# GLP-2 ENDÓGENO COMO DIANA PARA PREVENIR LOS DESÓRDENES ASOCIADOS AL DESTETE TEMPRANO EN LECHONES

de Diego[1], N., Menoyo[1] D., Ipharraguerre[2], I. R.
[1]Departamento de Producción Animal, UPM. Ciudad Universitaria, s/n, 28040, Madrid.
[2]Lucta S.A., Can Parellada 28, 08170, Montornés del Vallés.
david.menoyo@upm.es

## INTRODUCCIÓN

El destete temprano es una práctica extendida en la producción porcina. Los lechones sufren un periodo de estrés, que en ocasiones deriva en anorexia y deterioro de la estructura intestinal, aumentando la susceptibilidad a diarreas y reduciendo el crecimiento del animal (Lallès et al., 2004; Pluske et al., 1997). El péptido similar al glucagón 2 (GLP-2) es un factor de crecimiento intestinal que se sintetiza por procesamiento post-traduccional de un péptido precursor, el proglucagón (GCG). El GLP-2 es liberado por las células L intestinales, localizadas más densamente en el íleon y el colon, en respuesta a la presencia de nutrientes en el lumen (Cottrell et al., 2006; Xiao et al., 1999). Las acciones de dicho péptido son mediadas por el receptor de GLP-2 (GLP-2R), el cual se expresa en el tracto intestinal de los lechones en el periodo perinatal (Petersen et al., 2003). Dado que la concentración plasmática de GLP-2 disminuye tras el destete (Petersen et al., 2003), este péptido podría estar también implicado en los trastornos asociados al destete temprano. Además de los factores nutricionales, la secreción endógena de GLP-2 en el intestino también puede ser inducida por estímulos neurales u hormonales (Burrin et al., 2003; Estall and Drucker, 2006). En los últimos años, los ácidos biliares, entre ellos el ácido quenodesoxicólico (CDC), han surgido como potentes reguladores hormonales (Vallim y Edwards, 2009), capaces de estimular la secreción de GLP en el intestino, señalizando a través de un receptor en la superficie de las células L (Katsuma et al., 2005). Los objetivos de este estudio fueron determinar la expresión de GCG y GLP-2R en los tramos distal y proximal del intestino delgado, y estudiar la influencia de la inclusión de CDC en el pienso sobre la expresión de dichos genes y sobre la concentración de GLP-2 en plasma, en lechones destetados con 20 d de edad hasta los 35 d de edad.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se destetaron 12 lechones a los 20 d de edad con un peso inicial de 6,3 ± 0,73 kg y se alojaron individualmente. Los animales se asignaron completamente al azar a dos tratamientos experimentales (n = 6), consistentes en una dieta comercial (control) y la misma dieta a la que se añadieron 60 mg de CDC por kg de PV. A los 20, 27 y 34 d de edad se sometió a los lechones un periodo de ayuno de 12-14 h y a continuación se tomaron muestras de sangre. La concentración de GLP-2 en plasma se determinó por radioinmunoensayo (Burrin et al., 2000). A los 35 d de edad, todos los animales fueron sacrificados y se tomaron muestras de mucosa de los tramos proximal y distal del intestino delgado. La expresión de GCG (Doug Burrin, comunicación personal) y de GLP-2R (Guan et al., 2006) se determinó mediante PCR a tiempo real. El gen de la β-actina (Gerbens et al., 2001) y el de la proteína de unión de la TATA box (TBP) (Nygard et al., 2007) se tomaron como genes control. Los cambios en la concentración de GLP-2 en plasma se analizaron con un modelo de efectos mixtos (SAS Inst. Inc., Cary, NC) tras la transformación logarítmica de los datos. Los resultados de expresión génica se analizaron con un test T (SAS Inst. Inc., Cary, NC), siguiendo el modelo propuesto por Yuan et al. (2006). Cuando las eficiencias de amplificación fueron distintas a 2 ($E \neq 2$) los valores de Ct fueron transformados en función de su eficiencia siguiendo el modelo propuesto por Steibel et al. (2009). Se utilizó la media geométrica de los dos genes de referencia β-actina y TBP para la normalización de los valores de expresión, siguiendo el modelo propuesto por Pfaffl et al. (2004).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En lechones de 35 d de edad alimentados con la dieta control, el nivel de expresión de GCG fue significativamente mayor ($P < 0,05$) en el tramo distal del intestino delgado que en el proximal. Este resultado se encuentra dentro de lo esperado, ya que el GCG es producido por las células L enteroendocrinas que se localizan en la parte distal del intestino (Burrin et al., 2003). Sin embargo, la expresión de GLP-2R, fue similar en ambos tramos intestinales

(Figura 1A). Por otra parte, no se encontraron diferencias significativas en la expresión de los dos genes a estudio en ninguno de los tramos del intestino delgado al comparar los lechones que consumieron la dieta con CDC respecto a los de la dieta control (Figura 1B). En estudios anteriores la infusión intragástrica de 60 mg de CDC por kg de PV provocó un aumento de GLP-2 en plasma de un 77 % respecto a una dieta control (Ipharraguerre et al., 2012). Sin embargo, en el presente estudio dicho aumento representó un 39 %, sin hallarse diferencias significativas entre ambos tratamientos (Figura 2). Dado que se ha utilizado la misma concentración de CDC entre estudios, la vía de administración puede haber afectado la capacidad del CDC para estimular la secreción de GLP-2. El GLP-2R es un receptor de membrana de la familia de receptores asociados a proteínas G, cuya expresión se modula en función de la presencia/ausencia de su agonista. Petersen et al. (2003) mostró que la expresión de GLP-2R disminuye cuando se eleva la concentración de GLP-2 en plasma. Por lo tanto, la ausencia de diferencias en la concentración de GLP-2 en plasma, concuerda con una expresión similar de GLP-2R para ambos tratamientos. En conclusión, el GCG y el GLP-2R se expresan en el intestino de lechones de 35 d de edad, y pueden actuar como dianas para mejorar los trastornos asociados al destete temprano. Sin embargo, la inclusión de 60 mg de CDC por kg de PV en el pienso de lechones destetados a los 20 d de edad, no fue suficiente para inducir diferencias en la expresión de dichos genes ni en la concentración plasmática de GLP-2.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS


• Burrin, D.G., Stoll, B., Jiang, R., Chang, X., Hartmann, B., Holst, J.J., Greeley, G.H., Reeds, P.J., 2000. Am J Clin Nutr. 71, 1603-1610. • Burrin, D.G., Stoll, B., Guan, X., 2003. Domest Anim Endocrinol. 24, 103-122. • Cottrell, J.J., Stoll, B., Buddington, R.K., Stephens, J.E., Cui, L., Chang, X., Burrin, D.G., 2006. Am J Physiol-Gastr. L 290, G293-G300. • Estall, J.L., Drucker, D.J., 2006. Annu Rev Nutr. 26, 391-411. • Gerbens, F., Verburg, F.J., Van Moerkerk, H.T., Engel, B., Buist, W., Veerkamp, J.H., te Pas, M.F., 2001. J Anim Sci. 79, 347-354. • Guan, X., Karpen, H.E., Stephens, J., Bukowski, J.T., Niu, S., Zhang, G., Stoll, B., Finegold, M.J., Holst, J.J., Hadsell, D., Nichols, B.L., Burrin, D.G., 2006. Gastroenterology. 130, 150-164. • Ipharraguerre, I.R., Burrin, D.G., Tedo, G., Menoyo, D., Holst, J.J., Mereu A. 2012. XII International Symposium on Digestive Physiology of Pigs. Keystone, Colorado, USA. Pp. 106. • Katsuma, S., Hirasawa, A., Tsujimoto, G., 2005. Biochem Biophys Res Commun. 329, 386-390. • Lallès, J.-P., Boudry, G., Favier, C., Floc'h, N.L., Luron, I., Montagne, L., Oswald, I.P., Pié, S., Piel, C., Sève, B., 2004. Anim. Res. 53, 301-316. • Nygard, A.-B., Jorgensen, C., Cirera, S., Fredholm, M., 2007. BMC Mol Biol. 8, 67. • Petersen, Y.M., Hartmann, B., Holst, J.J., Le Huerou-Luron, I., Bjornvad, C.R., Sangild, P.T., 2003. J. Nutr. 133, 1781-1786. • Pfaffl, M.W., Tichopad, A., Prgomet, C., Neuvians, T.P., 2004. Biotechnol Lett. 26, 509-515. • Pluske, J.R., Hampson, D.J., Williams, I.H., 1997. Livest Prod Sci. 51, 215-236. • SAS Institute. 2002. Version 9.0, SAS Inst. Inc., Cary, NC. • Steibel, J.P., Poletto, R., Coussens, P.M., Rosa, G.J., 2009. Genomics 94, 146-152. • Vallim, T.Q.d.A., Edwards, P.A., 2009. Cell Metab. 10, 162-164. • Xiao, Q.A., Boushey, R.P., Drucker, D.J., Brubaker, P.L., 1999. Gastroenterology. 117, 99-105. • Yuan, J.S., Reed, A., Chen, F., Stewart, C.N., Jr., 2006. BMC bioinformatics 7, 85.

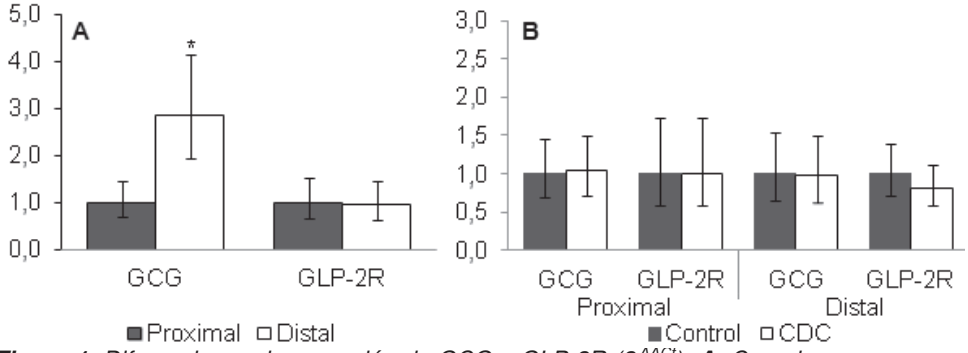



***Figura 1.*** *Diferencias en la expresión de GCG y GLP-2R ($2^{-\Delta\Delta Ct}$).* ***A.*** *Cuando se compara el tramo distal frente al proximal, en lechones de 35 d alimentados con la dieta control.* ***B.*** *Cuando se comparan lechones alimentados con la dieta con CDC frente a la dieta control en el tramo proximal y en el distal. * P < 0,05. (n = 6)*

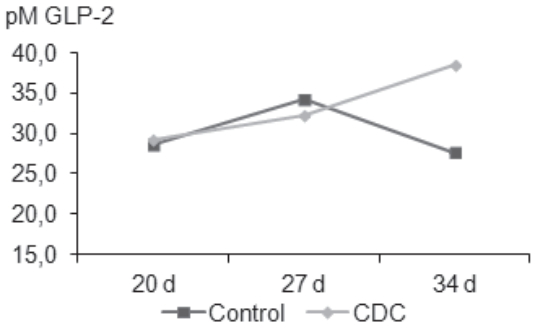



***Figura 2.*** *Diferencias en la concentración de GLP-2 en plasma a los 20, 27 y 34 d de edad, al comparar los lechones alimentados con la dieta con CDC frente a los de la dieta control. (n = 6; EEM = 0,05627 datos transformados)*

**ENDOGENOUS RELEASE OF GLUCAGON-LIKE PEPTIDE-2 AS A TARGET TO PREVENT EARLY WEANING DISORDERS IN PIGLETS**

**ABSTRACT:** The glucagon-like peptide-2 (GLP-2) is a gut hormone released by intestinal L-cells in response to different stimuli, including the hormonal signaling of bile acids, such as chenodeoxycolic acid (CDC). This pleiotropic hormone may be implicated in post-weaning disorders induced by early weaning. The aims of this study were to confirm the expression of proglucagon (GLP-2 precursor) and GLP-2 receptor (GLP-2R) in the small intestine, and to study the influence of the inclusion of CDC in the diet of piglets. A total of 12 piglets were weaned at 20 d of age, and randomly assigned to a commercial feed alone or with 60 mg of CDC per kg of BW. At 35 d of age pigs were slaughtered and mucosal scrapings were taken from small intestine. Relative gene expression levels were determined by Real Time PCR. Plasma GLP-2 concentrations at 20, 27 and 34 d of age were measured by radioimmunoassay. Proglucagon level expression was significantly higher ($P < 0.05$) in the distal region of the small intestine. No significant differences were found when comparing gene expression transcripts or plasma GLP-2 concentration between treatments. In conclusion, proglucagon and glucagon-like peptide-2 receptor genes are expressed in the gut of piglets aging 35 d, and may act as targets to improve early weaning associated disorders. However, CDC did not influence the expression of these genes nor the plasma concentration of GLP-2 between 20 and 34 d of age.
**Keywords**: chenodeoxycholic acid, glucagon-like petide-2, weaning, piglet.