembra (izquierda), se observa un *western blot* en el cual se analizó la expresión de una proteína específicamente regulada en hembras, pero no en machos. En este caso vemos cómo hay expresión de esa proteína sólo cuando se usó como muestra un hígado de hembras, mientras que en el hígado tomado de un macho no se detectó nada en absoluto.

Consecuentemente, si realizamos el mismo experimento pero usando un anticuerpo que reconozca una proteína expresada sólo en machos, las bandas se verán sólo en las muestras originarias de hígado “macho”, pero no habrá señal alguna en la parte correspondiente a las muestras de la hembra.

Hormona del crecimiento, estrógenos y modelos K.O.

Hasta este punto hemos visto los siguientes aspectos:

1. mecanismo de acción hormonal: cómo una hormona se une a su receptor para ejercer ciertos efectos genómicos
2. animales genéticamente modificados: cómo logramos que un modelo animal deje de expresar una proteína en concreto
3. breve descripción del Receptor para Estrógenos
4. regulación hepática diferencial: hormona del crecimiento

Una vez descritos estos cuatro puntos, viene lo más complicado: combinarlos para dar una perspectiva real de una parte

de la investigación realizada por el autor.

Probablemente, el punto más importante a tener en cuenta es la acción que la hormona del crecimiento tiene sobre la expresión de ciertas proteínas en el hígado, y que esta expresión, en algunos casos, está regulada de manera precisa según sea el sexo del animal. Cambios en el patrón de liberación de GH (pulsátil en el macho y más continuo en la hembra) producirán cambios a veces radicales en dicha expresión.

Si bien es verdad que el modelo de control sobre la liberación de la GH de la figura 4 es válido, no es menos cierto que es bastante sencillo y que está muy simplificado. En este modelo faltan bastantes elementos que también influyen en el resultado final, y precisamente uno de esos elementos en el receptor de estrógenos (RE).

Se piensa, de manera general, que el RE controla en las fases tempranas de la vida cuál va a ser el patrón final de liberación de la GH. En las hembras, una mayor cantidad de estradiol en un determinado momento del desarrollo implicará el establecimiento del patrón femenino (más o menos continuo), mientras que la ausencia de esta hormona y la mayor abundancia de la hormona masculina, los andrógenos, harán el efecto contrario (liberación pulsátil). En este punto introducimos la pregunta clave. Si el RE es tan importante en el establecimiento de estos patrones, ¿qué pasará si falta alguno de ellos? ¿o los dos?

Y aquí es donde se complica el asunto. Por poner un ejem-

plo, en el caso de que falte el llamado receptor alfa, la hembra de este modelo KO expresará proteínas hepáticas propias del macho, mientras que si es el beta el que no está en este modelo, la hembra seguirá siendo una hembra y el macho, un macho.

Sin embargo, no todo es tan sencillo. Una de las muchas posibilidades de este modelo animal es la de tratarlos con estradiol y estudiar la respuesta hepática a esta administración de hormona femenina. En nuestro caso, si le inyectamos esta hormona a un macho normal, que posea ambos tipos de receptores, éste será capaz de expresar una proteína que sólo la produce la hembra. ¿Cuál es la causa? se supone que la administración de estradiol en un macho altera el ritmo de secreción de la GH lo suficiente como para que ésta sea liberada de una manera más continua, como si dijéramos “más femenina”, provocando que el hígado “masculino” sea capaz de comportarse, en cierta manera, como si de una hembra se tratara. Ahora bien, ¿qué ocurre con el macho que no posee el RE beta en las mismas condiciones? pues que se sigue comportando como un macho, sin expresar la proteína típica de la hembra.

De forma coloquial, la ausencia de este tipo de receptor hace al macho *más macho*, más resistente a los cambios que pudieran derivarlo hacia un comportamiento femenino, al menos en lo que a la síntesis hepática se refiere. En su presencia, sin embargo, los leves cambios que se producen en el patrón de liberación de la GH como consecuencia de la administración de estradiol no pueden ser

de alguna manera soportados, y el animal se comporta en algunos aspectos como una hembra.

La pregunta clave sigue siendo la misma: ¿por qué?. Evidentemente, el efecto del estradiol en el animal es generalizado, pero este efecto en concreto no se debe a la acción de esta hormona directamente sobre el hígado, sino más bien a la alteración del patrón de la GH que comentaba antes. Afectando a los ejes centrales de control que actúan sobre la hipófisis para dar lugar a la secuencia propia de un macho o de una hembra, el estradiol actúa preferentemente como un estimulador en la liberación de somatostatina, que a su vez inhibe la liberación de GH y de GHRH, haciendo la liberación de la hormona del crecimiento un evento más sostenido, justo hacia el patrón femenino.

La presencia de ambos receptores estrogénicos en prácticamente todos los puntos clave de control neuroendocrino, y en zonas que indirectamente influyen un factor u otro, añaden un grado de complejidad adicional que sólo ahora, y poco a poco, se está empezando a dilucidar gracias a la existencia de estos animales genéticamente modificados.

CONCLUSIÓN

La acción del estradiol como hormona reguladora de múltiples procesos endocrinos lleva ya estudiándose desde hace más de treinta años. Si ya durante esta época era complicado intentar dilucidar el papel de esta hormona en organismos en los cuales prácticamente todos los órganos expresaban el Receptor de Estrógenos, y por tanto capaces de responder a esta hormona, ahora nos encontramos con una nueva disyuntiva. ¿Cuántos de los miles de experimentos publicados hasta la fecha se deben a la acción del RE alfa o del beta? Sólo ahora se empieza a comprender algo más acerca de este embrollado asunto con los animales genéticamente modificados descritos en este trabajo.

La complicación en este tipo de estudios, sin embargo, está lejos de desaparecer. Si bien es verdad que sabiendo de la existencia de dos receptores y usando estos animales podemos (más o menos) diferenciar cada una de sus acciones por separado, también es verdad que la situación real es más comprometida de lo que a simple vista parece. Pongamos dos ejemplos:

- Ultimamente se están poniendo de manifiesto ciertas accio-

nes del estradiol sobre ciertos mecanismos celulares que parecen ser independientes de la presencia de los receptores. Esto es, que esta hormona puede ejercer algunos efectos sin tener que unirse a alguno de sus receptores,

- algunos experimentos hechos con animales que carecen de ambos receptores todavía son capaces de responder al estradiol como si los tuvieran.

Las consecuencias de estos dos puntos se pueden resumir en dos líneas:

- el estradiol puede actuar por una vía distinta a la “clásica”
- puede existir todavía un tercer tipo de receptor estrogénico (¿d?)

Como se ve, la cuestión está todavía bastante lejos de ser aclarada. Sin embargo, no cabe duda que la introducción de los modelos K.O. para ciertos genes, además de para los RE, ha supuesto una herramienta tremendamente poderosa para discernir las misiones que cada gen por separado tiene encomendado dentro de la complicada maquinaria bioquímica que es la célula, y las relaciones existentes entre los diferentes órganos y sistemas de control nervioso y endocrino.

BIBLIOGRAFÍA

- **Couse, J.; Curtis, S.; Washburn, T.; Eddy, E.; Schomberg, D.; Korach, K.:** *Disruption of the mouse oestrogen receptor gene: resulting phenotypes and experimental findings.* Biochem Soc Trans 1995 Nov;23(4):929-35.
- **Couse, J.; Curtis, S.; Washburn, T.; Lindzey, J.; Golding, T.; Lubahn, D.; Smithies, O.; Korach, K.:** *Analysis of transcription and estrogen insensitivity in the female mouse after targeted disruption of the estrogen receptor gene.* Mol Endocrinol 1995 Nov;9 (11): 1441-54.
- **Eddy, E.; Washburn, T.; Bunch, D.; Goulding, E.; Gladen, B.; Lubahn, D.; Korach, K.:** *Targeted disruption of the estrogen receptor gene in*

- male mice causes alteration of spermatogenesis and infertility.* Endocrinology 1996 Nov;137(11):4796-805.
- **Giustina, A.; Veldhuis, J.:** *Pathophysiology of the neuroregulation of growth hormone secretion in experimental animals and the human.* Endocr Rev 1998 Dec;19(6):717-97.
 - **Jensen, E.; Suzuki, T.; Kawashima, T.; Stumpf, W.; Jungblut, P.; DeSombre, E.:** *A two-step mechanism for the interaction of estradiol with rat uterus.* Proc Natl Acad Sci U S A 1968 Feb; 59(2): 632-8.
 - **Korach, K.; Couse, J.; Curtis, S.; Washburn, T.; Lindzey, J.; Kimbro, K.; Eddy, E.; Migliaccio, S.; Snedeker, S.; Lubahn, D.; Schomberg, D.; Smith, E.:** *Estrogen receptor gene disruption: molecular characterization and experimental and clinical phenotypes.* Recent Prog Horm Res 1996;51:159-86; discussion 186-8.
 - **Krege, J.; Hodgin, J.; Couse, J.; Enmark, E.; Warner, M.; Mahler, J.; Sar, M.; Korach, K.; Gustafsson, J.; Smithies, O.:** *Generation and reproductive phenotypes of mice lacking estrogen receptor beta.* Proc Natl Acad Sci U S A 1998 Dec 22;95(26): 15677-82.
 - **Kuiper, G.; Enmark, E.; Pelto-Huikko, M.; Nilsson, S.; Gustafsson, J.:** *Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary.* Proc Natl Acad Sci U S A 1996 Jun 11;93(12):5925-30.
 - **Lubahn, D.; Moyer, J.; Golding, T.; Couse, J.; Korach, K.; Smithies, O.:** *Alteration of reproductive function but not prenatal sexual development after insertional disruption of the mouse estrogen receptor gene.* Proc Natl Acad Sci U S A 1993 Dec 1; 90(23): 11162-6.
 - **Mosselman, S.; Polman, J. Dijkema, R.:** *ER beta: identification and characterization of a novel human estrogen receptor.* FEBS Lett, 1996 Aug 19;392(1):49-53.
 - **Ogawa, S.; Lubahn, D.; Korach, K.; Pfaff, D.:** *Behavioral effects of estrogen receptor gene disruption in male mice.* Proc Natl Acad Sci U S A 1997 Feb 18;94(4):1476-81.
 - **Toft, D.; Shyamala, G.; Gorski, J.:** *A receptor molecule for estrogens: studies using a cell-free system.* Proc Natl Acad Sci U S A 1967 Jun; 57 (6): 1740-3.
 - **Toft, D; Gorski, J.:** *A receptor molecule for estrogens: isolation from the rat uterus and preliminary characterization.* Proc Natl Acad Sci U S A 1966 Jun;55(6):1574-81.

BIOGRAFÍA

DOMINGO NAVARRO BOSCH

Licenciado en Farmacia por la Universidad de La Laguna en 1986, cursó los estudios de doctorado en el antiguo Colegio Universitario de Las Palmas, actualmente Centro de Ciencias de la Salud, obteniendo el grado de Doctor en Medicina y Cirugía en 1994. Profesor ayudante LRU hasta 1990, actualmente es profesor asociado tipo III, impartiendo docencia de Fi-

siología en las licenciaturas de Medicina y Veterinaria.

Dirección:

Laboratorio de Fisiología, Departamento de Bioquímica, Biología Molecular, Fisiología y Genética
 Centro de Ciencias de la Salud
 Universidad de Las Palmas de Gran Canaria
 Tlf: 928 45 14 40
 e-mail: dnavarro@cicei.ulpgc.es

Este trabajo ha sido patrocinado por:

**AYUNTAMIENTO DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA y
 CLÍNICA SAN ROQUE, S.A.**