

TOR010

#### GLUTAMINA, EL AMINOÁCIDO QUE PRESERVA LA FUNCIÓN ABSORTIVA DE LOS ENTEROCITOS

DÍAZ de BARBOZA Gabriela, MOINE Luciana, PEREZ Adriana y TOLOSA de TALAMONI Nori.

Laboratorio de Metabolismo Fosfocálcico y Vitamina D "Dr. Cañas". Bioquímica y Biología Molecular. FCM. INICSA, CONICET-UNC.

El calcio ( $Ca^{+2}$ ) es absorbido en el epitelio intestinal a través de dos vías: transcelular y paracelular. Su adecuada ingestión y absorción son necesarias para preservar la salud ósea, por ello es fundamental mantener en condiciones normales la fisiología intestinal ante la agresión provocada por la ingestión de diferentes drogas. En nuestro laboratorio hemos demostrado que la administración de menadiona (MEN) produce disminución de la absorción intestinal de  $Ca^{+2}$  mediante la generación de estrés oxidativo y muerte celular por apoptosis de los enterocitos duodenales. Glutamina (GLN) es un aminoácido semi-esencial que posee cualidades antioxidantes y antiapoptóticas. Es utilizado en la práctica clínica para mejorar las condiciones de pacientes con estrés catabólico y con patologías que comprometen el intestino, pero su mecanismo de acción aún no está bien dilucidado. En el presente trabajo nos propusimos estudiar el efecto de la suplementación con GLN como posible herramienta para prevenir la disminución de la absorción intestinal de  $Ca^{+2}$  causada por MEN y dilucidar los mecanismos subyacentes. Se utilizaron pollos *Gallus gallus domesticus* de 4 semanas de edad alimentados con una dieta comercial distribuidos en los siguientes grupos experimentales: GLN, que recibieron distintas dosis de GLN/kg de peso corporal (pc) por vía gastrointestinal; MEN, tratados con 2,5  $\mu$ mol de MEN/kg de pc por vía intraperitoneal; GLN+MEN, tratados con diferentes dosis de GLN a distintos tiempos antes de MEN y grupo control tratados con vehículo. Se determinó la absorción intestinal de  $Ca^{+2}$  mediante la técnica del asa ligada in situ empleando  $Ca^{45}$  como trazador. Se evaluó la expresión de proteínas involucradas en las vías transcelular y paracelular de la absorción intestinal de  $Ca^{+2}$ : Calbindina D28K (CB),  $Ca^{+2}$  ATPasa y Claudina 2 (Cd2) mediante la técnica de western blot. Se cuantificó el contenido de anión superóxido ( $O_2^-$ ) y de glutatión intracelular (GSH) y se midió la actividad de las enzimas antioxidantes catalasa (CAT) y superóxido dismutasa (SOD) por métodos espectrofotométricos. Se determinó la fragmentación del ADN mediante la técnica de TUNEL y la expresión de proteínas pro-apoptóticas como FAS, FAS-L y BAX por la técnica de western blot empleando anticuerpos específicos. Se estudió además la actividad de la proteína efectora de la apoptosis caspasa 3. El análisis estadístico de los datos se realizó con el programa SPSS. Los resultados mostraron que 0,5g/kg pc de GLN administrada 30 min antes de MEN fue la menor dosis y tiempo que previno la disminución de la absorción intestinal de  $Ca^{+2}$  desencadenada por la droga pro-oxidante. Esta dosis evitó la disminución en la expresión de las proteínas de las vías de absorción CB,  $Ca^{+2}$  ATPasa y Cd2. El tratamiento con GLN mantuvo los niveles intracelulares de  $O_2^-$ , GSH y la actividad de las enzimas SOD y CAT en valores iguales a los controles. El incremento del 30% en el número de células TUNEL positivas desencadenado por MEN se previno con la administración previa del aminoácido en los tiempos estudiados. La determinación de la expresión de proteínas pro-apoptóticas reveló que GLN bloqueó el incremento de la expresión de FAS y FAS-L desencadenado por MEN, mientras que en la expresión de Bax no se observaron modificaciones en ninguno de los grupos experimentales. Se evidenció un aumento de la actividad de caspasa 3 en el grupo tratado con MEN mientras que los grupos GLN y GLN+MEN presentaron iguales niveles de actividad que los controles. En conclusión, la administración de una dosis única de 0,5 g/Kg pc de GLN previene la disminución de la absorción intestinal de  $Ca^{+2}$  cuando se administra 30 min antes que MEN. Los mecanismos involucrados en la acción de GLN serían: 1- mantenimiento del estado redox celular, 2- preservación de la expresión de proteínas que componen las vías de absorción intestinal transcelular y paracelular y 3- bloqueo de la muerte celular de los enterocitos con capacidad absorbiva.