

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

ERIKA SANTOS DÓREA

**SUPLEMENTAÇÃO DE GLUTAMINA E GLUTAMATO EM DIETAS COM BAIXO
NÍVEL DE LISINA DIGESTÍVEL PARA LEITÕES DESMAMADOS**

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2022**

ERIKA SANTOS DÓREA

**SUPLEMENTAÇÃO DE GLUTAMINA E GLUTAMATO EM DIETAS COM BAIXO
NÍVEL DE LISINA DIGESTÍVEL PARA LEITÕES DESMAMADOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Gabriel Cipriano Rocha

Coorientadores: Alysson Saraiva
Arele Arlindo Calderano

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2022**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

D695s
2022
Dórea, Erika Santos, 1996-
Suplementação de glutamina e glutamato em dietas com
baixo nível de lisina digestível para leitões desmamados / Erika
Santos Dórea. – Viçosa, MG, 2022.
1 dissertação eletrônica (71 f.): il. (algumas color.).

Inclui anexo.

Inclui apêndices.

Orientador: Gabriel Cipriano Rocha.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Zootecnia, 2022.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2022.694>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Suínos - Filhotes - Alimentação e rações. 2. Glutamina.
3. Glutamato. 4. Intestinos -Morfologia. 5. Lisina. I. Rocha,
Gabriel Cipriano, 1983-. II. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Zootecnia. Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia. III. Título.

CDD 22. ed. 636.4085


ERIKA SANTOS DÓREA

**SUPLEMENTAÇÃO DE GLUTAMINA E GLUTAMATO EM DIETAS COM BAIXO
NÍVEL DE LISINA DIGESTÍVEL PARA LEITÕES DESMAMADOS**


Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 20 de julho de 2022.

Assentimento:

Documento assinado digitalmente
 ERIKA SANTOS DOREA
Data: 01/12/2022 09:25:46-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>

Erika Santos Dórea
Autora

Documento assinado digitalmente
 GABRIEL CIPRIANO ROCHA
Data: 01/12/2022 09:47:26-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>

Gabriel Cipriano Rocha
Orientador

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa, à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação e ao Departamento de Zootecnia, que proporcionaram estrutura física e assistência necessária para execução do presente trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao professor Dr. Gabriel Cipriano Rocha, meu orientador, pelos ensinamentos, oportunidade, confiança, paciência e profissionalismo.

Aos colaboradores da Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão em Suinocultura – DZO, pela assistência técnica e disponibilidade.

Ao Frederico Soares e funcionários da Fazenda Vitória, pela concessão de infraestrutura e serviços prestados.

À empresa Ajinomoto do Brasil Indústria e Comércio de Alimentos Ltda, pela doação de produtos para execução da pesquisa.

Aos meus pais Angela Santos e Elisanio Dórea, meus irmãos Ewelyn Dórea e Everton Dórea, sobrinhos, tias e demais familiares, pelo apoio e incentivo.

Aos meus amigos Arlene dos Santos, Jeisiane Matos, José Antônio, Milena Gonçalves, Taís Pontes, Tarcyla Marília, Urias Fagner e Vinícius Campos, pela compreensão, atenção e companheirismo demonstrados durante a minha trajetória acadêmica.

Aos colegas de trabalho Amanda Medeiros, Dante Valente Júnior, Lucas Medina, Maykelly Gomes, Stéfani Fontes, Vinícius Scalabrini, e, em especial, Ronaldo Júnior, por todos os ensinamentos.

A todos que de alguma forma me auxiliaram ao alcance deste objetivo.

RESUMO

DÓREA, Erika Santos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2022. **Suplementação de Glutamina e Glutamato em dietas com baixo nível de lisina digestível para leitões desmamados.** Orientador: Gabriel Cipriano Rocha. Coorientadores: Alysson Saraiva e Arele Arlindo Calderano.

O estudo foi realizado com o objetivo de avaliar os efeitos da suplementação com L-glutamina e L-glutamato (Gln/Glu), em dieta com baixo nível de lisina, sobre o desempenho, parâmetros sanguíneos, integridade intestinal e contagem de placas de Peyer no intestino de leitões. Cento e cinquenta leitões desmamados aos 21 dias de idade foram distribuídos em blocos casualizados, de acordo com o peso inicial, em três dietas, dez repetições e cinco animais por unidade experimental. As dietas foram: Controle, inclusão de 1,45% e 1,34% de lisina digestível (LisD) dos 21-33 dias e 33-47 dias, respectivamente; B-Lis, baixa LisD (90% da concentração de LisD das dietas Controles); B-Lis + Gln/Glu, baixa LisD + 1,2% e 0,8% de AminoGut dos 21-33 dias e 33-47 dias, respectivamente. Os dados foram analisados utilizando o pacote estatístico SAS 9.4. Dos 21 aos 33 dias, a adição de Gln/Glu na dieta com baixa lisina proporcionou aumento ($P < 0,05$) do consumo de ração médio diário (CRMD) dos leitões, em comparação às demais dietas. Além disso, melhorou ($P < 0,05$) o ganho de peso médio diário (GPMD) dos suínos no período experimental. Leitões do Controle apresentaram melhor ($P < 0,05$) conversão alimentar (CA) dos 21 aos 47 dias de idade. Os níveis de imunoglobulina G (IgG), creatinina e ureia no soro sanguíneo não foram influenciados ($P > 0,05$) pelas dietas. No duodeno, a dieta B-Lis + Gln/Glu proporcionou aumento ($P < 0,05$) da altura de vilosidades (AV), enquanto a dieta Controle não diferiu ($P < 0,05$) das demais. Não houve efeito ($P > 0,05$) das dietas sobre a profundidade de cripta (PC) e relação AV:PC nos diferentes segmentos intestinais. No íleo foi observada tendência ($P = 0,10$) de aumento da AV e maior ($P < 0,04$) proliferação de células caliciformes. No jejuno, as dietas não influenciaram ($P > 0,05$) os dados morfométricos. A suplementação com Gln/Glu em dieta com baixa lisina (90% da exigência) pode melhorar o desempenho e a integridade da mucosa intestinal de leitões desmamados. A redução do nível de lisina piorou o GPMD, a CA, o peso aos 33 e 47 dias de vida e a proporção de células caliciformes duodenais, entretanto não afetou os parâmetros sanguíneos e a contagem de placas de Peyer.

Palavras-chave: Glutamina. Glutamato. Morfologia intestinal. Leitões desmamados. Lisina.

ABSTRACT

DÓREA, Erika Santos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2022. **Effects of Glutamine and Glutamate on nursery pigs fed diets with low digestible lysine content.** Adviser: Gabriel Cipriano Rocha. Co-advisers: Alysson Saraiva and Arele Arlindo Calderano.

This study investigated the effects of L-Glutamine and L-Glutamate (Gln/Glu) on growth performance and intestinal health of nursery pigs fed low digestible lysine diets. One hundred fifty piglets (21-d-old; 5.6 ± 0.55 kg initial BW) were distributed in a randomized block design, with three treatments and ten replicates. Experimental diets were fed from 21 to 33 and 33 to 47 d of age. The treatments consisted of control, standard lysine level; low-lys, 90% of the lysine level of the control diets; low-lys + Gln/Glu, low-lys diets supplemented with 1.2 and 0.8% of Gln/Glu (AminoGut, Ajinomoto) per phase. Alanine, inert and starch were used to make treatments isoproteic and isocaloric. Data was analyzed with SAS 9.4 PROC GLM. From 21 to 33 d, pigs fed control or low-lys + Gln/Glu diets had improved ADG, G:F, and 33-d BW compared to those fed low-lys diets ($P < 0.05$). From 21 to 47 d, pigs fed control or low-lys + Gln/Glu diets had improved ADG and 47-d BW compared to those fed low-lys diets ($P < 0.05$). The supplementation of Gln/Glu in the diets improved G:F compared to those fed low-lys ($P < 0.05$). Pigs fed low-lys + Gln/Glu had higher duodenum villus height compared to those fed low-lys ($P < 0.05$), and pigs fed the control diet had intermediate results. Pigs fed control diets had increased presence of goblet cells in duodenum compared to those fed low-lys ($P < 0.05$), and pigs fed the low-lys + Gln/Glu diet had intermediate results. Pigs fed low-lys + Gln/Glu diets had increased presence of goblet cells in jejunum compared to the other treatments ($P < 0.05$). The diets did not influence Peyer's patches count ($P > 0.05$). In conclusion, supplementation of Gln/Glu on low lysine diets improved nursery pigs growth performance and intestinal health.

Keywords: Glutamine. Glutamate. Gut morphology. Piglets. Lysine.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AA – Aminoácidos
- ADP – Adenosina difosfato
- AmG – Aminogut[®] (L-glutamina e L-ácido glutâmico, Ajinomoto Animal Nutrition)
- Ala – Alanina
- Akt – Proteína quinase B
- ALT – Alanina aminotransferase
- AMP – Monofosfato de adenosina
- AMPK – Proteína quinase ativada por AMP
- APCs – Células apresentadoras de antígeno
- AV – Altura de vilosidades
- ATP – Adenosina trifosfato
- B-Lis – Baixa lisina
- CA – Conversão alimentar
- CC – Células caliciformes
- CD4⁺ – Células T auxiliares
- CD8⁺ – Células T citolíticas ou citotóxicas
- CLDN – Claudina
- Cl⁻ – Cloreto
- CO₂ – Dióxido de carbono
- CRMD – Consumo de ração médio diário
- DNA – Ácido desoxirribonucleico
- EAA – Aminoácidos essenciais
- eIF2 α – Fator de iniciação eucariótico 2 α
- eIF2B – Fator de iniciação eucariótico 2B
- eIF4A – Fator de iniciação eucariótico 4A
- eIF4F – Fator de iniciação eucariótico 4F
- eIF4G – Fator de iniciação eucariótico 4G
- EM – Energia metabolizável
- FADH₂ – Flavina adenina dinucleotídeo
- h – Horas
- IGF-1 – Fator de crescimento semelhante à insulina

IGFBP-3 – Proteína ligadora de IGF-1 tipo 3
IgG – Imunoglobulina G
IL – Interleucina
IL-1 β – Interleucina 1 beta
IPEC-1 – Célula epitelial intestinal de suíno
IRS – Substrato do receptor de insulina
g – Gramas
GABA – γ -aminobutirato
GDP – Guanosina difosfato
GH – Hormônio de crescimento
GLA – Glutaminase
Gln – Glutamina
Glu – Glutamato
GLUT2 – Transportador de glicose tipo 2
GPCRs – Receptores acoplados a proteína G
GPMD – Ganho de peso médio diário
GS – Glutamina sintetase
GSH – Glutathiona
GSK3 – Proteína glucagon quinase sintetase 3
HSP – Proteína de choque térmico
kJ – Quilo joule
Kg – Quilograma
LisD – Lisina digestível
LPS – Lipopolissacarídeo
MAPK – Proteína quinase ativada por mitógenos
mGluR1 – Receptor metabotrópico de glutamato 1
MHC – Complexo de histocompatibilidade maior
mM – Milimolar
mRNA – RNA mensageiro
MSG – Glutamato monossódico
mTOR – Proteína alvo da rapamicina em mamíferos
mTORC1 – Complexo 1 da proteína alvo mecanístico de rapamicina
mTORC2 – Complexo 2 da proteína alvo mecanístico de rapamicina

MUC1 – Mucina 1
NAD – Dinucleotídeo de nicotinamida e adenina
NA⁺ – Sódio
NEAA – Aminoácidos não essenciais
OCLN – Ocludina
PC – Profundidade de criptas
PEPT1 – Transportador de peptídeos 1
P13K – Fosfatidilinositol 3-quinase
pH – Potencial hidrogeniônico
p-mTOR – Proteína alvo da rapamicina em mamíferos fosforilada
PP – Placas de Peyer
PRAS40 – Akt rica em prolina
p70S6k – Proteína ribossômica S6 quinase beta-1
RNA – Ácido ribonucleico
Ser – Serina
SGLT1 – Cotransportador de sódio e glicose
S6 – Proteína ribossômica S6
Shc – Proteína adaptadora de sinalização
SNAT2 – Transportador de aminoácidos neutro acoplado ao sódio 2
TGI – Trato gastrointestinal
TNF- α – Fator de necrose tumoral alfa
T1R1 – Receptor de gosto tipo 1 membro 1
T1R2 – Receptor de gosto tipo 1 membro 2
T1R3 – Receptor de gosto tipo 1 membro 3
tRNA – RNA transportador
TSC1 – Hamartina
TSC2 – Tuberina
ZO – Zônula occludens
4E-BP1 – Proteína ligadora do fator de iniciação eucariótico

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	10
1 INTRODUÇÃO GERAL	10
2 REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 Glutamina e glutamato	12
2.2 Glutamina e glutamato na regulação do consumo	14
2.3 Glutamina e glutamato e o peso corporal	17
2.4 Parâmetros séricos	22
2.5 Morfologia intestinal	25
2.6 Efeitos do desmame sobre a morfologia intestinal	27
2.7 Glutamina e glutamato e a integridade intestinal	28
REFERÊNCIAS	32
CAPÍTULO 2	43
1 INTRODUÇÃO	45
2 MATERIAL E MÉTODOS	47
2.1 Desenho experimental e dietas	47
2.2 Desempenho e incidência de diarreia	48
2.3 Coletas de sangue e tecidual	48
2.4 Análises de morfometria intestinal e contagem de células caliciformes	48
2.5 Análises estatísticas	49
3 RESULTADOS	50
4 DISCUSSÃO	51
5 CONCLUSÃO	55
REFERÊNCIAS	56
APÊNDICE	61
ANEXO	70

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO GERAL

Ao longo do tempo, as pesquisas sobre nutrição proteica evidenciaram assuntos relacionados a suplementação com aminoácidos essenciais (Wu *et al.*, 2004; Bai *et al.*, 2020; Yap *et al.*, 2020). No entanto, a inadequação na síntese endógena de aminoácidos não essenciais em períodos pós-desmame tem recebido, cada vez mais, atenção dos nutricionistas (Zhong *et al.*, 2011). Em granjas comerciais de suínos diversos fatores, inerentes ao animal ou externos, atuam influenciando negativamente o balanço nitrogenado corpóreo, desempenho, função imunológica e saúde animal (Madec *et al.*, 1998; Duan *et al.*, 2014; Johnson e Lay Júnior, 2017; Qi *et al.*, 2020). De tal modo, que os aminoácidos Gln e Glu podem se tornarem condicionalmente essenciais (Wu, 1998; Reeds e Burrin, 2001).

Estudos têm comprovado as funções variadas desempenhadas pela Gln e Glu em diversas vias metabólicas, os quais são indispensáveis à regulação do metabolismo do nitrogênio e homeostase corporal (Domeneghini *et al.*, 2004; Watford, 2015; Zhang *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2022). Entretanto, dietas para leitões são relativamente carentes desses aminoácidos e a síntese de novo pode ser insuficiente para o máximo crescimento do intestino (Haynes *et al.*, 2009). Desse modo, a suplementação com esses aminoácidos funcionais pode corrigir a deficiência nutricional e de síntese endógena em circunstâncias de imunodepressão e elevado catabolismo muscular, sem a necessidade de aumentar a proteína total da dieta (Watford, 2015).

O intestino é um órgão multicelular complexo e toda sua dinamicidade resulta em alto custo metabólico ao organismo animal (Noblet *et al.*, 1987). Estima-se que tecidos gastrointestinais sejam responsáveis pelo consumo de 20% a 35% da energia disponível ao corpo (Lobley *et al.*, 1980; Lv *et al.*, 2018). Entretanto, o desmame precoce reduz significativamente o consumo de alimentos, comprometendo a manutenção da estrutura e funcionalidade do intestino delgado (Le Dividich e Sève, 2000; Wang *et al.*, 2015). Nesse caso, reduções acentuadas na maturação de enterócitos e maiores taxas de perdas celulares provocam a atrofia de vilosidades e aumento da profundidade de criptas (Pluske *et al.*, 1997; Xu *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2015). O sistema imunológico pouco desenvolvido e a disponibilidade de substratos não digeridos favorecem a multiplicação de patógenos e a ocorrência de quadros de diarreia (Blavi *et al.*, 2021).

A Gln e Glu são relatados na literatura como os principais substratos oxidados no intestino delgado (Reeds e Burrin, 2001). São combustíveis importantes para a proliferação, diferenciação e reparo das células epiteliais intestinais. Participam da síntese de antioxidantes, mucossacarídeos, da manutenção do balanço acidobásico do plasma sanguíneo e gliconeogênese hepática e renal (Wu, 1998; Cruzat e Rogero, 2017; Lv *et al.*, 2018). O consumo de Gln pelas células imunes é comparável ou superior ao da glicose, contribuindo para expressão de imunoglobulinas (Newsholme e Parry-Billings, 1990; Cruzat *et al.*, 2018; Lv *et al.*, 2018). A Gln media a ativação da sinalização da proteína alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR), via essencial para o tamanho e a massa tecidual, estimulando funções anabólicas. É precursora de bases nitrogenadas, ácidos nucleicos e outros aminoácidos (Wu, 1998; Newsholme *et al.*, 2003; Cruzat *et al.*, 2009).

Apesar das funções conhecidas da Gln e do Glu no organismo animal, estudos sobre os efeitos da suplementação com esses aminoácidos no desempenho dos leitões têm sido inconsistentes e essa variabilidade pode estar ligada à nutrição utilizada (Teixeira *et al.*, 2014; He *et al.*, 2016; Johnson e Lay Júnior, 2017; Silva *et al.*, 2019). A redução da síntese proteica devido à deficiência de aminoácidos no organismo animal já está bem estabelecida (Sevé *et al.*, 1986; Conde-Aguilera *et al.*, 2016), mas não se sabe se a suplementação dietética com aminoácidos condicionalmente essenciais poderia reverter esse quadro. Assim, é relevante elucidar os efeitos da Gln e Glu em dieta nutricionalmente deficiente, bem como, obter novas informações sobre as mudanças metabólicas que ocorrem a nível intestinal.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Glutamina e glutamato

Na natureza há mais de 300 aminoácidos (AAs), mas apenas 20 tipos são encontrados na constituição de proteínas corpóreas, os quais são classificados como essenciais (EAA) e não essenciais (NEAA), a depender do requerimento e capacidade de síntese dos animais. Estruturalmente compartilham características comuns (exceto glicina e prolina), são providos de um carbono central ligado aos grupamentos amínico, carboxílico, uma hidroxila e um radical, característico de cada AA (Dala-Paula, 2021). Tradicionalmente, a Gln e o Glu foram classificados como NEAA (Rose *et al.*, 1948; Curthoys e Watford, 1995). Entretanto, estes são necessários para manutenção das funções intestinais e maximização do desempenho animal, seja nas formas livres ou incorporados às proteínas (Fontana *et al.*, 2003; Tomé, 2018; Rath e Airolidi, 2021). Alterações no fluxo de Gln e Glu ocorrem em situações de estresse, trauma, septicemia, patologias, fome, exercício físico intenso e deficiência imunológica (Rowbottom *et al.*, 1996). Nessas conjunturas, pode-se admitir a condicionalidade de essenciais, em razão da capacidade de síntese endógena não ser compatível para manter o crescimento e o equilíbrio de nitrogênio corporal (Fontana *et al.*, 2003; Watford, 2015; Santos *et al.*, 2019).

O Glu ($C_5H_9NO_4$) está presente em grandes quantidades nos órgãos e tecidos do corpo vivo (Yamaguchi e Ninomiya, 2000), foi isolado pela primeira vez em 1866 pelo alemão Ritthausen, mediante hidrólise ácida de gliadina, um composto do glúten (Rath e Airolidi, 2021). Entretanto, a produção em larga escala só foi possível a partir de 1956. Atualmente, o Glu é produzido, principalmente, por fermentação de açúcares oriundos da cana-de-açúcar, beterraba, mandioca, milho e outras fontes de glicose. Todas as bactérias gram-positivas corineformes (*Corynebacterium*, *Corynebacterium glutamicum*) são responsáveis pela produção do L-Glu, que, também, pode ser sintetizado por microrganismos dos gêneros *Arthrobacter*, *Brevibacterium*, *Micobacterium*, etc. E em pequenas quantidades por fungos como *Aspergillus terreus rindieron* e *Ustilado maudis* (Maluly *et al.*, 2021).

O Glu pode ser sintetizado e metabolizado endogenamente mediante atuação das chamadas aminotransferases, enzimas que catalisam reações de transaminação e desaminação. A primeira reação ocorre quando há transferência do grupamento α -amino de uma molécula de AA ao α -cetaglutarato, liberando o α -cetoácido. O α -cetaglutarato ao ser aminado doa sua dupla ligação de oxigênio, se convertendo em Glu, produto final da maioria das transaminações.

Assim, o Glu atua como doador específico dos grupos aminos para diversas vias biossintéticas ou de excreção. O Glu pode participar de nova reação de transaminação, doando o grupamento amino recebido ao oxaloacetato, retornando ao estado de α -cetaglutarato e formando o aspartato, integrante do ciclo da ureia (Nelson e Cox, 2014).

A segunda reação é a desaminação oxidativa catalisada pela enzima glutamato desidrogenase e ocorre na mitocôndria hepática. O Glu ao reagir com uma molécula de água e de NAD(P), tem como produtos resultantes α -cetaglutarato, NAD(P)H, um íon de hidrogênio e amônio livre, sendo este último fonte do primeiro nitrogênio da ureia. As reações catalisadas pelas aminotransferases são livremente reversíveis. A catálise de conversão de Glu em Gln, que são intercambiáveis, é mediada pela glutamina-sintetase (Obled, 2003), e ocorre quando o Glu e ATP reagem para formação de γ -glutamil-fosfato, que se combina à amônia livre produzida nos tecidos, gerando Gln e fosfato inorgânico (Nelson e Cox, 2014).

O Glu é um AA com potencial terapêutico, na literatura são descritos efeitos anti-inflamatórios e benéficos ao desempenho, principalmente, nos primeiros 10 a 21 dias após o desmame (Kyoung *et al.*, 2021). Em leitões desmamados desafiados por lipopolissacarídeos (LPS) de *Escherichia coli*, a suplementação mostrou-se eficiente no aumento de enzimas digestivas, reparo intestinal e melhorias da capacidade absorptiva (Qin *et al.*, 2018).

Outras funções do Glu foram descritas como a participação na síntese de moléculas bioativas como a glutatona (GSH), do neurotransmissor γ -aminobutirato (GABA) e da ativação de receptores gustativos (Curi *et al.*, 2007; Burrin *et al.*, 2008). Sua carga negativa permite a estabilização de proteínas, mas o impede de atravessar facilmente as membranas celulares e transportadores de Glu são encontrados em baixa densidade na membrana plasmática, com exceção de células especializadas como as do sistema nervoso central, fígado, intestino e rim (Newsholme *et al.*, 2003).

A Gln ($C_5H_{10}N_2O_3$) é o AA mais abundante do plasma sanguíneo e organismo (Wu *et al.*, 1995). Por ser quantitativamente o mais expressivo tecido corporal e pela capacidade de síntese, o músculo esquelético é o principal reservatório deste AA, correspondendo a mais de 60% do *pool* de AAs nesse tecido (Curthoys e Watford, 1995; Fontana *et al.*, 2003). A presença de dois grupamentos nitrogenados em sua composição (α -amino e amida) torna a Gln como principal veículo transportador de nitrogênio da periferia para os órgãos viscerais. Desse modo, é indispensável em diversos processos metabólicos como a produção de amônia pelo rim, balanço acidobásico e síntese proteica (Wu *et al.*, 1995). No citoplasma celular, a amida é utilizada para síntese de purina, pirimidina e amino açúcares. Na mitocôndria, a cadeia

carbônica e o α -amino servem como substratos para síntese de prolina, ornitina e arginina (Reeds e Burrin, 2001). O Glu, de menor preço, não possui o grupamento amida, assim, substitui parcialmente a Gln (He *et al.*, 2016). No entanto, o Glu pode reduzir a atividade da glutaminase (GLS), poupando a Gln para uso através de múltiplas vias metabólicas (Curthoys e Watford, 1995).

Quando há balanço nitrogenado negativo no organismo animal, é desencadeada a degradação proteica, promovendo a liberação de AAs presentes no músculo esquelético e a síntese *de novo* (Millward *et al.*, 1989). Reações de transaminação de AAs permitem a formação de alanina (Ala) e Gln para suprimir as demandas corporais, uma vez que, estes AAs transitam pelo sistema circulatório sem alterar o pH sanguíneo e causar toxidez. As taxas de liberação de Ala e Gln para o meio extracelular são aumentadas na presença de glicocorticoides, à medida que fatores de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) e insulina estimulam o transporte para o meio intracelular (Cruzat e Rogero, 2017). A amônia gerada no catabolismo de AAs é incorporada na síntese de Gln, deste modo, esse mecanismo contribui para desintoxicação corporal, removendo o excesso de amônia da musculatura para locais de consumo (intestino) ou sua eliminação por meio da síntese de arginina e ureia no fígado (Rowbottom *et al.*, 1996; Watford, 2015). Em estado pós-absortivo, cerca de 50% da síntese de Gln ocorre a partir da captação do Glu sanguíneo (Cruzat e Rogero, 2017).

Embora muitos tecidos possam sintetizar Gln, apenas alguns são capazes de liberar quantidades significativas para a corrente sanguínea. Além do músculo, contribuições líquidas adicionais são verificadas em locais que apresentam atividade da enzima glutamina sintetase (GS) como cérebro, fígado, tecido adiposo, coração e pulmão. Por outro lado, os sítios de utilização são compreendidos pelos rins, fígado, trato gastrointestinal, neurônios e células do sistema imune (Newsholme e Parry-Billings, 1990; Cruzat *et al.*, 2007; Cruzat e Newsholme, 2017).

2.2 Glutamina e glutamato na regulação do consumo

O período do desmame impõe estresse momentâneo aos leitões, sendo considerado o mais crítico da criação de suínos. As mudanças de instalações e equipamentos como bebedouros, comedouros e tipo de piso, desperta um comportamento exploratório do ambiente (Campbel *et al.*, 2013). A mistura de leitegadas e alterações da taxa de lotação induz a uma vigorosa disputa para estabelecimento de hierarquias sociais durante as primeiras 24 e 48 h,

desencadeando quadros de anorexia, desidratação e aumento da mortalidade (Bruininx *et al.*, 2001; Xiong *et al.*, 2019). As alterações bruscas do regime alimentar podem gerar reação neofóbica, comportamento natural em resposta a não familiaridade com o novo alimento, além disso, os leitões passam por um processo de aprendizagem sobre a distinção entre fome e sede (Tedó, 2009). O jejum pós-desmame demonstrado por alguns leitões pode alcançar períodos superiores a 60 h (Bruininx *et al.*, 2002). De 3 a 5 dias pós-desmame pode haver balanço energético negativo, sendo a ingestão de energia metabolizável ao final da 1ª semana (entre 700 e 800 kJ EM/Kg^{0,75}) equivale a 60-70% da ingestão de leite materno pré-desmame, demandando até 2 semanas para alcançar níveis pré-desmame (Le Dividich e Sève, 2000). O consumo de ração está fortemente correlacionado ao risco de ocorrência de doenças no período pós-desmame, principalmente, quando é inferior a 1 kg na primeira semana (Madec *et al.*, 1998).

O Glu é um AA presente em alimentos como grãos (milho e soja), tubérculos, vegetais, carnes, produtos lácteos, mariscos e etc. (Ninomiya, 1998). Tem sido muito utilizado pela indústria alimentícia por ser um realçador de sabor. Essa propriedade foi descrita inicialmente pelo químico japonês Kikunae Ikeda em 1908, a partir do isolamento do ácido glutâmico de um caldo feito à base de alga marinha *Kombu* (Ikeda, 2002; Rath e Airolidi, 2021). O gosto distinto presente no caldo foi descrito como *umami*, característico de nucleotídeos, aminoácidos e dos sais de L-Glu, sendo considerado o quinto gosto básico do paladar humano (Yamaguchi e Ninomiya, 2000; Zhang *et al.*, 2017).

Substâncias *umami* provocam aumento da secreção salivar, essa estimulação pode se tornar superior a uma refeição com gosto azedo (Stanska e Krzeski, 2016), também são descritos como estimuladores de apetite (Masic e Yeomans, 2014; Stanska e Krzeski, 2016), melhoradores de sabor, palatabilidade e aceitação dos alimentos (Rath e Airolidi, 2021). Em um estudo, ratos demonstraram alta preferência (93-97%) por água de consumo contendo 1% de solução de glutamato monossódico (MSG), independente da ração ingerida, em relação ao controle. Além disso, foram detectados menores níveis plasmáticos de leptina, hormônio regulador do apetite, nos ratos que tiveram acesso ao MSG (Kondoh e Torii, 2008).

A percepção do gosto é desencadeada por meio de quimiorreceptores dispostos em células gustativas, que somadas às células de suporte formam os botões gustativos, inseridos nas papilas gustativas da língua (fungiformes, foliadas e circunvaladas) e, também, no palato mole e epiglote (Roura e Tedó, 2009). Os receptores de gosto são estimulados por substâncias contidas nas dietas e dissolvidas na saliva, desencadeando processos químicos e bioquímicos que resultam em impulsos elétricos conduzidos por neurônios até o cérebro (Nijima, 1990;

Bolini e Silva, 2021). Os animais são fortemente avessos a compostos de sabor amargo, mas são atraídos por estímulos doces e *umami* (Tinti *et al.*, 2000). Os suínos têm uma preferência positiva não apenas por MSG e L-Glu, mas também por outros AAs que não são percebidos como *umami* pelos humanos, como a Gln (Tedó *et al.*, 2010).

Substâncias *umami* e doces são detectadas pela família T1Rs, formada pelos receptores T1R1, T1R2 e T1R3, os quais se apresentam acoplados a uma proteína G (GPCRs) heterodimérica e manifestam-se principalmente em células gustativas (Stanska e Krzeski, 2016). Para que haja a percepção do gosto *umami* é necessária a formação do complexo T1R1-T1R3 (sensível a determinados AAs livres), e o T1R2-T1R3 (percepção dos sabores doces) (Zhang *et al.*, 2017). O receptor T1R1/T1R3 é ativado por Glu de forma muito mais eficaz do que por outros AAs (Zhao *et al.*, 2003). Entretanto, a Gln e o MSG em diferentes concentrações (0,5; 5 e 50 mM), se mostraram eficientes na estimulação dos receptores, sendo a resposta diminuída na concentração mais alta (50 mM), desse modo, podem ser referidos como saborizantes *umami* em suínos (Tedó, 2009).

Dentro da família de GPCRs são encontrados os receptores metabotrópicos de Glu (particularmente mGluR1 e mGluR4) (Yasuo *et al.*, 2008). A ativação luminal de mGluR1 (encontrado na membrana apical das células principais e possivelmente nas células parietais) pelo Glu da dieta pode mediar a secreção de pepsinogênio e a secreção de ácido clorídrico (San Gabriel *et al.*, 2007; San Gabriel e Uneyama, 2013). Teixeira *et al.* (2014), avaliando os efeitos da inclusão de 1,0% de Gln + Glu na ração de leitões na primeira semana pós-desmame, verificaram o aumento do CRMD. Entretanto, nenhum efeito foi observado com inclusão de 0,5%, e a regressão do consumo foi notada ao nível de 1,5%, em comparação aos animais alimentados com dieta contendo plasma.

A inclusão de compostos saborizantes e odorantes em dietas de suínos jovens pode aumentar a apetência alimentar, o tamanho e a frequência das refeições (Roura e Tedó, 2009). No trabalho de Almeida *et al.* (2021), a suplementação de 1% de Gln + Glu em dietas para leitões desmamados aos 24 dias, estimulou o CRMD no período de 24-55 dias de idade. Em contraste, Santos *et al.* (2019) verificaram redução do CRMD em leitões alimentados com 1% de Glu dos 0-15 dias pós-desmame, bem como, uma pior CA. Nos resultados de Abreu *et al.* (2010), a associação de 1% de Gln e plasma modulou benéficamente o CRMD dos 21-35 e 21-42 dias de vida dos leitões. Entretanto, a inclusão de Gln isoladamente não foi eficiente em melhorar os parâmetros de desempenho dos animais nas duas primeiras semanas após o desmame. De acordo com os autores, a baixa contaminação ambiental e/ou a inclusão do

antibiótico na ração podem justificar a ausência de efeito da Gln, uma vez que, a suplementação é recomendada quando se assume a condicionalidade de essencial.

Ao estimular o paladar suíno utilizando substância *umami*, Nijima (1990) verificou atividade eferente do nervo vago pancreático e aumento da secreção de insulina fase cefálica pelas células β nas ilhotas de Langherans no pâncreas. Foi sugerido que a fibra do nervo aferente gustativo primário ao responder a solução *umami* aplicada sobre a língua, provocou a ativação de neurônios na região dorsal núcleo motor do nervo vago ou núcleo ambíguo que inerva as células β -pancreáticas, induzindo a secreção de insulina. Além disso, nas células β -pancreática a Gln pode ser oxidada para geração de Glu e 2-oxoglutarato, sendo utilizados para síntese de glicose, promovendo aumento na relação ATP/ADP, despolarização de membranas, abertura dos canais de cálcio e aumento da concentração no citosol, havendo acentuada liberação da insulina (Brosnan e Brosnan, 2013; Ribeiro Júnior *et al.*, 2015).

2.3 Glutamina e glutamato e o peso corporal

No interior das células musculares, a Gln e Glu são importantes para o crescimento e manutenção celular, esses AAs são precursores de GSH e regulam a expressão das proteínas de choque térmico (HSP), que atuam na defesa celular contra o estresse oxidativo. As altas concentrações de Gln no interior das células da musculatura esquelética restringem o processo de difusão livre, assim, seu transporte é ativo, em um sistema dependente de sódio. Comitantemente a absorção de Gln ocorre a captação de sódio e água, a hidratação celular estimula a síntese proteica miofibrilar e a expressão de genes envolvidos em vias anabólicas (Manda *et al.*, 2010; Cruzat e Rogero, 2017).

Ao passo que o transporte de Gln é dependente da manutenção de um gradiente e de sódio (Na^+), então fatores que influenciam no transporte deste último, possivelmente teriam efeitos sobre o gradiente de Gln celular. A insulina é um hormônio que atua na regulação da $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$, responsável pelo transporte de glicose e AAs acoplados à Na^+ . Assim, a insulina estimula diretamente o transporte de Na^+ e resistência a essa é evidente em casos de endotoxemia e presença de corticosteroides. Ratos tratados com endotoxina e corticosteroides tiveram a Gln muscular reprimida, em virtude que tais fatores podem alterar o sistema de transporte, refletindo sobre o gradiente de concentração no músculo e nas taxas de síntese de proteínas (Millward *et al.*, 1989).

A concentração de Gln muscular é correlacionada diretamente com a taxa de síntese de proteína muscular e a razão RNA/proteína (Millward *et al.*, 1989). Ao desmame precoce, o sistema imunológico dos suínos não está completamente desenvolvido, estresses metabólicos induzem a degradação proteica e a depleção de Gln intracelular e liberação (Newsholme e Parry-Billings, 1990; Oliveira Júnior *et al.*, 2013; Cruzat e Rogero, 2017). Durante esse período são observados a ativação de processos inflamatórios, grandes danos teciduais, aumento transitório da permeabilidade da mucosa, equilíbrio eletrolítico absorptivo-secretor perturbado e alterações locais nos padrões de citocinas (Lallès *et al.*, 2007). Em Parra *et al.* (2013), leitões mostraram crescente aumento da expressão de mRNA de citocinas (IL-8, IL-18 e TNF- α) no intestino após o desmame, sendo essa resposta intensificada quando os animais foram desafiados com LPS de *E. Coli*.

De acordo com White *et al.* (1991), os níveis séricos de IGF-I foram reduzidos em 65-70% com o desmame ou jejum aos 21 dias de idade. Os hormônios GH e IGF-I controlam mais de 80% do crescimento pós-natal (Strle *et al.*, 2004). As citocinas pró-inflamatórias IL-1 β e TNF- α expressas no músculo desempenham papéis importantes na perda de massa muscular. A IL-1 β inibe a síntese proteica estimulada por IGF-I em mioblastos primários de suínos. A produção aumentada de IL-1 β induz nas células musculares um estado de resistência ao receptor de IGF-I, reduzindo em aproximadamente 50% a fosforilação da tirosina estimulada por IGF-I de duas das principais moléculas de ancoragem do receptor a jusante, o substrato do receptor de insulina (IRS)-1 e IRS-2 (Broussard *et al.*, 2003).

He *et al.* (2019), avaliando os efeitos do desmame sobre o intestino, verificaram aumento de 100 a 230% da expressão das citocinas inflamatórias (TNF- α , IL-1 β e IL-8) no terceiro dia ao desmame, entretanto, essas alterações na expressão foram marcadamente anuladas pela suplementação de Gln. O IGF-I e a insulina são hormônios anabólicos, que mediam seus efeitos biológicos através de receptores, proteínas tetraméricas providas de duas subunidades α extracelulares e duas subunidades β transmembranares. Quando esses hormônios ativam os receptores, ocorre uma mudança conformacional e autofosforilação, permitindo o recrutamento e fosforilação de substratos do receptor, como as proteínas IRS e Shc. Shc ativa a via Ras-MAPK e IRS ativam, principalmente, a via PI3K-Akt (Boucher *et al.*, 2014). A deposição de massa do músculo esquelético é controlada especialmente pela via IGF-1/PI3K/Akt (Lambertucci *et al.*, 2012).

Diante do exposto anteriormente, ao suplementar Gln e Glu dietéticos para a manutenção estrutural da mucosa intestinal nos eventos pós-desmame, possivelmente, em

resposta se busca menor secreção de glicocorticoides e a ativação imunológica, evitando a desregulação na produção de citocinas. Portanto, menores seriam as taxas de conversão de EAA ou NEAA para a síntese de Gln e a degradação de proteínas no tecido muscular, minimizando as perdas de peso (He *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2002). De acordo com Windmueller *et al.* (1982), a existência de Gln no intestino pode diminuir significativamente a captação a partir da circulação sanguínea. Os resultados de Hsu *et al.* (2012) mostraram que leitões alimentados com Gln (2%) apresentaram menores concentrações plasmáticas de hormônio adrenocorticotrófico e cortisol, do que o grupo controle, no dia 14 após desmame. Os estudos de Liu *et al.* (2002) indicaram que o desmame induziu a menores concentrações de RNA no tecido muscular esquelético e a recuperação ao nível pré-desmame não foi possível mesmo após 2 semanas. Entretanto, as concentrações de RNA muscular foram aumentadas pela suplementação de Glu (1%). A concentração de RNA serve como marcador de proteína tecidual e/ou da síntese enzimática, fatores essenciais para manutenção do crescimento.

O crescimento hipertrófico muscular é regulado por uma cascata de proteínas controladas ou controladoras de mTOR, uma proteína quinase serina/treonina determinante para iniciação da síntese proteica (Manda *et al.*, 2010). A mTOR é compreendida pelos complexos multiproteicos mTORC1: sensível a nutrientes envolvidos em funções anabólicas e com funções associadas a biossíntese de macromoléculas (proteínas, lipídios, nucleotídeos e ácidos nucleicos), que favorecem o crescimento de células e tecidos, e limita processos catabólicos (Laplante e Sabatini, 2009; Ben-Sahra *et al.*, 2013; Howell *et al.*, 2013; Ben-Sahra e Manning, 2017). E o mTORC2: relacionado a sobrevivência e proliferação de células (Hung *et al.*, 2012).

Informações sobre as funções da Gln e Glu na mTOR ainda são limitadas, é relatado na literatura que a Gln é um importante modulador da ativação do mTORC1, e que a estimulação deste reduz a autofagia celular (Laplante e Sabatini, 2009). Na musculatura esquelética, a síntese de proteínas é desencadeada a partir da tradução do mRNA, processo que envolve a ligação deste e do metionil-tRNA à subunidade ribossômica 40S. Entretanto, para se ligar a subunidade, o mRNA necessita do fator de iniciação eucariótico 4F (eIF4F), cuja a ativação é reprimida pela complexação do eIF4E à proteína ligadora do fator de iniciação eucariótico 4E (4E-BP1), fator inibitório da tradução de proteína (Manda *et al.*, 2010).

Quando o mTORC1 é ativado, ocorre a fosforilação da proteína 4EBP1 e a liberação do eIF4E, o qual se liga aos fatores de iniciação de tradução eucarióticos G (eIF4G) e 4A (eIF4A) formando o complexo eIF4F ativo (Kimball *et al.*, 2000; Sonenberg e Hinnebusch, 2009),

permitindo a ligação do mRNA a subunidade 40S e o processo de tradução de proteínas (Manda *et al.*, 2010). De acordo com Kimball *et al.* (2000), leitões submetidos a 18h de jejum tiveram 15% a mais de 4E-BP1 ligada ao eIF4E em extratos musculares, em relação aos animais alimentados. Além disso, a alimentação promoveu a associação de eIF4G com eIF4E, e na presença de rapamicina (inibidor de mTOR), a alimentação não estimulou essa associação e manteve alto níveis de ligação de 4E-BP1 ao eIF4E. Em outro estudo, ratos em estado alimentado tiveram melhorias na montagem do complexo ativo eIF4G-eIF4E e uma diminuição da montagem do complexo 4E-BP1-eIF4E inativo no músculo esquelético (Vary e Lynch, 2006).

A proteína ribossômica S6 (rpS6) também regula o processo de ligação do mRNA à subunidade 40S, a qual tem atividade controlada pela proteína p70S6k. O mTORC1 ativo permite que a enzima p70S6k realize a fosforilação da rpS6, aumentando a afinidade do mRNA a subunidade 40S. Em contrapartida, o processo de ligação do tRNA é regulado pelo fator de iniciação eucariótico 2B (eIF2B), um translocador de nucleotídeo que tem como função converter o eIF2-GDP em eIF2-GTP. Todavia, a proteína glucagon quinase sintetase 3 (GSK3) reprime a atividade do eIF2B (Manda *et al.*, 2010).

Quando a Akt é ativada por estimuladores do crescimento como insulina e IGF-1, promove a ativação do mTORC1, fosforilando, diminuindo a atividade e desestabilizando a proteína TSC2 (ou tuberina), interrompendo o complexo com a hamartina (TSC1) e induzindo a degradação mediada por ubiquitina da TSC2. O complexo TSC1/TSC2 bloqueia a fosforilação e ativação da p70S6K, 4E-BP1 e do mTOR, principais reguladores da tradução e crescimento celular (Inoki *et al.*, 2002), além de aumentar a associação de 4E-BP1 com eIF4E (Tee *et al.*, 2002). A TSC1 e TSC2 são expressas no músculo esquelético (Vary e Lynch, 2006). A Akt rica em prolina (PRAS40) exerce regulação negativa da ativação do mTORC1 ao se ligar ao seu domínio e bloquear os sinais da Akt. Entretanto, quando a Akt é fosforilada e ativada, essa fosforila a PRAS40 e remove a regulação negativa sobre o mTORC1, mecanismo semelhante ocorre com a GSK3 (Haar *et al.*, 2007; Hung *et al.*, 2012).

Estresses celulares e depleção de nutrientes restringem o crescimento e podem ativar o TSC1/TSC2 através da proteína quinase ativada por AMP (AMPK). A ativação da AMPK ocorre quando há redução dos níveis de ATP e maiores concentrações de AMP nas células (Hardie, 2007). Na musculatura, a AMPK regula o metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas. Em circunstâncias de baixas reservas energéticas, como mecanismo de garantir a sobrevivência celular e das funções vitais do organismo, a proteína AMPK estimula funções

catabólicas ao passo que inibe as anabólicas (Inoki *et al.*, 2003; Gwinn *et al.*, 2008). Ao suprimir processos que demandam ATP, a AMPK atua como regulador negativo do mTORC1 e inibidora da síntese de proteínas musculares (Manda *et al.*, 2010). Assim, a privação alimentar e os estresses gerados durante as primeiras semanas do desmame são prejudiciais ao ganho de massa muscular, entretanto a AMPK se torna inativa em condições de disponibilidade de nutrientes (Gwinn *et al.*, 2008).

O crescimento celular e a autofagia mediados pelo mTORC1 são regulados pela glutaminólise (Durán *et al.*, 2012). A Gln é suficiente para sustentar a produção de ATP na ausência de qualquer outro AA, Bodineau *et al.* (2021) determina pelo menos 2 mecanismos pelo qual a Gln promove ativação do mTORC1. O primeiro envolve a metabolização de Gln para produção de ATP inibindo a AMPK; e o segundo pela formação de Glu, seguido de α -cetogluturato. Leitões suplementados com α -cetogluturato mostraram maiores níveis de mRNA e níveis de proteína fosforilada p70S6K, mTOR e 4EBP1 no músculo esquelético, ao promover a capacidade do intestino delgado de absorver proteína, aumentando assim a deposição de proteína (Zhao *et al.*, 2019).

Ratos desafiados por LPS apresentaram aumento na expressão de mRNA de TNF- α e IL-6 em relação ao controle (8,9 vezes e 8,4 vezes, respectivamente) e reduções de IRS-1 e Akt1 fosforilada citosólica, acompanhado por aumentos significativos na atrofia muscular (Crossland *et al.*, 2008). TNF- α é provavelmente o responsável pela desregulação de Akt (Medina *et al.*, 2005), bem como, do IRS-1 (Hotamisligil *et al.*, 1996). Em Lambertucci *et al.* (2012), os níveis de transcrição de mRNA de Akt foram aumentados aproximadamente 2 vezes pela suplementação de Gln na musculatura esquelética de ratos, efeitos modulatórios sobre a fosforilação desta proteína também foram observados. Verificaram ainda um aumento de quase 2 vezes na proteína mTOR e a redução do teor de proteína 4E-BP1 total e de seu mRNA, em ratos diabéticos suplementados com Gln.

Os leitões perdem cerca de 100 a 250 g no primeiro dia após o desmame, com recuperação após o terceiro dia (Le Dividich e Sève, 2000). Segundo Kyoung *et al.* (2021), leitões desmamados aos 28 dias e alimentados com 0,5% de Glu dietético demonstraram melhorias no desempenho, aumentando o GPMD e o CRMD de 1-14 dias e dos 8-14 dias pós-desmame, mas não demonstrando efeitos em períodos superiores. Por meio do fortalecimento das funções da barreira intestinal, o Glu melhorou o aproveitamento de nutrientes promovendo a digestibilidade ileal aparente e digestibilidade aparente total de matéria seca e energia em comparação ao controle (Kyoung *et al.*, 2021). Teixeira *et al.* (2014), investigando a inclusão

de diferentes níveis de Gln associada ao Glu na ração de leitões desmamados aos 21 dias, constataram melhorias no desempenho. De 21-28 dias de idade, a alimentação com 1,0% de Gln + Glu proporcionou melhora do GPMD e CA, que os leitões da dieta controle positivo, por outro lado, menor peso foi observado para suplementação com 1,5%, não havendo efeitos com 0,5% de inclusão. Dos 21 aos 42 dias de idade, os animais alimentados com 0,5 e 1,0% de Gln + Glu tiveram melhor CA comparados aos da dieta controle positivo.

Melhorias no desempenho em resposta ao consumo de 1% de Gln + Glu foram constatados no estudo de Almeida *et al.* (2021), promovendo o GPMD e melhor CA no período inicial (24-42 dias de idade). Os estudos de Cabrera *et al.* (2013) demonstraram que leitões alimentados com 1% de Gln ou 0,88% de Gln + Glu melhoraram a CA nas primeiras semanas após o desmame. Nas pesquisas de Rodrigues *et al.* (2015), não houve efeito do tratamento 0,8% de Gln + Glu sobre o GPMD e a CA nos períodos pré-inicial I (24 aos 35 dias de idade) e pré-inicial I + II (24 aos 46 dias). Os autores atribuíram a ausência de diferenças entre os tratamentos à qualidade da dieta ofertada, a qual era composta por ingredientes de alta digestibilidade. Além disso, os animais passaram por um período de adaptação, recebendo dieta única, ofertada dos 10 aos 23 dias de idade.

He *et al.* (2016) avaliaram os efeitos de dietas contendo diferentes concentrações de Gln e/ou Glu em leitões desmamados. Os suínos alimentados com a dieta Gln a 1% apresentaram GPMD e CA maiores do que aqueles alimentados com dieta controle durante os dias 0-14 e no período geral (0-28 dias). Entretanto, os tratamentos contendo 0,1% Gln + 0,9% Glu; 0,2% Gln + 0,8% Glu; e 1% Glu mostraram-se semelhantes ao controle para GPMD e CA. Durante 15-28 dias nenhum efeito foi observado dos diferentes tratamentos para estes parâmetros. Os efeitos da Gln na promoção do crescimento é um indicativo de que esta atende às necessidades fisiológicas da mucosa intestinal. No trabalho Abreu *et al.* (2010), as melhores respostas GPMD e CA foram observadas nos animais alimentados com 1% de Gln, que os do controle, dos 21 aos 42 dias de idade.

2.4 Parâmetros séricos

A composição bioquímica do soro sanguíneo pode ser utilizada como método de investigação do metabolismo de tecidos animais. O excesso ou deficiência de nutrientes da dieta refletem sobre as concentrações plasmáticas de variáveis como a ureia e creatinina, considerados bons indicadores de análise da degradação de proteínas corporais, adaptação aos

desafios nutricionais, desequilíbrios metabólicos e funcionamento de órgãos (González e Scheffer, 2003).

Conforme descrito anteriormente, os estresses gerados no desmame reduzem o consumo de alimento e as funções digestivas, limitando o aporte nutricional e a síntese proteica, as reações catabólicas provocam perdas de nitrogênio, redução de proteínas e aumento nas concentrações de ureia no soro sanguíneo (Zou *et al.*, 2006). Os níveis de ureia são influenciados ainda pelo conteúdo de proteína e lisina da dieta. Desse modo, pode ser usado como critério para julgar o metabolismo das proteínas em animais e/ou o equilíbrio de AAs (Zhao *et al.*, 2019).

Os estudos de Zou *et al.* (2006), indicaram uma tendência de diminuição de 17,36%, nos primeiros dez dias após o desmame, do nitrogênio ureico sérico de suínos suplementados com Gln (1%) em comparação ao controle. Já aos 20 dias após o desmame, a tendência de redução foi de 4,27% e as concentrações de proteína total aumentaram 18,70% em suínos suplementados com Gln. Ao utilizar níveis de inclusão mais elevados de Gln (2%), Hsu *et al.* (2012) verificaram o favorecimento do crescimento dos animais, entretanto, os níveis de ureia sérica foram elevados, o que pode agravar os riscos de desequilíbrio metabólico aminoacídico.

No músculo esquelético, a creatina atua como reservatório energético para a contração muscular, 95% de seu conteúdo está presente nesse tecido, sua capacidade de formação da fosfocreatina é o mecanismo pelo qual ocorre a rápida disponibilização de ATP para as funções metabólicas. A creatina pode ser adquirida via dieta ou sintetizada por reação de transaminação, em que a arginina doa seu grupo amínico para a glicina, havendo formação de ornitina e guanidinoacetato no rim, este é transportado pelo sangue e metilado no fígado, dando origem a creatina (Wyss e Kaddurah-Daouk, 2000). Maiores estoques de creatina estariam associados ao aumento do peso corporal, uma vez que, essa tem alto poder osmótico permitindo a retenção de água e estimulando a síntese proteica nos músculos (Souza *et al.*, 2013).

A fosfocreatina ao ser catabolizada, em uma reação irreversível, é convertida em creatinina, que é excretada via renal e não pode ser reaproveitada pelo organismo. Os níveis de creatinina é um medidor de massa muscular e são afetados pelo peso corporal, metabolismo muscular, exercício, status nutricional e estado de hidratação (Kirsztajn, 2007). Altos níveis de creatinina estão associados a desidratação, dano muscular, fluxo renal reduzido, doenças renais, e etc.; os níveis abaixo da normalidade refletem sobreidratação, miopatia e insuficiência hepática (González e Scheffer, 2003).

Quando os linfócitos B se tornam ativos, proliferam e diferenciam-se em células secretoras de anticorpos (Abbas *et al.*, 2011). Esses, denominados de imunoglobulinas, compõem o sistema de defesa do organismo animal e visam impedir o estabelecimento de uma infecção. São agrupadas em cinco classes e variam quanto as suas estruturas e funções biológicas, e são descritas como: imunoglobulina G (IgG), IgM, IgA, IgE e IgD, A glicoproteína IgG é a molécula de anticorpo com maior abundância no soro sanguíneo e tecidos (exceto mucosas) (Delves *et al.*, 2013). Sua produção é aumentada em resposta a vírus e bactérias, visando bloquear a entrada desses microrganismos nas células do hospedeiro (Abbas *et al.*, 2011). Na presença de bactérias, a IgG se liga a essas formando o complexo patógeno-anticorpo, permitindo o reconhecimento e ativação de leucócitos como macrófagos, que fagocitam e destroem o microrganismo invasor (Nelson e Cox, 2014). Os macrófagos são células que utilizam apenas AAs ricos em nitrogênio como a Gln e arginina (Newsholme *et al.*, 1999).

Alterações na homeostase da microbiota, aumenta a susceptibilidade ao desenvolvimento de doenças intestinais e ativação de processos inflamatórios, elevando a produção de IgG sistêmica (Fagundes, 2021). Entretanto, fatores estressores relacionados ao desmame podem reduzir o aporte nutricional do animal e elevar a captação de Gln por diversos órgãos, limitando o fornecimento deste AA às células do sistema imune. Animais imunodeficientes estão mais propensos ao desenvolvimento de colite ulcerativa e a translocação de bactérias para a circulação sanguínea (Fagundes, 2021). Em suínos a colite é responsável por quadros de diarreia aquosa, desidratação, perda de escore corporal e mau crescimento.

A exposição da mucosa intestinal à alérgenos dietéticos pode causar hipersensibilidade do tecido linfático, a ocorrência de edemas de mucosa em leitões jovens e quadros infecciosos (Zou *et al.*, 2006). Leitões desmamados aos 21 dias de idade apresentaram taxas de diarreia de 50% a 60% durante 8 a 11 dias após o desmame, e dos 12 aos 15 dias ainda havia taxas de 20 a 30%. Todavia, a suplementação com Gln permitiu a redução da taxa e duração de diarreia pós-desmame. No trabalho de He *et al.* (2016), os níveis IgG e IgM no soro foram aumentados com a inclusão de 1% de Gln em dietas para leitões desmamados, por outro lado, nenhum efeito foi observado mediante suplementação com 1% de Glu, comparado ao controle. De forma semelhante, Hsu *et al.*, (2012) verificaram aumento dos níveis de IgG mediante suplementação com Gln.

2.5 Morfologia intestinal

O intestino delgado é maior porção do aparelho digestivo, na região da mucosa são encontradas invaginações tubulares denominadas de criptas de Lieberkuhn (responsáveis pela proliferação celular) e projeções digitiformes (vilosidades), formando uma estrutura tridimensional que amplia a área de absorção de nutrientes, íons e água. A heterogeneidade celular aumenta a complexidade da superfície intestinal, a qual é composta por uma mucosa revestida por um epitélio simples cilíndrico, dotado de células diferenciadas: absortivas ou enterócitos, células caliciformes (CC), de Paneth e enteroendócrinas (Edelblum *et al.*, 2006; Gunther *et al.*, 2013).

Na lâmina própria intestinal, constituída de tecido conectivo subepitelial, podem ser observadas as placas de Peyer (PP), estruturas características das porções distais do íleo. A monocamada de células epiteliais que reveste as vilosidades é o limiar do conteúdo luminal do intestino e tecidos internos, e, também, o local inicial de interação entre patógenos e hospedeiro. Durante o ciclo de vida das células epiteliais, essas migram de seu local de origem (na base da cripta) até a ponta das vilosidades, sendo a manutenção de sua integridade estabelecida pelo equilíbrio entre as taxas de proliferação e apoptose. Fatores estressores da mucosa, como jejum e a hipersensibilidade a alérgenos dietéticos, resultam no aumento das perdas de enterócitos maduros, das taxas de migração dessas células, e o alongamento das criptas, afetando negativamente a atividade enzimática e absortiva (Brown *et al.*, 1988; Li *et al.*, 1990; Edelblum *et al.*, 2006; Gunther *et al.*, 2013).

Os enterócitos compõem a primeira linha de defesa inata, fornecem barreira física aos microrganismos, a presença de microvilosidades permite a absorção e transporte eficiente de nutrientes (Campbel *et al.*, 2013). Entre esses podem ser observadas as CC secretoras de mucina, uma glicoproteína conjugada componente do muco. Essas células apresentam um padrão de migração tanto em direção às vilosidades, quanto para as regiões mais profundas das criptas (Brown *et al.*, 1988). O muco realiza o revestimento do trato gastrintestinal, conferindo efeito lubrificante e protetor contra danos físicos (provocado pela digesta) e químicos, impedindo a autodigestão estomacal (devido ação de enzimas proteolíticas). O pH alcalino do muco preserva o epitélio da alta acidez do suco gástrico. A quantidade de mucina produzida influencia nas comunidades bacterianas, a qual age como falsos receptores se ligando a bactérias patogênicas e dificultando a colonização do trato digestório (Maiorka, 2004; Gunther *et al.*, 2013).

Apesar da alta eficiência da imunidade inata ao combate de microrganismos nocivos, esses desenvolveram mecanismos de resistência ao longo do tempo. Quando ultrapassam barreiras epiteliais, são reconhecidos por receptores de antígenos presentes em órgãos linfoides, iniciando a resposta imunológica adquirida. Falhas nesses sistemas resultam em maior susceptibilidade a doenças (Goldberg e Rizzo, 2015). Os linfócitos são as únicas células que apresentam receptores de antígenos, são diferenciadas pelas proteínas de superfície que recebe a designação CD (*cluster of differentiation* - grupo de diferenciação). A linha de defesa contra microrganismos intracelulares é mediada pelos linfócitos T, que reconhecem fragmentos peptídicos de proteínas antigênicas ligados a moléculas do complexo de histocompatibilidade maior (MHC), presentes nas células apresentadoras de antígeno (APCs). Os linfócitos T são compreendidos por células T CD4⁺ (Células T auxiliares) e células T CD8⁺ (Linfócitos T citolíticos ou citotóxicos). As primeiras auxiliam os linfócitos B na produção de anticorpos e células fagocitárias na eliminação do patógenos. Já as CD8⁺ destroem as células infectadas por micróbios. Por outro lado, os linfócitos B reconhecem antígenos microbianos no meio extracelular, e são as únicas células que produzem anticorpos (plasmócitos) que reconhecem antígenos e iniciam a ativação celular (Abbas e Lichtman, 2007).

O extenso sistema imunológico ao longo do TGI é representado por agregados de tecido linfoide adjacente ao epitélio, formando nódulos e as PP, bem como, uma população difusa de células epiteliais M (Silverthorn, 2017). As PP são folículos elípticos que contêm células T CD4⁺, produtoras de citocinas, e CD8⁺ (Manhart *et al.*, 2001). Tais folículos capturam antígenos e em resposta produzem imunoglobulinas (Ramaldes *et al.*, 2002). As células M se dispõem sobre as PP, fornecem informação do lúmen intestinal para as PP e, por serem compostas por poucas microvilosidades, realizam absorção de proteínas intactas (Silverthorn, 2017; Aires, 2018).

O tecido linfoide associado à mucosa é sensível a alterações no suprimento de substratos nutricionais, a Gln é precursora de nucleotídeos e fornece energia para células T e células assassinas, a disponibilidade limitada de Gln livre tem sido implicada como causa de disfunção imune (Juretic *et al.*, 1994; Manhart *et al.*, 2001). As PP são sensíveis a diferentes alterações fisiopatológicas e nutritivas, e são indicativas da situação imunológica do intestino. Camundongos alimentados com dieta com restrição de proteína apresentaram atrofia dos linfócitos nas PP e alterações na proporção de sinais coestimulatórios em células T e B, reduzindo a expressão de imunoglobulinas. A restrição proteica de 4 dias causou uma perda de

33% do rendimento total de células em PP. Assim, a desnutrição prejudica a capacidade proliferativa de linfócitos nas PP (Manhart *et al.*, 2000).

2.6 Efeitos do desmame sobre a morfologia intestinal

Já está bem documentado que o intestino neonatal é particularmente sensível ao estresse do desmame precoce, o qual desencadeia uma cascata de efeitos adversos sobre a mucosa, que se sustentam por quase 2 semanas. A desnutrição associada ao ambiente de alto desafio sanitário comumente encontrado em granjas suínícolas e o sistema imunológico da mucosa imaturo durante essa fase, induz a desregulação da renovação celular. Bem como, a superprodução de citocinas por linfócitos intraepiteliais ativados, interrompendo a formação de junções apertadas e resultando em processos inflamatórios. Tais fatores impulsionam a apoptose de enterócitos, disfunções transitórias da barreira intestinal e a suscetibilidade à infecção (Pluske *et al.*, 1997; Edelblum *et al.*, 2006; Lallès *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2015; He *et al.*, 2019).

Ablações em células da cripta podem culminar em atrofia de vilosidades, comprometendo as funções absorptiva e secretora, causando a sobrecarga de nutrientes não digeridos e processos inflamatórios (Campbel *et al.*, 2013). O consumo elevado de Gln pela mucosa, reduz a concentração plasmática deste AA, limitando o aporte energético ao intestino (Zhou *et al.*, 2006). Este pode perder até 18% do seu peso relativo e apresentar um decréscimo de 40% da altura de vilosidades, durante os dois primeiros dias do desmame, e aumento de 64% das profundidades de criptas até o décimo quinto dia pós-desmame (Montagne *et al.*, 2007).

Em suínos recém-desmamados, o jejum prolongado pode resultar numa diminuição da produção de muco e densidade de células caliciformes, viabilizando a colonização por patógenos, comprometendo a saúde intestinal (Núñez *et al.*, 1996; Maiorka, 2004) e reduzir os níveis de gastrina e colecistoquinina no plasma (Montagne *et al.*, 2007). Toxinas bacterianas, como enterotoxina da *Escherichia coli*, induzem a secreção colônica de Cl⁻ e de fluido que, em associação ao aumento da motilidade, provocam quadros diarreicos e desidratação (Silverthorn, 2017). Maiores prevalências de diarreia foram associadas aos menores ganhos diários e 82% das perdas de leitões por causa específica. Problemas digestíveis podem representar até 58% das taxas de mortalidade nas semanas seguintes ao desmame. O desmame precoce é aconselhável na condição de que fatores de risco sejam ausentes ou minimizados (Madec *et al.*, 1998).

2.7 Glutamina e glutamato e a integridade intestinal

Após uma refeição, o conteúdo luminal constitui uma fonte adicional de substratos metabólicos para a mucosa do intestino delgado e corrente sanguínea (Watford, 2015). Diante disso, o Glu que é catabolizado no citosol e mitocôndrias de células intestinais, pode ser captado do lúmen através da membrana apical de enterócitos ou produzido a partir da Gln (Tomé, 2018). A Gln dietética é capturada para o meio intracelular por transporte dependente (mais expressivo) e independente de sódio, a taxa de absorção é correlacionada positivamente com a concentração no lúmen. Estima-se que cerca de 67-70% e 95% da Gln e Glu absorvidos, respectivamente, são metabolizados pelos enterócitos e o remanescente transportados pela membrana basal para a circulação portal (Windmueller e Spaeth, 1980). Além disso, cerca de 20-25% da Gln arterial pode ser absorvida pelo intestino de leitões desmamados (Reeds e Burrin, 2001).

Nos enterócitos, mediante atuação da enzima glutaminase fosfato-dependente, de atividade elevada na mitocôndria, a Gln é oxidada em Glu e amônio livre. O Glu ao sofrer transaminação, doa seu grupamento amínico a uma molécula de piruvato presente no meio, havendo a formação de Ala e 2-Oxoglutarato, reação catalisada pela alanina aminotransferase (ALT). A Ala pode ser absorvida pela circulação portal e direcionada ao fígado, contribuindo para síntese de glicose hepática e aumento das reservas energéticas musculares (Ribeiro Júnior *et al.*, 2015). Finch e Hird (1960) observaram que 47% da Gln adicionada em segmentos intestinais foi recuperada como Ala. O 2-oxoglutarato é destinado a oxidação via ciclo de Krebs para formação de piruvato, NADH e FADH₂. Estes últimos, são incorporados à cadeia transportadora de elétrons, contribuindo para a formação de ATPs (Ribeiro Júnior *et al.*, 2015). Ademais, o metabolismo da Gln pode contribuir para síntese de arginina, aspartato, CO₂, citrulina, ornitina e prolina (Wu *et al.*, 1995).

O transporte de Gln através das membranas celulares é rápido, fornecendo 2 vezes mais ATPs do que a glicose (Wu, 1995). Estudos demonstraram que a inclusão de Glu e Gln em dietas para leitões permitiu a modulação de vias proteicas, estimulação da proliferação de células da mucosa, da expressão de proteínas de junções apertadas e prevenção da atrofia intestinal (Lin *et al.*, 2014; He *et al.*, 2019). Reduzindo a permeabilidade intestinal à alérgenos dietéticos, toxinas e a translocação de microrganismos potencialmente patogênicos ao sistema circulatório (Duan *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2015). A administração de Gln e/ou Glu reduziu a atividade da GS, indicando que estes podem reduzir a síntese endógena de Gln no intestino

delgado e, assim, melhorar a síntese de proteínas e a eficiência de utilização de EAA e NEAA (He *et al.*, 2016).

Zhu *et al.* (2015) demonstraram que a privação de Gln inativa a mTOR e as vias de sinalização de proteína quinase ativada por mitógenos (MAPK), levando a autofagia em células epiteliais do intestino (IPEC-1). Contudo, a inclusão de 5 mM de Gln em meio de cultura de IPEC-1, além de suprimir a autofagia, aumentou o conteúdo de proteína, a fosforilação de Akt e a proliferação celular. De acordo com Qin *et al.* (2018), a suplementação com Glu melhorou a razão AV:PC do jejuno, as atividades ileais da lactase, maltase e sacarase, a razão RNA/DNA e abundância proteica de Claudina 1 (CLDN1) no jejuno e íleo. Além disso, os leitões alimentados com dietas com Glu apresentaram maior mTOR fosforilado (Ser 2448) em relação ao mTOR total no jejuno e íleo. Em contraste, He *et al.* (2016) relataram que a morfologia da mucosa do intestino delgado de leitões (AV, AV:PC e PC) não foi influenciada por dietas contendo Gln e/ou Glu.

Em trabalho recente, suínos desmamados e alimentados com 0,5% de Glu apresentaram maior AV no duodeno, AV:PC e número de CC no duodeno, jejuno e íleo. Maior abundância de genes da família CLDN 1, 2 e 3, ocludina (OCLN) e mucina 1 (MUC1) foi observada com a suplementação de 0,5% de Glu (Kyoung *et al.*, 2021). No estudo de Wang *et al.* (2015), 1% de Gln dietética permitiu maior expressão de proteínas de junções celulares da família CLDN1, 2 e 3, OCLN e zônula occludens (ZO2 e ZO3), reduzindo a permeabilidade do jejuno e os níveis de hormônio liberador de corticotrofina. Tais abordagens fornecem evidências sobre efeitos benéficos da suplementação dietética de Gln e Glu sobre a integridade e funcionalidade do intestino delgado em condições de estresse.

Teixeira *et al.* (2014) relataram que leitões alimentados com 1% de Gln + Glu apresentaram menor escore de diarreia, quando comparado ao controle positivo. Além disso, níveis de 0,5% e 1,0% de Gln + Glu aumentaram a relação AV:PC e reduziram a PC no duodeno na semana seguinte ao desmame. Neste mesmo período, 1% de Gln + Glu aumentou a AV:PC do jejuno, não havendo efeitos sobre o íleo. Aos 42 dias, leitões alimentados com dietas contendo 0,5 e 1,0% de Gln + Glu apresentaram maior peso absoluto do intestino delgado. Em contraste, Rodrigues *et al.* (2015) verificaram que dietas com 0,8% de Gln + Glu não se mostram eficientes na redução da frequência de diarreia de leitões desmamados. Com relação a morfologia intestinal, nenhum efeito foi observado sobre a AV do intestino delgado, entretanto maiores PC foram observadas em leitões alimentados com Gln + Glu.

Xiong *et al.* (2020) avaliaram os efeitos da suplementação dietética, em leitões desmamados aos 21 dias, com diferentes fontes de energia na expressão proteica da via de sinalização do complexo do mTORC1. Verificaram no dia 14 pós-desmame, que suínos alimentados com Gln tiveram maior expressão de mTOR e p-mTOR nas vilosidades jejunais do que com óleo de soja. Aos 28 dias, a Gln reduziu a AMPK das vilosidades, mas não influenciou na expressão de mTOR, 4EBP1 e S6K, e suas formas fosforiladas, em comparação com óleo de soja. Nas criptas jejunais, aos 14 e 28 dias a Gln aumentou a expressão de 4EBP1.

Segundo He *et al.* (2016), no duodeno, jejuno e íleo, a suplementação dos suínos com 1% de Gln diminuiu os níveis de expressão relativa do receptor ativado por proliferador de peroxissoma γ (PPAR γ) e aumentou a abundância de mTOR, em comparação ao controle. De acordo com os autores, a suplementação de 1% de Gln em dietas de leitões desmamados pode modificar a saúde intestinal e melhorar a digestibilidade de nutrientes de modo a beneficiar o desempenho de crescimento.

Em Abreu *et al.* (2010), a contagem de linfócitos, assim como, as variáveis de morfologia intestinal (AV, AV:PC e PC) do duodeno, jejuno e íleo, não foram afetadas pela suplementação com 1% Gln. Segundo os autores, a idade dos animais no momento de coleta dos segmentos intestinais (42 dias de vida) pode influenciar na resposta da suplementação sobre a morfologia intestinal. Leitões mais velhos demonstram sistemas digestivo e imunológico mais desenvolvidos, tornando os animais menos sensíveis ao estresse do desmame. Os resultados de Liu *et al.* (2002) demonstraram que, em comparação com leitões controle, a atrofia jejunal durante a primeira semana pós-desmame foi prevenida pela suplementação de Gln e Glu (1%) e a capacidade absorptiva do intestino delgado foi melhorada. Aos 14 dias pós-desmame a dieta com Glu se mostrou mais eficiente no aumento da AV duodenais que com Gln.

As pesquisas de Manhart *et al.* (2001) evidenciaram que a administração oral de Gln melhora o sistema imunológico do intestino por meio do aumento do número de linfócitos, e prevenindo a atrofia destes em PP após desafio com endotoxina. Camundongos desafiados com LPS tiveram diminuição de 30% nas células B e 45% do total de células T. Porém, a suplementação com Gln aumentou 41% de células B em camundongos saudáveis e 82% em camundongos com LPS. Semelhantemente, o número de células T também foi aumentado com inclusão de Gln em comparação com camundongos saudáveis alimentados com dieta controle, bem como àqueles impulsionados com LPS. As células CD4⁺ e CD8⁺ foram reduzidas após a administração de LPS no grupo controle, mas permaneceram inalterados nos animais alimentados com Gln. LPS causou uma depleção de 42% da GSH em PP, que foi prevenida

pela administração de Gln. Os autores associaram os efeitos da Gln sobre a manutenção dos linfócitos PP ao ser estimulatória da síntese de GSH.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H. **Imunologia básica: funções e distúrbios do sistema imunológico**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. p. 1-20.
- ABBAS, A. K. *et al.* **Imunologia celular e molecular**. 7ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.
- ABREU, M. L. T. D. *et al.* Glutamina, nucleotídeos e plasma suíno em rações para leitões desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 3, p. 520–525, 2010.
- AIRES, M. D. M. **Fisiologia**. 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018.
- ALMEIDA, J. M. D. S. *et al.* Effects of dietary L-glutamine and glutamic acid combination, and whey powder on the performance and nutrient digestion in weaned piglets fed grain-based diets. **Animal Bioscience**, v. 34, n. 12, p. 1963-1973, 2021.
- BAI, M. *et al.* Imbalanced dietary methionine-to-sulfur amino acid ratio can affect amino acid profiles, antioxidant capacity, and intestinal morphology of piglets. **Animal Nutrition**, v. 6, n. 4, p. 447-456, 2020.
- BEN-SAHRA, I. *et al.* Stimulation of de novo pyrimidine synthesis by growth signaling through mTOR and S6K1. **Science**, v. 339, n. 6125, p. 1323-1328, 2013.
- BEN-SAHRA, I.; MANNING, B. D. mTORC1 signaling and the metabolic control of cell growth. **Current Opinion in Cell Biology**, v. 45, p. 72-82, 2017.
- BLAVI, L. *et al.* Management and feeding strategies in early life to increase piglet performance and welfare around weaning: A review. **Animals**, v. 11, n. 2, p. 302, 2021.
- BODINEAU, C. *et al.* Two parallel pathways connect glutamine metabolism and mTORC1 activity to regulate glutamoptosis. **Nature Communications**, v. 12, n. 1, p. 1–13, 2021.
- BOLINI, H. M. A.; SILVA, M. A. P. D. Gosto, sabor e percepções sensoriais. REYES, F. G. R. (org.). In: **Umami e Glutamato: aspectos químicos, biológicos e tecnológicos**. São Paulo: Blucher, 2021. p. 309-320.
- BOUCHER, J. *et al.* Insulin Receptor Signaling in Normal and Insulin-Resistant States. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 6, n. 1, p. a009191, 2014.
- BROSNAN, J. T.; BROSNAN, M. E. Glutamate: a truly functional amino acid. **Amino Acids**, v. 45, n. 3, p. 413-418, 2013.
- BROUSSARD, S. R. *et al.* Cytokine-hormone interactions: tumor necrosis factor α impairs biologic activity and downstream activation signals of the insulin-like growth factor I receptor in myoblasts. **Endocrinology**, v. 144, n. 7, p. 2988-2996, 2003.
- BROWN, P. J. *et al.* Histochemistry of mucins of pig intestinal secretory epithelial cells before and after weaning. **J. Comp. Pathol.**, v. 98, p. 313–323, 1988.

- BRUININX, E. M. A. M. *et al.* Effect of creep feed consumption on individual feed intake characteristics and performance of group-housed weanling pigs. **Journal of Animal Science**, v. 80, n. 6, p. 1413-1418, 2002.
- BRUININX, E. M. A. M. *et al.* Individual feed intake of group housed weaned pigs and health status?. In: **The Weaner Pig, Nutrition and Management/CABI Publishing**. Wallingford UK: CABI Publishing, 2001. p. 113-122.
- BURRIN, D. G. *et al.* Emerging aspects of dietary glutamate metabolism in the developing gut. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v. 17, p. 368-371, 2008.
- CABRERA, R. A. *et al.* Effects of creep feeding and supplemental glutamine or glutamine plus glutamate (Aminogut) on pre- and post-weaning growth performance and intestinal health of piglets. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 4, n. 1, p. 1-13, 2013.
- CAMPBELL, J. M. *et al.* The biological stress of early weaned piglets. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 4, n. 1, p. 1-4, 2013.
- CONDE-AGUILERA, J. A. *et al.* Skeletal muscles respond differently when piglets are offered a diet 30% deficient in total sulfur amino acid for 10 days. **European Journal of Nutrition**, v. 55, n. 1, p. 117-126, 2016.
- CROSSLAND, H. *et al.* A potential role for Akt/FOXO signalling in both protein loss and the impairment of muscle carbohydrate oxidation during sepsis in rodent skeletal muscle. **The Journal of Physiology**, v. 586, n. 22, p. 5589-5600, 2008.
- CRUZAT, V. F. *et al.* Aspectos atuais sobre estresse oxidativo, exercícios físicos e suplementação. **Rev. Bras. Med. Esporte**, v. 13, n. 5, p. 336-342, 2007.
- CRUZAT, V. F. *et al.* Glutamine: Biochemical, Metabolic, Molecular Aspects and Supplementation. **Rev. Bras. Med. Esporte**, v. 15, n. 5, p. 392-397, 2009.
- CRUZAT, V. *et al.* Glutamine: metabolism and immune function, supplementation and clinical translation. **Nutrients**, v. 10, n. 11, p. 1564, 2018.
- CRUZAT, V. F.; ROGERO, M. M. Glutamina. In: COMINETTI, C.; ROGERO, M. M.; HORST, M. A. (org.). **Genômica Nutricional: dos fundamentos à nutrição molecular**. Barueri, SP: Manole, 2017. p. 90-105.
- CRUZAT, V. F.; NEWSHOLME, P. An Introduction to Glutamine Metabolism. In: MEYNIAL-DENIS, D. (org.). **Glutamine: Biochemistry, Physiology, and Clinical Applications**. 1^a ed. New York: CRC Pressa, 2017. p. 3-17.
- CURI, R. *et al.* Glutamine, gene expression, and cell function. **Frontiers in Bioscience**, v. 12, n. 1, p. 344-357, 2007.
- CURTHOYS, N. P.; WATFORD, M. Regulation of glutaminase activity and glutamine metabolism. **Annual Review of Nutrition**, v. 15, n. 1, p. 133-159, 1995.

- DALA-PAULA, B. M. **Química e bioquímica de alimentos**. 1ª ed. Alfenas: Editora Universidade Federal de Alfenas, 2021. p. 110.
- DELVES, P. J. *et al.* **Fundamentos de imunologia**. 12ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. p. 55-62.
- DOMENEGHINI, C. *et al.* Structural patterns of swine ileal mucosa following L-glutamine and nucleotide administration during the weaning period. An histochemical and histometrical study. **Histology and histopathology**, v. 19, p. 49-58, 2004.
- DUAN, J. *et al.* Dietary glutamate supplementation ameliorates mycotoxin-induced abnormalities in the intestinal structure and expression of amino acid transporters in young pigs. **PLoS One**, v. 9, n. 11, p. e112357, 2014.
- DURÁN, R. V. *et al.* Glutaminolysis Activates Rag-mTORC1 Signaling. **Molecular Cell**, v. 47, n. 3, p. 349-358, 2012.
- EDELBLUM, K. L. *et al.* Regulation of apoptosis during homeostasis and disease in the intestinal epithelium. **Inflammatory Bowel Diseases**, v. 12, n. 5, p. 413-424, 2006.
- FAGUNDES, M. **Papel das imunoglobulinas g no controle e resolução da disbiose intestinal em modelo experimental de colite ulcerativa**. 95 f. 2021. Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Belo Horizonte, 2021.
- FINCH, L. R.; HIRD, F. J. R. The uptake of amino acids by isolated segments of rat intestine I. A survey of factors affecting the measurement of uptake. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 43, p. 268-277, 1960.
- FONTANA, K.E. *et al.* Glutamina como suplemento ergogênico. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, v.11, n.3, p.91-96, 2003.
- GOLDBERG, A. C.; RIZZO, L. V. Estrutura do MHC e função–apresentação de antígenos. Parte 1. **Einstein**, v. 13, n. 1, p. 153-156, 2015.
- GONZÁLEZ, F. H. D.; SCHEFFER, J. F. S. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. In: GONZÁLEZ, F. H. D., CAMPOS, R. (eds.): **Anais do I Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil**. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2003. p.73-89.
- GUNTHER, C. *et al.* Apoptosis, necrosis and necroptosis: cell death regulation in the intestinal epithelium. **Gut**, v. 62, n. 7, p. 1062-1071, 2013.
- GWINN, D. M. *et al.* AMPK phosphorylation of raptor mediates a metabolic checkpoint. **Molecular Cell**, v. 30, n. 2, p. 214-226, 2008.
- HAAR, E. V. *et al.* Insulin signalling to mTOR mediated by the Akt/PKB substrate PRAS40. **Nature Cell Biology**, v. 9, n. 3, p. 316-323, 2007.

- HARDIE, D. G. AMP-activated/SNF1 protein kinases: conserved guardians of cellular energy. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 8, n. 10, p. 774-785, 2007.
- HAYNES, T. E. *et al.* L-Glutamine or L-alanyl-L-glutamine prevents oxidant-or endotoxin-induced death of neonatal enterocytes. **Amino Acids**, v. 37, n. 1, p. 131-142, 2009.
- HE, J. *et al.* Effects of L-glutamine on growth performance, antioxidant ability, immunity and expression of genes related to intestinal health in weanling pigs. **Livestock Science**, v. 189, p. 102–109, 2016.
- HE, Y. *et al.* L-Glutamine Represses the unfolded protein response in the small Intestine of weanling piglets. **The Journal of Nutrition**, v. 149, n.11, p. 1904-1910, 2019.
- HOTAMISLIGIL, G. S. *et al.* IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF- α -and obesity-induced insulin resistance. **Science**, v. 271, n. 5249, p. 665-670, 1996.
- HOWELL, J. J. *et al.* A growing role for mTOR in promoting anabolic metabolism. **Biochemical Society Transactions**, v. 41, n. 4, p. 906-912, 2013.
- HSU, C. B. *et al.* Effects of supplemental glutamine on growth performance, plasma parameters and LPS-induced immune response of weaned barrows after castration. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 25, n. 5, p. 674-681, 2012.
- HUNG, C. M. *et al.* mTOR-dependent cell survival mechanisms. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 4, n. 12, p. a008771, 2012.
- IKEDA, K. New seasonings. **Chemical Senses**, v. 27, n. 9, p. 847-849, 2002.
- INOKI, K. *et al.* TSC2 is phosphorylated and inhibited by Akt and suppresses mTOR signalling. **Nature Cell Biology**, v. 4, n. 9, p. 648-657, 2002.
- INOKI, K. *et al.* TSC2 mediates cellular energy response to control cell growth and survival. **Cell**, v. 115, n. 5, p. 577-590, 2003.
- JOHNSON, J. S.; LAY JÚNIOR, D. C. Evaluating the behavior, growth performance, immune parameters, and intestinal morphology of weaned piglets after simulated transport and heat stress when antibiotics are eliminated from the diet or replaced with L-glutamine. **Journal of Animal Science**, v. 95, n. 1, p. 91-102, 2017.
- JURETIC, A. *et al.* Glutamine requirements in the generation of lymphokine-activated killer cells. **Clinical Nutrition**, v. 13, n. 1, p. 42-49, 1994.
- KIMBALL, S. R. *et al.* Feeding stimulates protein synthesis in muscle and liver of neonatal pigs through an mTOR-dependent process. **American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism**, v. 279, p. E1080-E1087, 2000.
- KIRSZTAJN, G. M. Avaliação do ritmo de filtração glomerular. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, v. 4, p. 257-264, 2007

- KONDOH, T.; TORII, K. MSG intake suppresses weight gain, fat deposition, and plasma leptin levels in male Sprague–Dawley rats. **Physiology & Behavior**, v. 95, n. 1-2, p. 135-144, 2008.
- KYOUNG, H. *et al.* Dietary glutamic acid modulates immune responses and gut health of weaned pigs. **Animals**, v. 11, n. 2, p. 1-16, 2021.
- LALLÈS, J. P. *et al.* Nutritional management of gut health in pigs around weaning. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 66, n. 2, p. 260-268, 2007.
- LAMBERTUCCI, A. C. *et al.* Glutamine Supplementation Stimulates Protein-Synthetic and Inhibits Protein-Degradative Signaling Pathways in Skeletal Muscle of Diabetic Rats. **Plos One**, v. 7, n. 12, p. e50390, 2012.
- LE DIVIDICH, J.; SÈVE, B. Effects of underfeeding during the weaning period on growth, metabolism, and hormonal adjustments in the piglet. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 19, n. 2, p. 63-74, 2000.
- LEPLANTE, M.; SABATINI, D. M. mTOR signaling at a glance. **Journal of Cell Science**, v. 122, n. 20, p. 3589-3594, 2009.
- LI, D. F. *et al.* Transient hypersensitivity to soybean meal in the early-weaned pig. **Journal of Animal Science**, v. 68, n. 6, 1790-1799, 1990.
- LIN, M. *et al.* L-Glutamate supplementation improves small intestinal architecture and enhances the expressions of jejunal mucosa amino acid receptors and transporters in weaning piglets. **Plos One**, v. 9, n. 11, p. e111950, 2014.
- LIU, T. *et al.* Effects of dietary glutamine and glutamate supplementation on small intestinal structure, active absorption and DNA, RNA concentrations in skeletal muscle tissue of weaned piglets during d 28 to 42 of age. **Asian-Aust. J. Anim. Sci.**, v. 15, n. 2, p. 238-242, 2002.
- LOBLEY, G. E. *et al.* Whole body and tissue protein synthesis in cattle. **British Journal of Nutrition**, v. 43, n. 3, p. 491- 502, 1980.
- LV, D. *et al.* Effect of dietary soy oil, glucose, and glutamine on growth performance, amino acid profile, blood profile, immunity, and antioxidant capacity in weaned piglets. **Science China Life Sciences**, v. 61, n. 10, p. 1233-1242, 2018.
- MADEC, F. *et al.* Measurement of digestive disorders in the piglet at weaning and related risk factors. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 35, p. 53-72, 1998.
- MAIORKA, A. Impacto da saúde intestinal na produtividade avícola. **Simpósio Brasil Sul de Avicultura**, v. 5, p. 119-129, 2004.
- MALULY, H. D. B. *et al.* Aspectos industriais e aplicação do glutamato monossódico em alimento. REYES, F. G. R. (org.). In: **Umami e Glutamato: aspectos químicos, biológicos e tecnológicos**. São Paulo: Blucher, 2021. p. 391-413.

- MANDA, R. M. *et al.* Bases metabólicas do crescimento muscular. **Revista Brasileira de Fisiologia do Exercício**, v. 9, n. 1, p. 52-58, 2010.
- MANHART, N. *et al.* Influence of short-term protein malnutrition of mice on the phenotype and costimulatory signals of lymphocytes from spleen and Peyer's patches. **Nutrition**, v. 16, n. 3, p. 197-201, 2000.
- MANHART, N. *et al.* Oral feeding with glutamine prevents lymphocyte and glutathione depletion of Peyer's patches in endotoxemic mice. **Annals of Surgery**, v. 234, n. 1, p. 92-97, 2001.
- MASIC, U.; YEOMANS, M. R. Umami flavor enhances appetite but also increases satiety. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 100, n. 2, p. 532-538, 2014.
- MEDINA, E. A. *et al.* Tumor necrosis factor- α decreases Akt protein levels in 3T3-L1 adipocytes via the caspase-dependent ubiquitination of Akt. **Endocrinology**, v. 146, n. 6, p. 2726-2735, 2005.
- MILLWARD, D. J. *et al.* Muscle glutamine concentration and protein turnover in vivo in malnutrition and in endotoxemia. **Metabolism**, v. 38, n. 8, p. 6-13, 1989.
- MONTAGNE, L. *et al.* Main intestinal markers associated with the changes in gut architecture and function in piglets after weaning. **British Journal of Nutrition**, v. 97, n. 1, p. 45-57, 2007.
- NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 6^a ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.
- NEWSHOLME, E. A., PARRY-BILLINGS, M. Properties of glutamine release from muscle and its importance for the immune system. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 14, n. 4, 1990.
- NEWSHOLME, P. *et al.* Glutamine metabolism by lymphocytes, macrophages, and neutrophils: its importance in health and disease. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 10, n. 6, p. 316-324, 1999.
- NEWSHOLME, P. *et al.* Glutamine and glutamate: their central role in cell metabolism and function. **Cell Biochemistry and Function**, v. 21, n. 1, p. 1-9, 2003.
- NIJIMA, A. *et al.* Cephalic-phase insulin release induced by taste stimulus of monosodium glutamate (umami taste). **Physiology & Behavior**, v. 48, n. 6, p. 905-908, 1990.
- NINOMIYA, K. Natural occurrence. **Food Reviews International**, v. 14, n. 2-3, p. 177-211, 1998.
- NOBLET, Jean; HENRY, Y.; DUBOIS, Serge. Effect of protein and lysine levels in the diet on body gain composition and energy utilization in growing pigs. **Journal of Animal Science**, v. 65, n. 3, p. 717-726, 1987.

- NÚÑEZ, M. C. *et al.* Dietary restriction induces biochemical and morphometric changes in the small intestine of nursing piglets. **The Journal of Nutrition**, v. 126, n. 4, p. 933-944, 1996.
- OBLED, C. Necesidades de aminoácidos en estados inflamatorios. In: Avances en nutrición y alimentación animal. **Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal**, 2003. p. 73-88.
- OLIVEIRA JÚNIOR, G. M. D. *et al.* Efeitos do desafio sanitário e da suplementação de lisina, metionina, treonina e triptofano em leitões recém desmamados. **Nutritime Revista Eletrônica**, v. 10, n. 3, p. 2408-2427, 2013.
- PARRA, J. *et al.* Intestinal expression of pro-inflammatory cytokines induced by oral intake of lipopolysaccharide (LPS) from E. coli in weaned pigs. **Rev. Colomb. Cienc. Pec.**, v. 26, n.2, p. 108-118, 2013.
- PLUSKE, J. R. *et al.* Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. **Livestock Production Science**, v. 51, n. 1-3, p. 215-236, 1997.
- QI, M. *et al.* Postnatal growth retardation is associated with intestinal mucosa mitochondrial dysfunction and aberrant energy status in piglets. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 24, n. 17, p. 10100-10111, 2020.
- QIN, Q. *et al.* Glutamate alleviates intestinal injury, maintains mTOR and suppresses TLR4 and NOD signaling pathways in weanling pigs challenged with lipopolysaccharide. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1-10, 2018.
- RAMALDES, G. A. *et al.* Captura de lipossomas pelas placas de Peyer de camundongos após administração oral. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 2, p. 173-182, 2002.
- RATH, S.; AIROLDI, F. P. D. S. Aspectos analíticos do glutamato. REYES, F. G. R. (org.). In: **Umami e Glutamato: aspectos químicos, biológicos e tecnológicos**. São Paulo: Blucher, 2021. p. 45-69.
- REEDS, P. J.; BURRIN, D. G. Glutamine and the bowel. **The Journal of Nutrition**, v. 131, n. 9, p. 2505S-2508S, 2001.
- RIBEIRO JÚNIOR, V. *et al.* Metabolismo e suplementação dietética de glutamina em dietas de aves. **Nutritime Revista Eletrônica**, v.12, n.5, p.4320-4332, 2015.
- RODRIGUES, N.D. *et al.* Suplementação de L-Valina e L-Glutamina+L-Ácido glutâmico em dietas de leitões desmamados. **Boletim de Indústria Animal**, v. 72, n. 3, p. 251-260, 2015.
- ROURA, E.; TEDÓ, G. **Feed appetite in pigs: an oronasal sensing perspective**. In: TORRALLARDONA, D.; ROURA, E (org.). **Voluntary feed intake in pigs**. 1ª ed. The Netherlands: Wageningen Academic Publishers, 2009. p. 105-140.

- ROSE, W. C. *et al.* Comparative growth on diets containing ten and nineteen amino acids, with further observations upon the role of glutamic and aspartic acids. **J. Biol. Chem**, v. 176, p. 753-762, 1948.
- ROWBOTTOM, D. G. *et al.* The Emerging Role of Glutamine as an Indicator of Exercise Stress and Overtraining. **Sports Medicine**, v. 21, n. 2, p. 80-97, 1996.
- SAN GABRIEL, A. M. *et al.* mGluR1 in the fundic glands of rat stomach. **FEBS Letters**, v. 581, n. 6, p. 1119–1123, 2007.
- SAN GABRIEL, A.; UNEYAMA, H. Amino acid sensing in the gastrointestinal tract. **Amino Acids**, v. 45, n. 3, p. 451–461, 2013.
- SANTOS, L. S. *et al.* Growth performance and intestinal replacement time of ¹³C in newly weaned piglets supplemented with nucleotides or glutamic acid. **Livestock Science**, v. 227, p. 160–165, 2019.
- SÈVE, B. *et al.* Protein synthesis and retention in some tissues of the young pig as influenced by dietary protein intake after early-weaning. Possible connection to the energy metabolism. **Reproduction Nutrition Développement**, v. 26, n. 3, p. 849-861, 1986.
- SILVA, A. L. *et al.* Supplementation of diets with glutamine and glutamic acid attenuated the effects of cold stress on intestinal mucosa and performance of weaned piglets. **Animal Production Science**, v. 59, n. 10, p. 1880-1885, 2019.
- SILVERTHORN, D. U. **Fisiologia Humana: Uma abordagem integrada**. 7^a ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.
- SONENBERG, N.; HINNEBUSCH, A. G. Regulation of translation initiation in eukaryotes: mechanisms and biological targets. **Cell**, v. 136, n. 4, p. 731-745, 2009.
- SOUZA, W. M. *et al.* Effects of creatine supplementation on biomarkers of hepatic and renal function in young trained rats. **Toxicology Mechanisms and Methods**, v. 23, n. 9, p. 697–701, 2013.
- STANSKA, K.; KRZESKI, A. The umami taste: from discovery to clinical use. **Otolaryngol Pol**, v. 70, n. 4, p. 10-15, 2016.
- STRLE, K. *et al.* Proinflammatory Cytokine Impairment of Insulin-Like Growth Factor I-Induced Protein Synthesis in Skeletal Muscle Myoblasts Requires Ceramide. **Endocrinology**, v. 145, n. 10, p. 4592-4602, 2004.
- TEDÓ, M. G. **The umami taste in pigs: L-amino acid preferences and *in vitro* recognition by the receptor dimer pT1r1/pT1r3 expressed in porcine taste and non-taste tissues**. 2009. 193 f. PhD Thesis - Autonomous University of Barcelona, 2009.
- TEDÓ, G. *et al.* Well-fed piglets prefer amino acids that elicit umami taste. **Journal of Animal Science**, v. 88, n. 2, p. 211, 2010.

- TEE, A. R. *et al.* Tuberous sclerosis complex-1 and-2 gene products function together to inhibit mammalian target of rapamycin (mTOR)-mediated downstream signaling. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 99, n. 21, p. 13571-13576, 2002.
- TEIXEIRA, A. D. O. *et al.* Inclusion of glutamine associated with glutamic acid in the diet of piglets weaned at 21 days of age. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 15, n. 4, p. 881-896, 2014.
- TINTI, J. M. *et al.* Comparison of gustatory responses to amino acids in pigs and in humans. **LWT-Food Science and Technology**, v. 33, n. 8, p. 578-583, 2000.
- TOMÉ, D. The Roles of Dietary Glutamate in the Intestine. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 73, n. 5, p. 15–20, 2018.
- VARY, T. C.; LYNCH, C. J. Meal feeding enhances formation of eIF4F in skeletal muscle: Role of increased eIF4E availability and eIF4G phosphorylation. **American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism**, v. 290, n. 4, p. 631-642, 2006.
- WANG, H. *et al.* Glutamine enhances tight junction protein expression and modulates corticotropin-releasing factor signaling in the jejunum of weanling piglets. **The Journal of nutrition**, v. 145, n. 1, p. 25-31, 2015.
- WANG, J. *et al.* Glutamine, glutamate, and aspartate differently modulate energy homeostasis of small intestine under normal or low energy status in piglets. **Animal Nutrition**, v. 8, n. 1, p. 216-226, 2022.
- WATFORD, M. Glutamine and glutamate: Nonessential or essential amino acids?. **Animal Nutrition**, v. 1, n. 3, p. 119-122, 2015.
- WHITE, M. E. *et al.* Effect of weaning at different ages on serum insulin-like growth factor I (IGF-I), IGF binding proteins and serum in vitro mitogenic activity in swine. **Journal of Animal Science**, v. 69, n. 1, p. 134-145, 1991.
- WINDMUELLER, H. G.; SPAETH, A. E. Respiratory fuels and nitrogen metabolism in vivo in small intestine of fed rats: Quantitative importance of glutamine, glutamate, and aspartate. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 255, n. 1, p. 107-112, 1980.
- WINDMUELLER, H. G. Glutamine utilization by the small intestine. **Advances in Enzymol Related Areas Mol. Biol**, v. 53, n. 201, p. 1982-237, 1982.
- WU, G. Urea synthesis in enterocytes of developing pigs. **Biochemical Journal**, v. 312, n. 3, p. 717-723, 1995.
- WU, G. *et al.* Glutamine and glucose metabolism in enterocytes of the neonatal pig. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 268, n. 2, p. R334-R342, 1995.
- WU, G. Intestinal mucosal amino acid catabolism. **The Journal of Nutrition**, v. 128, n. 8, p. 1249-1252, 1998.

- WU, G. *et al.* Arginine nutrition in neonatal pigs. **The Journal of Nutrition**, v. 134, n. 10, p. 2783S-2790S, 2004.
- WYSS, M.; KADDURAH-DAOUK, R. Creatine and creatinine metabolism. **Physiol. Rev.**, v. 80, n. 3, p. 1107-213, 2000.
- XIONG, X. *et al.* Effect of glucose, soya oil and glutamine on protein expression and mammalian target of rapamycin complex 1 pathway of jejunal crypt enterocytes in weaned piglets. **British Journal of Nutrition**, v. 123, n. 5, p. 481-488, 2020.
- XIONG, X. *et al.* Nutritional intervention for the intestinal development and health of weaned pigs. **Frontiers in Veterinary Science**, v.6, p. 46, 2019.
- XU, R. J. *et al.* Postnatal adaptation of the gastrointestinal tract in neonatal pigs: a possible role of milkborne growth factors. **Livestock Production Science**, v. 66, n. 2, p. 95-107, 2000.
- YAMAGUCHI, S.; NINOMIYA, K. Umami and food palatability. **The Journal of Nutrition**, v. 130, n. 4, p. 921S-926S, 2000.
- YAP, Y. W. *et al.* Restriction of essential amino acids dictates the systemic metabolic response to dietary protein dilution. **Nature Communications**, v. 11, n. 1, p. 1-13, 2020.
- YASUO, T. *et al.* Multiple receptor systems for glutamate detection in the taste organ. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 31, n. 10, p. 1833-1837, 2008.
- ZHANG, B. *et al.* Alanyl-glutamine supplementation regulates mTOR and ubiquitin proteasome proteolysis signaling pathways in piglets. **Nutrition**, v. 32, n. 10, p. 1123-1131, 2016.
- ZHANG, Y. *et al.* Novel umami ingredients: Umami peptides and their taste. **Journal of Food Science**, v. 82, n. 1, p. 16-23, 2017.
- ZHAO, G. Q. *et al.* The receptors for mammalian sweet and umami taste. **Cell**, v. 115, n. 3, p. 255-266, 2003.
- ZHAO, L. *et al.* Effects of low-protein diet supplementation with alpha-ketoglutarate on growth performance, nitrogen metabolism and mTOR signalling pathway of skeletal muscle in piglets. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 104, n. 1, p. 300-309, 2019.
- ZHONG, A. *et al.* Intestinal growth and morphology is associated with the increase in heat shock protein 70 expression in weaning piglets through supplementation with glutamine. **Journal of Animal Science**, v. 89, n. 11, p. 3634-3642, 2011.
- ZHOU, R. Y. *et al.* Effects of biocom as a replacement of glutamine on performance and blood biochemical indexes of early weaned piglets. **Asian-australasian Journal of Animal Sciences**, v. 19, n. 6, p. 872-876, 2006.

ZHU, Y. *et al.* L-Glutamine deprivation induces autophagy and alters the mTOR and MAPK signaling pathways in porcine intestinal epithelial cells. **Amino Acids**, v. 47, n. 10, p. 2185-2197, 2015.

ZOU, X. T. *et al.* Effects of glutamine on growth performance of weanling piglets. **Czech Journal of Animal Science**, v. 51, n. 10, p. 444, 2006.

CAPÍTULO 2

SUPLEMENTAÇÃO DE GLUTAMINA E GLUTAMATO EM DIETAS COM BAIXO NÍVEL DE LISINA DIGESTÍVEL PARA LEITÕES DESMAMADOS

Resumo - O estudo foi realizado com o objetivo de avaliar os efeitos da suplementação com L-glutamina e L-glutamato (Gln/Glu), em dieta com baixo nível de lisina, sobre o desempenho, parâmetros sanguíneos, integridade intestinal e contagem de placas de Peyer no intestino de leitões. Cento e cinquenta leitões desmamados aos 21 dias de idade foram distribuídos em blocos casualizados, de acordo com o peso inicial, em três dietas, dez repetições e cinco animais por unidade experimental. As dietas foram: Controle, inclusão de 1,45% e 1,34% de lisina digestível (LisD) dos 21-33 dias e 33-47 dias, respectivamente; B-Lis, baixa LisD (90% da concentração de LisD das dietas Controles); B-Lis + Gln/Glu, baixa LisD + 1,2% e 0,8% de AminoGut dos 21-33 dias e 33-47 dias, respectivamente. Os dados foram analisados utilizando o pacote estatístico SAS 9.4. Dos 21 aos 33 dias, a adição de Gln/Glu na dieta com baixa lisina proporcionou aumento ($P<0,05$) do consumo de ração médio diário (CRMD) dos leitões, em comparação às demais dietas. Além disso, melhorou ($P<0,05$) o ganho de peso médio diário (GPMD) dos suínos no período experimental. Leitões do Controle demonstraram melhor ($P<0,05$) conversão alimentar (CA) dos 21 aos 47 dias de idade. Os níveis de imunoglobulina G (IgG), creatinina e ureia no soro sanguíneo não foram influenciados ($P>0,05$) pelas dietas. No duodeno, a dieta B-Lis + Gln/Glu proporcionou aumento ($P<0,05$) da altura de vilosidades (AV), enquanto a dieta Controle não diferiu ($P<0,05$) das demais. Não houve efeito ($P>0,05$) das dietas sobre a profundidade de cripta (PC) e relação AV:PC nos diferentes segmentos intestinais. No íleo foi observada tendência ($P=0,10$) de aumento da AV e maior ($P<0,04$) proliferação de células caliciformes. No jejuno, as dietas não influenciaram ($P>0,05$) os dados morfométricos. A suplementação com Gln/Glu em dieta com baixa lisina (90% da exigência) pode melhorar o desempenho e a integridade da mucosa intestinal de leitões desmamados. A redução do nível de lisina piorou o GPMD, a CA, o peso aos 33 e 47 dias de vida e a proporção de células caliciformes duodenais, entretanto não afetou os parâmetros sanguíneos e a contagem de placas de Peyer.

Palavras-chave: Glutamina. Glutamato. Morfologia intestinal. Leitões desmamados. Lisina.

EFFECTS OF GLUTAMINE AND GLUTAMATE ON NURSERY PIGS FED DIETS WITH LOW DIGESTIBLE LYSINE CONTENT

Abstract - This study investigated the effects of L-Glutamine and L-Glutamate (Gln/Glu) on growth performance and intestinal health of nursery pigs fed low digestible lysine diets. One hundred fifty piglets (21-d-old; 5.6 ± 0.55 kg initial BW) were distributed in a randomized block design, with three treatments and ten replicates. Experimental diets were fed from 21 to 33 and 33 to 47 d of age. The treatments consisted of control, standard lysine level; low-lys, 90% of the lysine level of the control diets; low-lys + Gln/Glu, low-lys diets supplemented with 1.2 and 0.8% of Gln/Glu (AminoGut, Ajinomoto) per phase. Alanine, inert and starch were used to make treatments isoproteic and isocaloric. Data was analyzed with SAS 9.4 PROC GLM. From 21 to 33 d, pigs fed control or low-lys + Gln/Glu diets had improved ADG, G:F, and 33-d BW compared to those fed low-lys diets ($P < 0.05$). From 21 to 47 d, pigs fed control or low-lys + Gln/Glu diets had improved ADG and 47-d BW compared to those fed low-lys diets ($P < 0.05$). The supplementation of Gln/Glu in the diets improved G:F compared to those fed low-lys ($P < 0.05$). Pigs fed low-lys + Gln/Glu had higher duodenum villus height compared to those fed low-lys ($P < 0.05$), and pigs fed the control diet had intermediate results. Pigs fed control diets had increased presence of goblet cells in duodenum compared to those fed low-lys ($P < 0.05$), and pigs fed the low-lys + Gln/Glu diet had intermediate results. Pigs fed low-lys + Gln/Glu diets had increased presence of goblet cells in jejunum compared to the other treatments ($P < 0.05$). The diets did not influence Peyer's patches count ($P > 0.05$). In conclusion, supplementation of Gln/Glu on low lysine diets improved nursery pigs growth performance and intestinal health.

Keywords: Glutamine. Glutamate. Gut morphology. Piglets. Lysine.

1 INTRODUÇÃO

O desmame precoce de leitões está associado a vários fatores estressores, como a separação abrupta da mãe, alterações ambientais, mistura de leitegadas e a troca da dieta líquida para a sólida (Molino e Balbino, 2010). A consequente queda da imunidade, verificada nessa fase, aumenta a susceptibilidade a doenças, prejudicando o desempenho e elevando a taxa de mortalidade (Quadros *et al.*, 2002; Brown *et al.*, 2006). Os altos níveis de estresse comprometem a saúde gastrointestinal, diminuindo a expressão de células caliciformes e a produção de muco (Dunsford *et al.*, 1991; Núñez *et al.*, 1996; Maiorka, 2004).

Após o desmame o sistema enzimático-digestivo, ainda em processo de desenvolvimento, limita a capacidade de digestão e aproveitamento de determinados ingredientes como a soja. O farelo de soja, importante fonte proteica em rações de suínos, possui fatores antinutricionais e antígenos dietéticos predisponentes a diarreia pós-desmame, como a glicinina e β -conglucininina (Brumano e Gattás, 2004). Os quais reduzem a atividade de enzimas digestivas, provocam hipersensibilidade transitória, o encurtamento de vilosidades e hiperplasia de criptas, resultando em má absorção e interferindo negativamente nas taxas de crescimento dos leitões (Li *et al.*, 1990; Li *et al.*, 1991). Diante desse cenário, diversos produtos têm surgido no mercado com o intuito de melhorar a saúde intestinal e auxiliar no desempenho dos leitões na fase de creche.

A Gln tem sido estudada pelo seu estímulo anabólico sobre os tecidos, atuação no *turnover* de enterócitos e modulação da expressão de genes relacionados à sobrevivência celular (Curi *et al.*, 2005). É uma importante fonte de energia para a proliferação de células do sistema imune, aumento dos níveis séricos de imunoglobulinas e prevenção da atrofia de tecidos linfoides em placas de Peyer (Yaqoob *et al.*, 1997; Manhart *et al.*, 2001).

O Glu possui papel vital em variadas rotas metabólicas, fornecendo energia e nitrogênio para proliferação celular, síntese de compostos nitrogenados, tamponante, de neurotransmissores e antioxidantes (Lobley *et al.*, 2001; Newsholme *et al.*, 2003). Estudos sugerem que a suplementação com Gln e Glu estimula o consumo de leitões, melhora a razão entre a altura das vilosidades e a profundidade da cripta, a digestibilidade de nutrientes e a expressão de células caliciformes (He *et al.*, 2016; He *et al.*, 2019; Kyoung *et al.*, 2021).

O balanço de nitrogênio essencial e não essencial pode aumentar a eficiência da síntese de proteínas, regular a oxidação de aminoácidos, reduzir a excreção de nitrogênio e otimizar o custo da dieta animal (Yang *et al.*, 2009; NRC, 2012; He *et al.*, 2013). A lisina é considerada o primeiro aminoácido limitante em suínos alimentados à base de cereais (Genova *et al.*, 2017),

a suplementação dietética pode afetar diretamente a morfologia intestinal e o desempenho animal, sendo de fundamental importância particularmente sob condições estressantes, como o desmame (He *et al.*, 2013).

Diante da variabilidade de fatores influenciáveis e evolução genética, as exigências de lisina são comumente subestimadas em dietas práticas (NRC, 2012). De acordo com Gomes *et al.* (2021), a oferta dos aminoácidos Gln e Glu melhora o desempenho de leitões desmamados, independentemente dos níveis de lisina da dieta. Entretanto, os efeitos desses aminoácidos podem ser modulados pela qualidade da dieta ofertada, uma vez que, ingredientes altamente digestíveis podem minimizar os impactos da nutrição sobre a morfologia intestinal no pós-desmame (Berto *et al.*, 1997).

Os resultados de estudos sobre a inclusão de Gln e Glu em rações para leitões no pós-desmame ainda são controversos, parte disso se relaciona aos diferentes fatores que podem influenciar a necessidade real de cada um dos aminoácidos: dosagem, período de suplementação, estado nutricional e estágio de desenvolvimento do animal (Watford, 2015). Ademais, a maioria das pesquisas mostraram resultados da suplementação com Gln e Glu a partir de dietas atendendo as exigências nutricionais. De acordo com Rhoads e Wu (2009), a Gln promove a proliferação celular e exerce efeitos citoprotetores diferenciais em resposta à privação de nutrientes. Além disso, a digestibilidade de proteína dietética e lisina pode ser melhorada de forma adaptativa a carência de aminoácidos, bem como, desencadear mecanismo compensatórios que estimulam o transporte celular de aminoácidos com efeitos anabólicos. Entretanto, trabalhos sobre restrição de lisina em leitões desmamados são limitados (Gazzola *et al.*, 2001; Gaccioliy *et al.*, 2006; Yang *et al.*, 2009).

Com o consequente aumento do catabolismo e da suscetibilidade às disfunções intestinais em períodos pós-desmame, espera-se que a inclusão de Gln e Glu em dietas deficientes em lisina contribua para a melhora do desempenho produtivo, modulação benéfica da resposta imune e manutenção da integridade intestinal de leitões. Desse modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da suplementação com Gln e Glu sobre o consumo de ração, ganho de peso corporal, conversão alimentar, parâmetros sanguíneos, integridade intestinal e contagem de placas de Peyer de leitões desmamados aos 21 dias de idade e alimentados com dietas nutricionalmente deficientes.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O protocolo experimental seguiu aos princípios éticos em pesquisa animal (CONCEA, 2016) e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais de Produção da Universidade Federal de Viçosa (CEUAP-UFV), protocolo n° 031/2021.

2.1 Desenho experimental e dietas

O experimento foi conduzido em salas de creche de uma granja comercial localizada em Santo Antônio do Grama, Minas Gerais, Brasil. Foram utilizados 150 leitões (DB 90 × LQ DB), fêmeas e machos castrados, desmamados aos 21 dias de idade, com peso inicial de $5,61 \pm 0,55$ kg. Ao desmame, os leitões foram distribuídos em delineamento em blocos casualizados, de acordo com o peso inicial, em três dietas, dez repetições e cinco animais (incluindo fêmeas e machos) por unidade experimental. A unidade experimental foi representada por baia.

Os animais foram alojados em baias suspensas de $1,75 \times 1,00$ m, com piso plástico estrado e laterais de aço, providas de comedouros semiautomáticos e bebedouros tipo chupeta, localizadas em prédio de alvenaria. As temperaturas foram monitoradas diariamente às 08:00 horas durante o período experimental, por um termômetro posicionado à meia altura do corpo dos animais e disposto em uma baia vazia, sendo observadas temperaturas máxima e mínima de $28,45 \pm 1,89^\circ\text{C}$ e $17,85 \pm 2,03^\circ\text{C}$, respectivamente.

As rações foram fornecidas em duas fases, sendo dos 21 aos 33 dias e dos 33 aos 47 dias de idade (Tabela 1, apêndice A). As dietas, isoproteicas e isoenergéticas, foram assim constituídas: Controle, com a inclusão de 1,45% e 1,34% de lisina digestível (LisD) de 21 a 33 e 33 a 47 dias de idade, respectivamente, conforme recomendado por Rostagno *et al.* (2017); B-Lis, baixo nível de LisD, correspondendo a 90% da concentração de lisina da dieta de Controle, suplementando com amido e alanina; B-Lis + Gln/Glu, suplementada com 1,2% e 0,8% de AminoGut de 21 a 33 e 33 a 47 dias de idade, respectivamente (AminoGut, Ajinomoto Biolatina, SP, Brasil. Produto composto por L-glutamina (min. 10%) e L-glutamato (min. 10%), utilizado em substituição ao amido, alanina e inerte).

2.2 Desempenho e incidência de diarreia

As rações e a água foram fornecidas à vontade durante o período experimental (26 dias). Para determinar as variáveis de desempenho, os animais, o fornecimento e as sobras de rações foram pesados aos 21, 33 e 47 dias de vida dos leitões para cálculo do consumo de ração médio diário (CRMD) e ganho de peso médio diário (GPMD). A conversão alimentar (CA) foi calculada por meio da relação entre o CRMD e o GPMD.

A incidência de diarreia foi avaliada visualmente quando os leitões apresentavam 26, 28, 30, 32, 34 e 36 dias de idade e classificada como 0 (ausência) ou 1 (presença) para cada baia, conforme Gomes *et al.* (2021). Essas identificações foram realizadas sempre pelo mesmo observador, previamente treinado.

2.3 Coletas de sangue e tecidual

Para quantificação dos níveis de ureia, creatinina e imunoglobulina G, amostras de sangue foram coletadas aos 33 dias de idade do leitão com peso mais próximo da média de cada unidade experimental, por punção do seio orbital. As amostras foram enviadas para análises ao Laboratório de Análises Clínicas de Viçosa – VIÇOSALAB.

Os leitões de pesos médios selecionados para a coleta de sangue foram insensibilizados por eletroanestesia, seguido de sangria para coleta de amostras de material intestinal. Foram coletados segmentos de 3,0 cm nas regiões correspondentes ao duodeno (a 10 cm a partir do piloro), jejuno (porção média do intestino) e íleo (a 5 cm anterior a junção ileocecal), de acordo com Yang *et al.* (2014). Os cortes histológicos foram lavados em solução fisiológica e fixados em solução de paraformaldeído 4,0% por 24 horas à temperatura ambiente. Decorrido este período, houve transferência dos cortes para solução de etanol 70% e armazenamento para posteriores análises.

2.4 Análises de morfometria intestinal e contagem de células caliciformes

Os cortes histológicos do duodeno, jejuno e íleo foram encaminhados ao Laboratório Multiusuário de Biologia Muscular e Nutrigenômica do Departamento de Zootecnia da UFV para confecção de lâminas e avaliações de altura de vilosidades (AV) e profundidade de criptas (PC). As amostras histológicas foram seccionadas transversalmente na região intermediária do

segmento intestinal, adicionadas em cassetes e desidratadas em soluções com concentrações crescentes de etanol. Em seguida, houve diafanização em HistoChoice[®], imersão em Paraplast[®] líquido a 65°C, montagem de blocos em parafina e microtomização (5,0 µm de espessura), sendo 4 cortes semi-seriados dispostos em cada lâmina de vidro e postos para secagem.

Para a pré-coloração foi realizado o processo de desparafinização e hidratação em todas as lâminas com banhos em HistoChoice[®], em concentrações decrescentes de etanol de 100% a 70%, e água destilada. Os cortes de 5 µm foram corados pelo método da hematoxilina e eosina. As lâminas montadas foram fotografadas em 15 campos por animal usando microscópio de fluorescência EVOS M5000[®] (Invitrogen, Thermo Fischer Scientific) com objetiva de 10X. Foram selecionadas 20 vilosidades, sendo mensuradas as alturas dessas e as profundidades das respectivas criptas, usando um sistema de processamento e análise de imagem do programa ImageJ 1.50i Javal. 6.0_20 (National Institute of Health). As medidas foram expressas em micrômetros e, a partir dessas, calculada a relação AV:PC.

Ademais, no intestino delgado, realizou-se a contagem de células caliciformes (CC), as lâminas com os cortes histológicos foram montadas como o descrito acima. Foram capturadas 20 imagens por animal das secções do duodeno, jejuno e íleo, as imagens das criptas e vilosidades foram registradas com lente de aumento de 40X, filtro Bright Field, com microscópio EVOS M5000[®]. Utilizando o programa ImageJ, determinou-se a proporção volumétrica de células caliciformes (Figura 1, apêndice B), que foi calculada obtendo-se a fração de pontos que coincidia com estas células em relação ao total de pontos sobre o epitélio intestinal glandular, em uma área de 944,16 µm² por imagem, sendo o resultado expresso em porcentagem. Adicionalmente, no seguimento do íleo foi realizada a contagem total das placas de Peyer (Figura 2), com auxílio do microscópio EVOS M5000[®] e objetiva de 4X, a contagem foi realizada ao longo de um corte histológico por lâmina.

2.5 Análises estatísticas

Os dados foram analisados utilizando o pacote estatístico SAS (SAS Institute Inc., 2012). Dados de desempenho, parâmetros sanguíneos, morfometria intestinal e contagem de células intestinais foram submetidos à análise de variância usando o PROC GLM. As diferenças entre as médias foram consideradas significativas pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade, enquanto *P*-valores entre 0,05 e 0,10 foram considerados tendências. Os dados

de escore de diarreia foram analisados usando PROC FREQ. O teste qui-quadrado (X^2) foi utilizado para detectar diferenças na frequência de diarreia em leitões quando $P < 0,05$.

3 RESULTADOS

Dos 21 aos 33 d de idade, verificou-se que a inclusão de Gln/Glu na dieta com baixa lisina para leitões proporcionou aumento ($P < 0,05$) do CRMD em comparação com as dietas Controle e B-Lis (Tabela 2, apêndice A). Ademais, os leitões alimentados com a dieta B-Lis apresentaram pior ($P < 0,05$) GPMD, CA e peso aos 33 dias, em relação às dietas Controle e B-Lis + Gln/Glu.

Dos 21 aos 47 dias de idade, não houve efeito ($P = 0,10$) das dietas sobre o CRMD dos leitões. As dietas Controle e B-Lis + Gln/Glu promoveram ($P < 0,05$) maior GPMD dos leitões e peso aos 47 dias em relação à dieta B-Lis. Os animais da dieta Controle apresentaram menor CA ($P < 0,05$), diferindo dos demais. A inclusão de Gln/Glu na dieta B-Lis melhorou a CA ($P < 0,05$) dos leitões, em comparação a dieta B-Lis.

As concentrações séricas totais de ureia, creatinina e IgG não foram afetadas ($P > 0,05$) pela suplementação dietética de Gln/Glu (Tabela 3, apêndice A).

A incidência de diarreia não foi influenciada pelas dietas experimentais (dados não apresentados).

No duodeno, a inclusão de Gln/Glu na dieta com baixa lisina proporcionou aumento ($P < 0,05$) da AV, enquanto o grupo Controle não diferiu ($P < 0,05$) dos demais (Tabela 4, apêndice A). No entanto, não houve efeitos ($P > 0,05$) das dietas sobre a PC e na relação AV:PC. No jejuno e íleo as dietas não influenciaram ($P > 0,05$) os dados morfométricos.

No duodeno, a proporção volumétrica de CC foi menor ($P < 0,05$) nos animais alimentados com a dieta B-Lis em relação aos do Controle (Tabela 5, apêndice A). Ademais, os leitões da dieta com suplementação de Gln/Glu não diferiram ($P > 0,05$) dos demais.

No jejuno, a percentagem de CC não foi influenciada ($P > 0,05$) pelas dietas. No íleo, a maior expressão ($P < 0,05$) de CC foi verificada em leitões alimentados com a dieta B-Lis + Gln/Glu. Os leitões da dieta Controle e B-Lis não diferiram entre si para CC. Além disso, não houve diferença ($P > 0,05$) na proporção de placas de Peyer na região do íleo.

4 DISCUSSÃO

Nos primeiros dias após o desmame é pouco provável o reestabelecimento da ingestão energética dos leitões por meios dietéticos a nível do pré-desmame (Wang *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2022). Desse modo, estratégias preventivas são necessárias para mitigar os impactos sobre a saúde intestinal (Dong e Pluske, 2007; Chalvon-Demersay *et al.*, 2021).

A Gln/Glu são AAs com efeitos conhecidos na manutenção da morfologia intestinal e deposição muscular, em vista da ação trófica direta sobre a renovação celular (He *et al.*, 2019; Zou *et al.*, 2019).

No presente estudo, a inclusão de Gln/Glu na dieta B-Lis melhorou o CRMD dos 21 aos 33 dias de vida dos leitões, em relação aos demais tratamentos. O glutamato monossódico (MSG) e o L-Glu estimulam a secreção de saliva, ativam nervos gustativos produzindo o sabor *umami*. Este último, aumenta a atividade do nervo pancreático vago e a secreção de insulina, o que pode resultar no aumento do consumo de ração. Tais fatores são importantes para ativar o processo digestivo, regular a ingestão e o trânsito alimentar, a duração da refeição e a saciedade (Nijima *et al.*, 1990; Nijima, 2000; Hodson e Linden, 2006; Bannai e Torii, 2013).

Dos 21 aos 47 dias, o CRMD dos leitões não foi afetado com inclusão de Gln/Glu. O que pode ser justificado pelos menores níveis de inclusão de Gln/Glu na dieta dos 33 aos 47 dias. De forma semelhante, Domeneghini *et al.* (2004) suplementando 0,5% de Gln não observaram efeitos sobre o CRMD de leitões desmamados aos 21 dias durante 28 dias de experimento. No trabalho de Clark *et al.* (2017), leitões suplementados com 0,6% de Gln/Glu, dos 7 aos 21 dias pós-desmame, demonstraram CRMD semelhante ao controle. Segundo Lv *et al.* (2018), diferentes durações de tratamentos experimentais ou dosagem de Gln podem ser fatores que contribuem para resultados diferenciados entre estudos. Trabalhando com níveis mais altos de suplementação, Gomes *et al.* (2021) constataram que a inclusão de 1,2% de Gln/Glu dos 21 aos 42 dias resultou em maior CRMD dos leitões alimentados com dietas contendo baixa lisina.

Dos 21 aos 33 dias e 21 aos 47 dias, houve similaridade nos dados de GPMD e peso final entre os leitões alimentados com as dietas Controle e B-Lis + Gln/Glu, sendo um indicativo de que AAs suficientes estavam disponíveis nas dietas para garantir o crescimento e, portanto, a deposição muscular. Segundo Yang *et al.* (2009), a restrição de lisina pode resultar em melhorias na digestibilidade de proteína bruta e aminoácidos da dieta como a lisina. Além disso, o estresse nutricional causado pela carência de aminoácidos pode aumentar a atividade do

sistema de transporte A de aminoácidos neutros como a Gln, permitindo recuperação do volume celular e dos níveis de aminoácidos (Gaccioliy *et al.*, 2006). O aumento da atividade de transporte do sistema A é devido à indução do transportador SNAT2 (membro da família SLC38), cuja fosforilação de eIF2 α é necessária para a maior expressão deste (Gaccioliy *et al.*, 2006). O SNAT2 é responsável pela regulação do conteúdo de Gln no músculo esquelético, sinalização de aminoácidos que afeta a massa proteica, o metabolismo de nucleotídeo/ácido nucleico e o crescimento celular (Evans *et al.*, 2007). Desse modo, a restrição nutricional associada a suplementação com Gln/Glu pode contribuir para o aumento da absorção de Gln, AA que atua na regulação da síntese de proteínas do músculo esquelético, modula as vias de ativação de mTOR e estado de fosforilação dos fatores de iniciação da tradução de proteínas (Cruzat *et al.*, 2009; Manda *et al.*, 2010; Chiu *et al.*, 2012).

No trabalho de Zou *et al.* (2019), o aumento do GPMD foi observado com a suplementação de dipeptídeo de Gln, o qual promoveu melhora da função digestiva-absortiva por meio da maior expressão dos transportadores SGLT1, GLUT2 e PEPT1 no jejuno de leitões desmamados.

Os estudos de Clark *et al.* (2017) indicaram que dos 7 aos 21 dias pós-desmame (desmame aos 16 dias de idade), a inclusão de 0,6% de Gln/Glu aumentou o GPMD e o CRMD dos leitões, em relação aos alimentados com 0,5; 1,0 e 1,5% de MSG, e melhor CA que os da dieta controle. Além disso, aos 42 dias pós-desmame verificaram maior peso dos animais alimentados com Gln/Glu em relação ao controle. No trabalho de Gomes *et al.* (2021), a suplementação dietética de Gln/Glu melhorou o desempenho de leitões desmamados de 21 a 42 dias de idade, independentemente dos níveis de lisina das dietas. Segundo Silva *et al.* (2022), a suplementação com 1% de Gln/Glu, dos 28 aos 49 dias de idade, aumentou o GPMD dos leitões, em relação aos que consumiram dieta com 0,5 % Gln/Glu + 0,5 % de L-arginina, e melhorou a CA em relação ao controle.

Leitões alimentados com a dieta B-Lis apresentaram o pior desempenho no período experimental. Esse resultado é similar aos observados por Gomes *et al.* (2021), em que 10% de lisina abaixo da exigência afetou negativamente o crescimento. Katsumata *et al.* (2002) verificaram que o baixo nível de lisina (7 g de lis/kg de dieta) resultou em menores concentrações plasmáticas nos leitões de IGF-1 e de sua proteína de ligação IGFBP-3, a qual realiza seu transporte no plasma. Sendo este hormônio importante para redução do catabolismo muscular, estímulo de síntese proteica e proliferação celular (Prestes *et al.*, 2006).

As concentrações de ureia plasmática são influenciadas pelo conteúdo energético e de nitrogênio proteico e não proteico da dieta, e pode servir como parâmetro indicativo da eficiência de utilização do nitrogênio da ração (Coma *et al.*, 1995). Apesar da Gln ser precursora de ureia (Watford, 2015), as dietas experimentais não influenciaram os parâmetros sanguíneos, uma vez que, as mesmas eram isoproteicas e isoenergéticas. Ademais, os resultados de ureia e creatinina encontram-se dentro dos valores de referências indicados por Yu *et al.* (2019). Deste modo, pode-se inferir que a oferta nitrogenada oriunda da Gln/Glu foi aproveitada pelo organismo e não excretada via urina. Tannus (2001) não observou efeito da Gln na excreção urinária de nitrogênio em ratos. Além disso, em situações de estresse, o intestino é o principal local de consumo de Gln/Glu. De acordo com estudos, dois terços da Gln e 95% do Glu dietéticos apresentados à mucosa foram metabolizados na primeira passagem (Reeds e Burrin, 2001; Bertolo e Burrin, 2008).

Gomes *et al.* (2021) ao fornecerem dietas com diferentes teores proteicos e energéticos aos leitões, observaram que a redução de lisina provocou diminuições das concentrações séricas de IgG e ureia, sendo esta última aumentada com inclusão de 1,2% de Gln/Glu. De forma semelhante ao nosso estudo, verificaram que a adição de Gln/Glu não influenciou a expressão de IgG.

Alterações das concentrações de creatinina relacionam-se ao aporte aminoacídico, estado nutricional e metabolismo da creatina muscular. O menor ganho de peso observado dos animais alimentados com a dieta B-Lis e a inclusão de Gln/Glu não foram suficientes para alterar a creatinina sérica. Lv *et al.* (2018) observaram maiores concentrações de creatinina mediante inclusão de Gln em 2,5% da EM aos 14 dias pós-desmame, e aumento da IgG aos 28 dias.

No duodeno, a suplementação de Gln/Glu na dieta B-Lis aumentou a altura das vilosidades em relação a dieta com baixa lisina. No intestino, a Gln/Glu são fontes de energia (Reeds *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2022) e nitrogênio para a síntese proteica e proliferação de enterócitos (Zhu *et al.*, 2015). A Gln atua na regulação da apoptose celular, uma vez que, aumenta a expressão de proteínas envolvidas na reparação de danos celulares (Yi *et al.*, 2015; Jiang *et al.*, 2017). No entanto, a PC e a relação AV:PC não foram influenciadas pelas dietas.

Ademais, a redução dos níveis de lisina diminuiu a proliferação de CC no duodeno, o que pode comprometer a barreira intestinal pela menor produção de muco (Ishill *et al.*, 2009). Todavia, os animais alimentados com Gln/Glu apresentaram abundância de CC numericamente semelhante ao tratamento Controle.

O grupo amida da Gln é precursor de N-acetilglucosamina, que têm papel importante na síntese de muco (Reeds e Burrin, 2001). Assim, a suplementação com Gln/Glu pode ter contribuído para manutenção da atividade secretora e da integridade intestinal, evidenciado pela maior altura de vilosidades observadas no duodeno.

De forma semelhante ao nosso estudo, Silva *et al.* (2022) suplementando leitões desmamados aos 28 dias com 1% de Gln/Glu, não observaram efeitos sobre a PC e a relação AV:PC duodenais, entretanto verificaram maior proliferação de CC e de densidade de vilos, em comparação ao controle, três semanas após desmame.

No jejuno, a suplementação com 1,2% de Gln/Glu não influenciou a morfometria dos leitões aos 33 dias de idade. Wu *et al.* (1996), também, não verificaram efeitos da suplementação com 1% de Gln sobre a AV na segunda semana pós-desmame. Todavia, a Gln preveniu a atrofia de vilosidades jejunais na primeira semana. Sobre a perspectiva de que a atrofia intestinal, geralmente, se desenvolve durante a primeira semana pós-desmame (Wu *et al.*, 1996), pode-se inferir que a maturidade intestinal interfere nas respostas obtidas mediante adição de AAs funcionais à dieta. Silva *et al.* (2022) não observaram diferenças na AV, PC, AV:PC e CC na região do jejuno dos leitões, mediante suplementação com Gln/Glu aos 49 dias de idade. Os efeitos divergentes encontrados no duodeno e jejuno suíno pode ser reflexo de diferenças de metabolismo da Gln e proliferação celular entre as regiões intestinais (Wu *et al.*, 1996).

Na região do íleo houve tendência ($P=0,10$) de aumento da AV, sendo o maior valor observado para com inclusão de Gln/Glu nas dietas, além disso, verificou-se que a expressão de CC foi mais abundante nesse tratamento. Zhong *et al.* (2011), mostraram que a suplementação de Gln influenciou benéficamente a morfologia intestinal aumentando o peso do jejuno e íleo, a AV e melhorando a relação AV:PC. Avaliando a adição de diferentes níveis de Gln/Glu (0,0; 0,4; 0,8 e 1,2%) na semana seguinte ao desmame, Lescano *et al.* (2013) verificam melhora linear da AV duodenais e ileais, e da relação AV:PC do intestino delgado. Além de efeitos lineares e quadráticos na PC duodenal, concluindo que a utilização dietética de 1,2% de Gln/Glu é benéfica para melhorar os efeitos prejudiciais do desmame. Domeneghini *et al.* (2004) verificaram aumento das taxas de mitose e redução da apoptose de enterócitos, resultando em maiores AV no íleo de leitões desmamados aos 21 dias e alimentados com 0,5% de Gln em relação ao controle.

5 CONCLUSÃO

A suplementação dietética de L-glutamina e L-glutamato em dieta com baixo nível de lisina (90% da exigência) foi eficiente em melhorar o desempenho dos leitões desmamados aos 21 dias, uma vez que, os animais alimentados com essa dieta demonstraram maior consumo de ração na primeira fase, maior ganho de peso e menor conversão alimentar, em relação aos da dieta com baixa lisina. A redução do nível de lisina piorou o ganho de peso, a conversão alimentar e a proporção de células caliciformes duodenais. A redução da lisina e a suplementação com Gln/Glu não afetou os parâmetros sanguíneos e a contagem de placas de Peyer. A inclusão de Gln/Glu em dietas nutricionalmente deficientes contribui para a manutenção da integridade intestinal por meio do aumento da altura de vilosidades duodenais e da proporção de células caliciformes ileais de leitões desmamados.

REFERÊNCIAS

- BANNAI, M.; TORII, K. Digestive physiology of the pig symposium: Detection of dietary glutamate via gut–brain axis. **Journal of Animal Science**, v. 91, n. 5, p. 1974-1981, 2013.
- BERTO, D. A. *et al.* Efeito do tipo de dieta e do sistema de alimentação na fase inicial sobre o desempenho de leitões. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, p.144-152, 1997.
- BERTOLO, R.F.; BURRIN, D.G. Comparative aspects of tissue glutamine and proline metabolism. **The Journal of Nutrition**, v. 138, n. 10, p. 2032S-2039S, 2008.
- BROWN, D. C. *et al.* The influence of different management systems and age on intestinal morphology, immune cell numbers and mucin production from goblet cells in post-weaning pigs. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 111, n. 3-4, p. 187-198, 2006.
- BRUMANO, G.; GATTÁS, G. Soja integral extrusada na alimentação de aves e suínos. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.1, n. 3, p.134-146, 2004.
- CAMPBELL, R. G. The response of early weaned pigs to sub-optimal protein diets supplemented with synthetic lysine. **Animal Science**, v. 26, n. 1, p. 11-17, 1978.
- CHALVON-DEMERSAY, T. *et al.* Functional amino acids in pigs and chickens: implication for gut health. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 8, p. 496, 2021.
- CHIU, M. *et al.* Glutamine stimulates mTORC1 independent of the cell content of essential amino acids. **Amino Acids**, v. 43, n. 6, p. 2561-2567, 2012.
- CLARK, A. B. *et al.* Effects of Monosodium Glutamate and AminoGut on Nursery Pig Performance. **Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports**, v. 3, n. 7, p. 17, 2017.
- COMA, J. *et al.* Use of plasma urea nitrogen as a rapid response criterion to determine the lysine requirement of pigs. **Journal of Animal Science**, v. 73, n. 2, p. 472-481, 1995.
- CONCEA. Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações (MCTIC). **Guia brasileiro de produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica**, fascículo 1. Brasília, 2016.
- CRUZAT, V. F. *et al.* Glutamine: Biochemical, Metabolic, Molecular Aspects and Supplementation. **Rev. Bras. Med. Esporte**, v. 15, n. 5, p. 392-397, 2009.
- CURI, R. *et al.* Molecular mechanisms of glutamine action. **Journal of Cellular Physiology**, v. 204, n. 2, p. 392-401, 2005.
- DOMENEGHINI, C. *et al.* Structural patterns of swine ileal mucosa following L-glutamine and nucleotide administration during the weaning period. An histochemical and histometrical study. **Histology and Histopathology**, v. 19, p. 49-58, 2004.

- DONG, G. Z.; PLUSKE, J. R. The low feed intake in newly-weaned pigs: problems and possible solutions. **Asian-australasian Journal of Animal Sciences**, v. 20, n. 3, p. 440-452, 2007.
- DUNSFORD, B. R. *et al.* Effects of diet on acidic and neutral goblet cell populations in the small intestine of early weaned pigs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 52, n. 10, p. 1743-1746, 1991.
- EVANS, K. *et al.* Acidosis-sensing glutamine pump SNAT2 determines amino acid levels and mammalian target of rapamycin signalling to protein synthesis in L6 muscle cells. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 18, n. 5, p. 1426-1436, 2007.
- GACCIOLIY, F. *et al.* Amino acid starvation induces the SNAT2 neutral amino acid transporter by a mechanism that involves eukaryotic initiation factor 2 α phosphorylation and cap-independent translation. **Journal of Biological Chemistry**, v. 281, n. 26, p. 17929-17940, 2006.
- GAZZOLA, R. F. *et al.* The adaptive regulation of amino acid transport system A is associated to changes in ATA2 expression. **FEBS Letters**, v. 490, n. 1-2, p. 11-14, 2001.
- GENOVA, J. L. *et al.* Aminoácidos limitantes na nutrição de suínos. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 14, n. 5, p. 7032-7045, 2017.
- GOMES, M. D. S. *et al.* Effects of glutamine and glutamate on nursery piglets fed diets with different digestible lysine content. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 42, n. 6 SUPL 2, p. 3919-3930, 2021.
- GUYTON, A. C.; HALL, J. E. (2011). “Os sentidos químicos: gustação e olfação”. In: GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 12^a ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011. p. 685.
- HALPERN, B. P. Glutamate and the flavor of foods. **The Journal of Nutrition**, v. 130, n. 4, p. 910S-914S, 2000.
- HE, J. *et al.* Effects of L-glutamine on growth performance, antioxidant ability, immunity and expression of genes related to intestinal health in weanling pigs. **Livestock Science**, v. 189, p. 102-109, 2016.
- HE, L. *et al.* Effects of dietary L-lysine intake on the intestinal mucosa and expression of CAT genes in weaned piglets. **Amino Acids**, v. 45, n. 2, p. 383-391, 2013.
- HE, Y. *et al.* L-Glutamine Represses the unfolded protein response in the small Intestine of weanling piglets. **The Journal of Nutrition**, v. 149, n.11, p. 1904-1910, 2019.
- HODSON, N. A.; LINDEN, R. W. A. The effect of monosodium glutamate on parotid salivary flow in comparison to the response to representatives of the other four basic tastes. **Physiology & Behavior**, v. 89, n. 5, p. 711-717, 2006.
- ISHILL, K. *et al.* Medium-chain triglycerides enhance mucous secretion and cell proliferation in the rat. **Journal of Gastroenterology**, v. 44, n. 3, p. 204-211, 2009.

- JIANG, Q. *et al.* l-Glutamine attenuates apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress by activating the IRE1 α -XBP1 axis in IPEC-J2: a novel mechanism of l-glutamine in promoting intestinal health. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 12, p. 2617, 2017.
- KATSUMATA, M. *et al.* Differential regulation of porcine hepatic IGF-I mRNA expression and plasma IGF-I concentration by a low lysine diet. **The Journal of Nutrition**, v. 132, n. 4, p. 688-692, 2002.
- KYOUNG, H. *et al.* Dietary glutamic acid modulates immune responses and gut health of weaned pigs. **Animals**, v. 11, n. 2, p. 1-16, 2021.
- LESCANO, D. *et al.* Effect of glutamic acid plus glutamine on the intestinal morphology of pig-lets. **Journal of Animal Science**, v. 91, n. 2, p. 341, 2013.
- LI, D. F. *et al.* Transient hypersensitivity to soybean meal in the early-weaned pig. **Journal of Animal Science**, v. 68, n. 6, 1790-1799, 1990.
- LI, D. F. *et al.* Measuring suitability of soybean products for early-weaned pigs with immunological criteria. **Journal of Animal Science**, v. 69, n. 8, p. 3299-3307, 1991.
- LOBLEY, G. E. *et al.* Glutamine in animal science and production. **The Journal of Nutrition**, v. 131, n. 9, p. 2525S-2531S, 2001.
- LV, D. *et al.* Effect of dietary soy oil, glucose, and glutamine on growth performance, amino acid profile, blood profile, immunity, and antioxidant capacity in weaned piglets. **Science China Life Sciences**, v. 61, n. 10, p. 1233-1242, 2018.
- MAIORKA, A. Impacto da saúde intestinal na produtividade avícola. **Simpósio Brasil Sul de Avicultura**, v. 5, p. 119-129, 2004.
- MANDA, R. M. *et al.* Bases metabólicas do crescimento muscular. **Revista Brasileira de Fisiologia do Exercício**, v. 9, n. 1, p. 52-58, 2010.
- MANHART, N. *et al.* Oral feeding with glutamine prevents lymphocyte and glutathione depletion of Peyer's patches in endotoxemic mice. **Annals of Surgery**, v. 234, n. 1, p. 92-97, 2001.
- MOLINO, J. P.; BALBINO, E. M. Lactose em rações para leitões desmamados. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 7, n. 1, p. 1139-1148, 2010.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient Requirement of Swine**. 11^a ed. Washington, DC: National Academy of Sciences, 2012. p. 20.
- NEWSHOLME, P. *et al.* Glutamine and glutamate: their central role in cell metabolism and function. **Cell Biochemistry and Function**, v. 21, n. 1, p. 1-9, 2003.
- NIJIMA, A. *et al.* Cephalic-phase insulin release induced by taste stimulus of monosodium glutamate (umami taste). **Physiology & Behavior**, v. 48, n. 6, p. 905-908, 1990.

- NIJIMA, A. Reflex effects of oral, gastrointestinal and hepatoportal glutamate sensors on vagal nerve activity. **The Journal of Nutrition**, v. 130, n. 4, p. 971S-973S, 2000.
- NÚÑEZ, M. C. *et al.* Dietary restriction induces biochemical and morphometric changes in the small intestine of nursing piglets. **The Journal of Nutrition**, v. 126, n. 4, p. 933-944, 1996.
- PAULA, R. D. S. *et al.* Alterações gustativas no envelhecimento. **Rev. Kairós**, v. 11, n. 1, p. 217-235, 2008.
- PEDROZO, S. A. **Níveis de lisina e relações treonina:lisina no desempenho e metabolismo de leitões desmamados**. 2002. 142 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Porto Alegre, 2002.
- PRESTES, J. *et al.* Efeitos do fator de crescimento insulínico-I sobre o músculo esquelético e suas relações com o exercício físico. **Rev. Bras. Cien. Mov.**, v. 14, n. 3, p. 97-104, 2006.
- QUADROS, A. R. B. *et al.* Dietas simples e complexa sobre o desempenho de leitões na fase de creche. **Ciência Rural**, v. 32, n. 1, p. 109-114, 2002.
- REEDS, P. J. *et al.* Intestinal glutamate metabolism. **The Journal of nutrition**, v. 130, n. 4, p. 978S-982S, 2000.
- REEDS, P. J.; BURRIN, D. G. Glutamine and the bowel. **The Journal of Nutrition**, v. 131, n. 9, p. 2505S-2508S, 2001.
- RHOADS, J.; WU, G. Glutamine, arginine, and leucine signaling in the intestine. **Amino Acids**, v. 37, n. 1, p. 111-122, 2009.
- ROSTAGNO, H. S. *et al.* **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2017. p. 1-488.
- SILVA, D. R. P. *et al.* Addition of L-Glutamine+ Glutamic Acid and L-Arginine to the diet of weaned piglets. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 94, n. 1, p. e20201575, 2022.
- TANNUS, A. F. S. **Nitrogênio urinário e tecidual em ratos desnutridos com suplementação de glutamina**. 2001. 94 f. Dissertação (Mestrado em Biociências Aplicadas à Clínica Médica) - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, 2001.
- WANG, H. *et al.* Glutamine enhances tight junction protein expression and modulates corticotropin-releasing factor signaling in the jejunum of weanling piglets. **The Journal of Nutrition**, v. 145, n. 1, p. 25-31, 2015.
- WANG, J. *et al.* Glutamine, glutamate, and aspartate differently modulate energy homeostasis of small intestine under normal or low energy status in piglets. **Animal Nutrition**, v. 8, n. 1, p. 216-226, 2022.
- WATFORD, M. Glutamine and glutamate: Nonessential or essential amino acids?. **Animal Nutrition**, v. 1, n. 3, p. 119-122, 2015.

- WU, G. *et al.* Dietary glutamine supplementation prevents jejunal atrophy in weaned pigs. **The Journal of Nutrition**, v. 126, n. 10, p. 2578-2584, 1996.
- YANG, K. M. *et al.* Effect of *Lactobacillus plantarum* on diarrhea and intestinal barrier function of Young piglets challenged with enterotoxigenic *Escherichia coli* K88. **Journal of Animal Science**, v. 92, n. 4, p. 1496-1503, 2014.
- YANG, Y. X. *et al.* Lysine restriction and realimentation affected growth, blood profiles and expression of genes related to protein and fat metabolism in weaned pigs. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 93, n. 6, p. 732-743, 2009.
- YAQOOB, P.; CALDER, P. C. Glutamine requirement of proliferating T lymphocytes. **Nutrition**, v. 13, n. 7-8, p. 646-651, 1997.
- YI, D. *et al.* L-Glutamine enhances enterocyte growth via activation of the mTOR signaling pathway independently of AMPK. **Amino Acids**, v. 47, n. 1, p. 65-78, 2015.
- YU, K. *et al.* Age-related serum biochemical reference intervals established for unweaned calves and piglets in the post-weaning period. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 6, p. 123, 2019.
- ZHONG, A. *et al.* Intestinal growth and morphology is associated with the increase in heat shock protein 70 expression in weaning piglets through supplementation with glutamine. **Journal of Animal Science**, v. 89, n. 11, p. 3634-3642, 2011.
- ZHU, Y. *et al.* L-Glutamine deprivation induces autophagy and alters the mTOR and MAPK signaling pathways in porcine intestinal epithelial cells. **Amino Acids**, v. 47, n. 10, p. 2185-2197, 2015.
- ZOU, T. D. *et al.* Dietary alanyl-glutamine improves growth performance of weaned piglets through maintaining intestinal morphology and digestion–absorption function. **Animal**, v. 13, n. 9, p. 1826-1833, 2019.

APÊNDICE

APÊNDICE A

TABELA 1 - Ingredientes e composição nutricional calculada de dietas fornecidas dos 21 aos 33 dias e dos 33 aos 47 dias de idade

Ingredientes ¹	21 - 33 dias de idade ²			33 - 47 dias de idade ³		
	Controle	B-Lis	B-Lis + Gln/Glu	Controle	B-Lis	B-Lis + Gln/Glu
Milho	400,0	400,0	400,0	479,0	479,0	479,0
F. Soja	153,1	153,1	153,1	189,8	189,8	189,8
Soro de Leite Pó	180,0	180,0	180,0	110,0	110,0	110,0
Soja Micronizada	100,0	100,0	100,0	80,0	80,0	80,0
Plasma	40,0	40,0	40,0	20,0	20,0	20,0
Milho extrusado	30,0	30,0	30,0	25,0	25,0	25,0
Açúcar	30,0	30,0	30,0	35,0	35,0	35,0
Fosfato Bicálcico	11,6	11,6	11,6	13,3	13,3	13,3
Calcário	8,9	8,9	8,9	8,4	8,4	8,4
Óleo de Soja	8,8	8,8	8,8	9,7	9,7	9,7
Ácido Fumárico	10,0	10,0	10,0	5,0	5,0	5,0
Alanina	1,3	7,3	-	0,1	5,8	0,6
Inerte	3,5	0,8	-	2,7	0,1	-
Amido	0,2	3,9	-	-	3,3	0,6
Óxido de Zinco	3,0	3,0	3,0	2,2	2,2	2,2
Antiaglomerante	3,0	3,0	3,0	2,0	2,0	2,0
Cloreto de colina	2,0	2,0	2,0	1,5	1,5	1,5
Antibiótico	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
BHT	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Sal comum	1,0	1,0	1,0	2,9	2,9	2,9
Sulfato de cobre	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
Vit-mineral premix	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4
L-Lisina	4,0	1,4	1,4	4,4	2,0	2,0
DL-Metionina	2,4	1,3	1,3	2,2	1,1	1,1
L-Treonina	2,6	1,2	1,2	2,5	1,2	1,2

L-Valina	1,5	-	-	1,3	-	-
L-Triptofano	0,6	0,2	0,2	0,5	0,2	0,2
Composição nutricional calculada,						
EM, kcal/kg	3.400	3.400	3.400	3.375	3.375	3.375
PB, %	20,5	20,5	20,5	19,5	19,5	19,5
Lis digestível, %	1,451	1,305	1,305	1,346	1,211	1,211
Thr digestível, %	0,972	0,874	0,874	0,902	0,811	0,811
Met + Cys digestível, %	0,813	0,731	0,731	0,754	0,678	0,678
Trp digestível, %	0,276	0,248	0,248	0,256	0,230	0,230
Val digestível, %	1,001	0,920	0,920	0,930	0,838	0,838
Cálcio, %	0,850	0,850	0,850	0,825	0,825	0,825
Fósforo disponível, %	0,504	0,504	0,504	0,463	0,463	0,463
Sódio, %	0,320	0,320	0,320	0,280	0,280	0,280
Lactose, %	13,50	13,50	13,50	8,250	8,250	8,250

¹As dietas experimentais foram obtidas pela adição de glutamina e glutamato [AminoGut, Ajinomoto Biolatina, SP, Brasil. L-glutamina (min. 10%) e L-glutamato (min. 10%)] a 12 g.kg⁻¹ e 8 g.kg⁻¹ em substituição ao amido, alanina e inerte;

²Amoxilina (Farmaxilin[®]50, Farmabase, Brasil) e Colistina (Promotin[®]TR, Farmabase, Brasil) foram adicionadas em todas as dietas de 21 a 33 dias de idade;

³Florfenicol (Farmaflor[®]50, Farmabase, Brasil) e Colistina foram adicionados em todas as dietas de 33 a 47 dias de idade.

TABELA 2 - Efeitos da suplementação de L-glutamina e L-glutamato sobre o desempenho de leitões alimentados com dietas com diferentes níveis de lisina

Item	Tratamentos			EPM ⁴	P-valor
	Controle ¹	B-Lis ²	B-Lis + Gln/Glu ³		
21 a 33 d					
Peso 21 d (kg)	5,6	5,6	5,6	0,14	-
CRMD (g/d)	257 ^b	263 ^b	290 ^a	8,23	0,01
GPMD (g/d)	182 ^a	134 ^b	189 ^a	4,96	<0,01
CA	1,41 ^b	1,96 ^a	1,54 ^b	0,05	<0,01
Peso 33 d (kg)	7,8 ^a	7,2 ^b	7,9 ^a	0,16	<0,01
21 a 47 d					
CRMD (g/d)	477	496	517	12,56	0,10
GPMD (g/d)	324 ^a	291 ^b	326 ^a	7,09	<0,01
CA	1,47 ^c	1,71 ^a	1,59 ^b	0,03	<0,01
Peso 47 d (kg)	14,0 ^a	13,2 ^b	14,1 ^a	0,26	0,03

¹Controle, inclusão de 1,45% e 1,34% de lisina digestível (LisD) de 21 a 33 e 33 a 47 dias, respectivamente, conforme Rostagno *et al.* (2017);

²B-Lis, baixo nível de LisD, correspondendo a 90% das dietas de Controle, suplementando com amido e alanina;

³B-Lis + Gln/Glu, baixo nível de LisD (90% da lisina das dietas Controles) suplementada com AminoGut (AminoGut, Ajinomoto Biolatina, SP, Brasil) em substituição ao amido, alanina e inerte;

⁴EPM - Erro médio padrão;

^{a-c} Médias seguidas por letras distintas nas linhas diferem significativamente ($P < 0,05$). Abreviações: CRMD - Consumo de ração médio diário; GPMD - Ganho médio diário; CA - Conversão alimentar.

TABELA 3 - Efeitos da suplementação de L-glutamina e L-glutamato sobre parâmetros sanguíneos de leitões alimentados com dietas com diferentes níveis de lisina

Item	Tratamentos			EPM ⁴	P-valor
	Controle ¹	B-Lis ²	B-Lis + Gln/Glu ³		
Ureia (mg/dL)	13,00	14,44	13,44	0,76	0,40
Creatinina (mg/dL)	0,58	0,65	0,58	0,03	0,17
IgG (mg/dL)	149,00	141,63	173,00	12,36	0,16

¹Controle, inclusão de 1,45% e 1,34% de lisina digestível (LisD) de 21 a 33 e 33 a 47 dias, respectivamente, conforme Rostagno *et al.* (2017);

²B-Lis, baixo nível de LisD, correspondendo a 90% das dietas de Controle, suplementando com amido e alanina;

³B-Lis + Gln/Glu, baixo nível de LisD (90% da lisina das dietas Controles) suplementada com AminoGut (AminoGut, Ajinomoto Biolatina, SP, Brasil) em substituição ao amido, alanina e inerte;

⁴EPM - Erro médio padrão;

^{a-c} Médias seguidas por letras distintas nas linhas diferem significativamente ($P < 0,05$). Abreviações: IgG - Imunoglobulina G.

TABELA 4 - Efeitos da suplementação de L-glutamina e L-glutamato sobre a morfologia do intestino delgado de leitões alimentados com dietas com diferentes níveis de lisina

Item	Tratamentos			EPM ⁴	P-valor
	Controle ¹	B-Lis ²	B-Lis + Gln/Glu ³		
Duodeno					
Altura de vilosidade (µm)	280,90 ^{ab}	269,39 ^b	300,08 ^a	8,25	0,04
Profundidade de cripta (µm)	150,5	151,0	159,2	5,90	0,51
Vilo:cripta	1,92	1,85	2,02	0,08	0,34
Jejuno					
Altura de vilosidade (µm)	249,8	256,0	255,2	13,67	0,94
Profundidade de cripta (µm)	133,7	135,7	135,9	5,65	0,95
Vilo:cripta	1,91	1,95	1,94	0,09	0,93
Íleo					
Altura de vilosidade (µm)	222,7	185,2	227,1	14,90	0,10
Profundidade de cripta (µm)	143,7	141,8	138,0	6,08	0,79
Vilo:cripta	1,67	1,41	1,72	0,12	0,17

¹Controle, inclusão de 1,45% e 1,34% de lisina digestível (LisD) de 21 a 33 e 33 a 47 dias, respectivamente, conforme Rostagno *et al.* (2017);

²B-Lis, baixo nível de LisD, correspondendo a 90% das dietas de Controle, suplementando com amido e alanina;

³B-Lis + Gln/Glu, baixo nível de LisD (90% da lisina das dietas Controles) suplementada com AminoGut (AminoGut, Ajinomoto Biolatina, SP, Brasil) em substituição ao amido, alanina e inerte;

⁴EPM - Erro médio padrão;

^{a-c} Médias seguidas por letras distintas nas linhas diferem significativamente ($P < 0,05$).

TABELA 5 – Efeitos da suplementação de L-glutamina e L-glutamato sobre a proporção volumétrica de células caliciformes e placas de Peyer do intestino delgado de leitões alimentados com dietas com diferentes níveis de lisina

Item	Tratamentos			EPM	P-valor
	Controle ¹	B-Lis ²	B-Lis + Gln/Glu ³		
Células caliciformes (%)					
Duodeno	23,6 ^a	19,5 ^b	21,9 ^{ab}	1,15	0,04
Jejuno	20,6	22,4	21,5	1,58	0,72
Íleo	31,7 ^b	30,8 ^b	39,7 ^a	2,29	0,02
Placas de Peyer					
Íleo	35,1	35,0	39,9	2,71	0,36

¹Controle, inclusão de 1,45% e 1,34% de lisina digestível (LisD) de 21 a 33 e 33 a 47 dias, respectivamente, conforme Rostagno *et al.* (2017);

²B-Lis, baixo nível de LisD, correspondendo a 90% das dietas de Controle, suplementando com amido e alanina;

³B-Lis + Gln/Glu, baixo nível de LisD (90% da lisina das dietas Controles) suplementada com AminoGut (AminoGut, Ajinomoto Biolatina, SP, Brasil) em substituição ao amido, alanina e inerte;

⁴EPM - Erro médio padrão;

^{a-c} Médias seguidas por letras distintas nas linhas diferem significativamente ($P < 0,05$).

APÊNDICE B

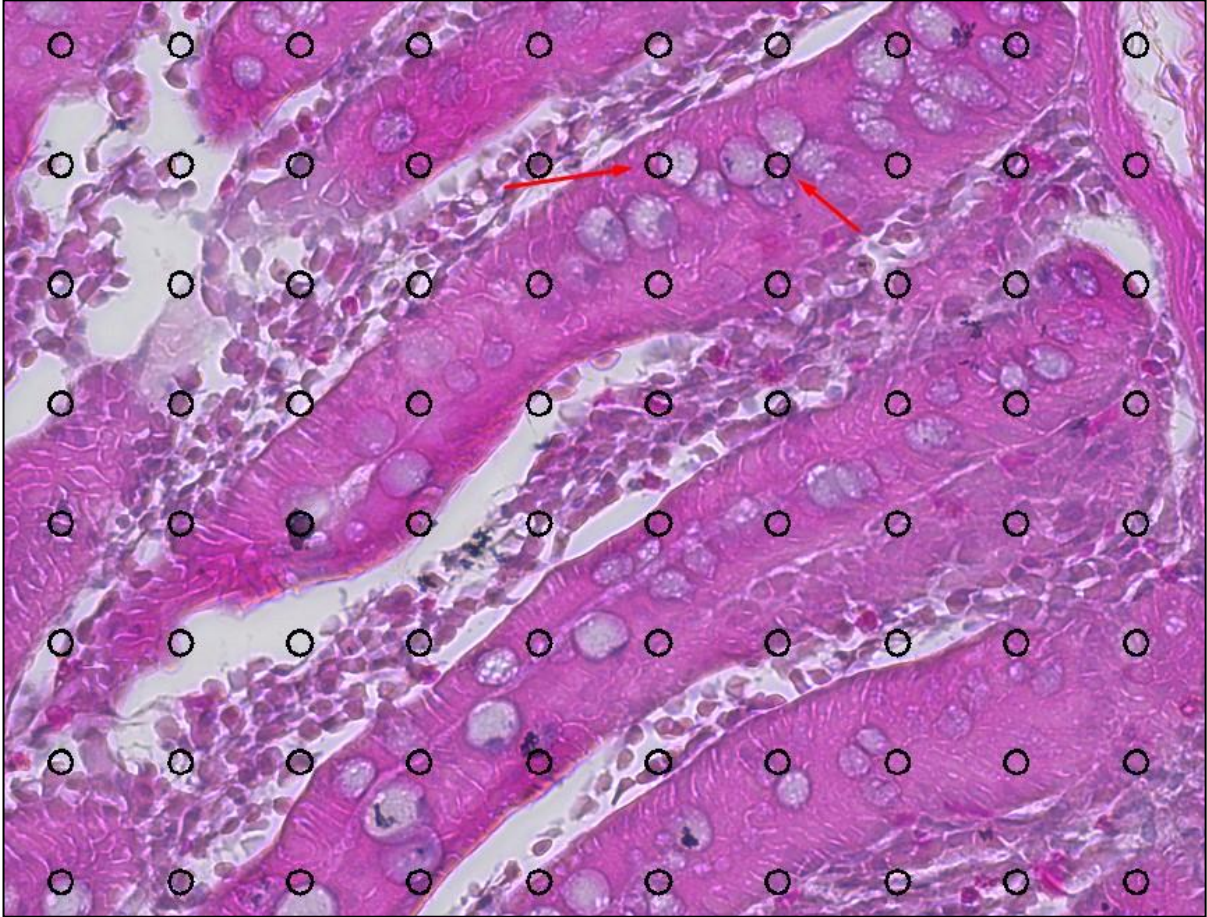


FIGURA 1 – Fotomicrografia de segmento duodenal suíno em objetiva de 40X, demonstrando os círculos totais e coincidentes com as células caliciformes, conforme indicado pelas setas, presentes na mucosa intestinal. Fonte: Acervo pessoal, 2022.

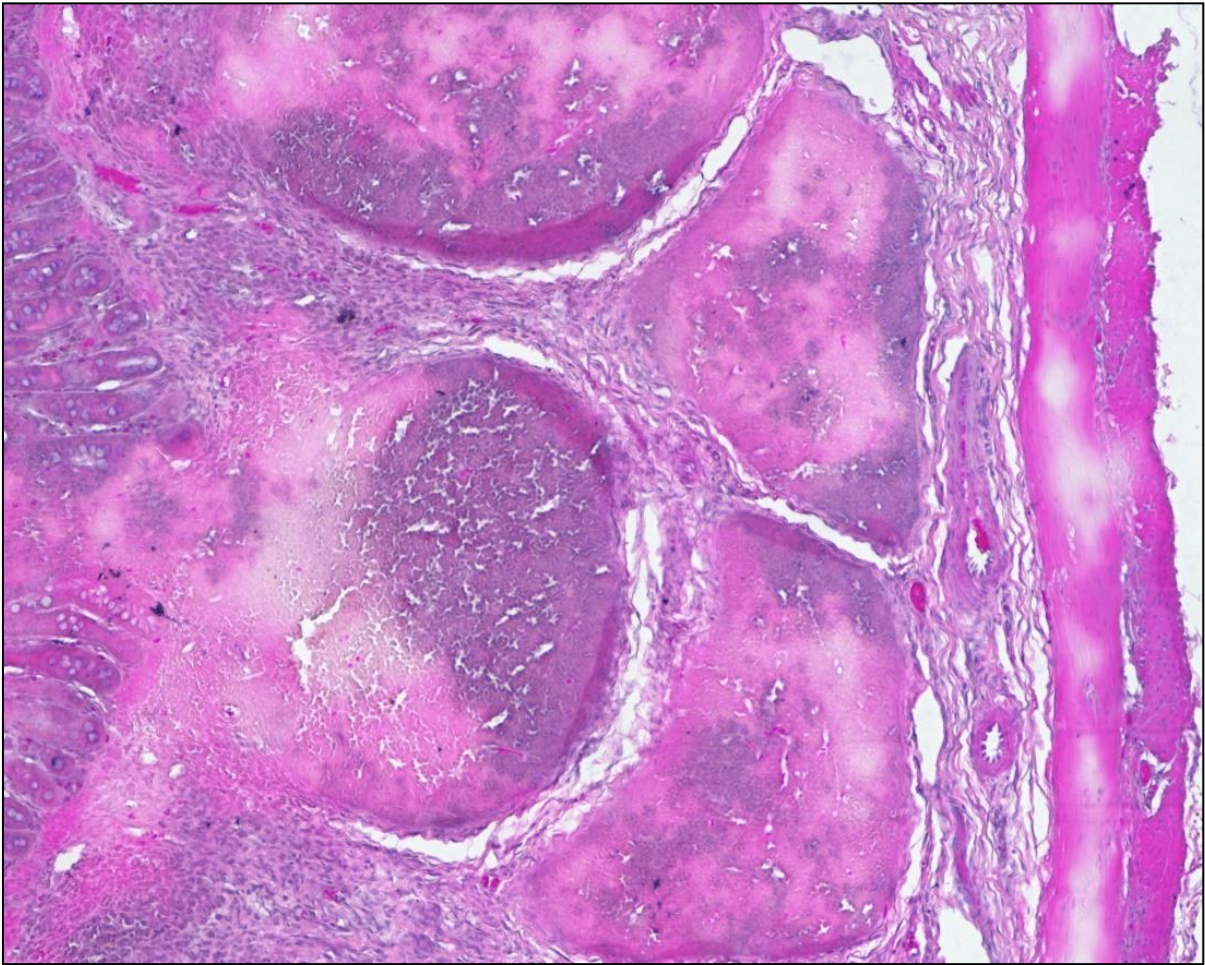


FIGURA 2 – Fotomicrografia em objetiva 10X de placas de Peyser da região ileal de suíno.

Fonte: Acervo pessoal, 2022.

ANEXO

ANEXO A – Certificado de aprovação do projeto emitido pela Comissão de Ética no Uso de Animais de Produção da Universidade Federal de Viçosa.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DE PRODUÇÃO
CEUAP/UFV

Campus Universitário – Viçosa, MG – 36370-900 – Telefone: (31) 3899.3275 – e-mail: ceuap@ufv.br – site: www.ceuap.ufv.br

Viçosa, 16 de Jun. de 2021

CERTIFICADO

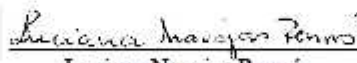
Certificamos que o projeto intitulado "Efeitos da suplementação de l-glutamina e l-glutamato em dietas com diferentes níveis de lisina para leitões", protocolo nº 031/2021, sob a responsabilidade de Gabriel Cipriano Rocha - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo chordata, subfilo vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi apreciado pela Comissão de Ética no Uso de Animais de Produção da Universidade Federal de Viçosa (CEUAP-UFV) em reunião de 19 de Maio de 2021.

Finalidade: () Pesquisa () Ensino Vigência do Projeto: de 01 de Jul. de 2021 a 31 de Dez.2021
Espécie/linhagem: Suíno (*Sus Domesticus*) Nº de animais: 250
Peso: 6 Kg Idade: 21 dias Sexo: Macho/Fêmea Origem: Fazenda Vitória. Zona Rural – Sto do Grama –MG Cadastro de Produtor Rural: Insc. Prod. Rural 0020 28 623.00-54 Responsável : Frederico Polesca Soares (CRMV-MG 10506)

CERTIFICATE

We certify that the project entitled "Effects of the supplementation of glutamine and glutamate for pigs fed diets with different lysine levels", protocol nº 031/2021, under the responsibility of Gabriel Cipriano Rocha - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum chordata, subphylum vertebrata (except man), for scientific research purposes (or education) - is in accordance with the law nº. 11.794, of October 8, 2008, Decree nº. 6899 of July 15, 2009, and the rules issued by the Brazilian National Council for Animal Experimentation Control (CONCEA), and was approved by the Ethics Commission on the use of farm animals of Universidade Federal de Viçosa (CEUAP-UFV) in its meeting on May, 19th of 2021.

Finality: () Research () Education
Duration of the Project: from Jul. 01st, of 2021 to Dec. 31th of 2021.
Species / strain: Pig (*Sus Domesticus*) Nº of animals: 250
Weight 6 Kg Age: 21 days Sex: Male/Female Source: Fazenda Vitória. Zona Rural – Sto do Grama – MG Cadastro de Produtor Rural: Insc. Prod. Rural 0020 28 623.00-54 Responsável : Frederico Polesca Soares (CRMV-MG 10506)


Luciana Navajas Rennó
Coordenadora da CEUAP/UFV