

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

INSTITUTO DE CIENCIAS AGRÍCOLAS



**ADICIÓN DE GLUTAMINA Y METIONINA EN DIETAS PARA LECHONES
RECIÉN DESTETADOS**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN ANIMAL

PRESENTA:

NICOLÁS SALVADOR ESPINOSA GARCÍA

DIRECTOR DE TESIS

DR. BENEDICTO ALFONSO ARAIZA PIÑA

La presente tesis titulada "Adición de glutamina y metionina en dietas para lechones recién destetados.", fue realizada por el alumno Nicolás Salvador Espinosa García bajo la dirección del Comité Particular abajo indicado, como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN ANIMAL

COMITÉ PARTICULAR

DIRECTOR Benedicto Araiza
Dr. Benedicto Alfonso Araiza Piña

CO-DIRECTOR Miguel Cervantes Ramírez
Dr. Miguel Cervantes Ramírez

ASESORA Adriana Morales Trejo
Dra. Adriana Morales Trejo

ASESORA Ana María Calderón de la Barca
Dra. Ana María Calderón de la Barca

ASESOR M.C. Salvador Espinoza Santana
M.C. Salvador Espinoza Santana

Mexicali, Baja California. Septiembre del 2010

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por el apoyo económico brindado durante mis estudios de postgrado.

Al Instituto de Ciencias Agrícolas, de la Universidad Autónoma de Baja California, por permitirme realizar la Maestría.

Al Dr. Benedicto Alfonso Araiza Piña, por su apoyo incondicional en el desarrollo de esta investigación, sobre todo, por su amistad y confianza.

Al Dr. Miguel Cervantes Ramírez, por sus valiosas aportaciones y facilidades otorgadas para la realización de este trabajo, además de su amistad.

A la Dra. Adriana Morales Trejo, por sus comentarios y sugerencias para mejorar la presente investigación.

Al M.C. Salvador Espinoza Santana, por la revisión y recomendaciones que perfeccionaron este trabajo.

A todos mis compañeros del Cuerpo Académico de Nutrición Animal: Miguel, Ernesto, José Luis, Edrei, David, Vianey, Estela, Héctor, Karina, Pedro, Néstor y Fernando.

Al Q.B. José René Valenzuela Miranda y al M. C. Orlando Tortoledo Ortiz, por su apoyo técnico en la determinación de poliaminas por HPLC en el laboratorio de Análisis Instrumental de la Coordinación de Nutrición.

Al personal del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. En especial, a la Dra. Ana María Calderón de La Barca, por todo el apoyo y amistad brindados en la fase de laboratorio realizada en dicha institución.

A todos, ¡mil gracias!

Dedicatoria

Principalmente, al "Rey de Reyes y Señor de Señores".

No temas, por que yo estoy contigo; no desmayes, por que yo soy tu Dios que te esfuerza; siempre te ayudare, siempre te sustentare, con la diestra de mi justicia. Isaías 41:10

A mis Queridos Padres, Elia y Nicolás, por el amor y apoyo que tienen conmigo, e inculcarme que los hechos, hablan por si solos.

A mis Lindas Hermanas, Miriam, Nohemí, Norma y Bibiana, por sus consejos, cariño, comprensión y ejemplo.

A mis Abuelos, Mercedes y Heriberto[†], por enseñarme que la base del éxito, es el trabajo.

A mi niña linda, por todo su cariño incondicional, te adoro.

A mis Amigos(as) del Postgrado, con quienes compartí momentos inolvidables, durante mi estancia en Mexicali, especialmente para Vicente, y Mario Alejandro.

A mis Compas, y Amigas de toda la vida: Nacho Chiquito, Hosky, Boss, Chiapas, Mingo, Bimbo, Piolo, Petacas, Panoayac, Karina, Tere, Lizet, Paty, Areli, Erika y Sandra.

A las personas que muestran interés en la investigación pecuaria.

Sinceramente, Salvador.

RESUMEN

Se condujeron dos experimentos con lechones recién destetados de 21 d de edad. En el primero, se evaluó la respuesta a la inclusión dietética de glutamina y metionina en dos niveles 0 y 1.5%, 0.05 y 1.05%, respectivamente, durante la primera semana postdestete. En duodeno, yeyuno e íleon se midió la altura de vellosidad (AV), profundidad de la cripta de Lieberkühn (PCL), y la concentración de putrescina, espermidina, espermina, y el total de poliaminas. Se evaluó ganancia diaria de peso (GDP), consumo diario de alimento (CDA) y eficiencia alimenticia (EA). Las dietas fueron a base de trigo, pasta de soya y aminoácidos sintéticos para satisfacer los requerimientos (NRC, 1998). Se utilizó un diseño en bloques completos al azar con arreglo factorial 2x2. En el segundo experimento, se evaluó la respuesta a la inclusión dietética de glutamina en diferentes niveles 0, 0.7, 1.4 y 2.1% durante las tres semanas postdestete, se midió GDP, CDA, y EA, la edad de los lechones y los ingredientes empleados en las dietas fueron similares a los del experimento 1. Se utilizó un diseño en bloques completos al azar. En el experimento 1, los niveles de glutamina y metionina no mostraron efectos en AV y PCL ($P > 0.01$). La concentración de espermidina y del total de poliaminas en yeyuno mejoró ($P < 0.01$) con la inclusión de glutamina. En el comportamiento productivo, la inclusión individual de 1.5% de glutamina en la dieta mejora GDP y EA ($P < 0.01$), no afectándose el CDA ($P > 0.01$). En el segundo experimento, los niveles de glutamina incrementaron GDP y EA ($P < 0.01$) durante la primera semana, sin modificar el CDA ($P > 0.01$), el comportamiento productivo en la segunda y tercera semana fue similar ($P > 0.01$).

Palabras clave: Lechones destetados, glutamina, metionina, poliaminas

ABSTRACT

Two experiments were conducted with piglets weaned 21 d of age. In the first, we evaluated the response to dietary inclusion of glutamine and methionine at two levels 0 and 1.5%, 0.05 and 1.05% respectively, during the first week after weaning. In duodenum, jejunum and ileum were measured height of villus (AV), crypt depth Lieberkühn (PCL), putrescine, spermidine, spermine, and total polyamines concentration. Was evaluated daily gain (GDP), daily feed intake (CDA) and feed efficiency (EA). The diets included wheat, soybean meal and synthetic amino acids to meet requirements (NRC, 1998). The design was a randomized complete block with 2 × 2 factorial arrangement. In second experiment, we evaluated the response to dietary inclusion of glutamine at different levels 0, 0.7, 1.4 and 2.1% during three weeks after weaning, measured GDP, CDA, and EA, the age of piglets and ingredients used in diets were similar to those in experiment 1. The design was a randomized complete block. In experiment 1, glutamine and methionine levels showed no effects on AV and PCL ($P > 0.01$). The concentration of spermidine and total polyamines in the jejunum improved ($P < 0.01$) with the inclusion of glutamine. In productive performance, individual inclusion of 1.5% of glutamine in diet improved GDP and EA ($P < 0.01$) did not affect the CDA ($P > 0.01$) during the first week, without changing the CDA ($P > 0.01$), productive performance in the second and third week was similar ($P > 0.01$).

Key words: Piglets weaned, glutamine, methionine, polyamines

CONTENIDO

RESUMEN	IV
ABSTRACT	V
ÍNDICE DE CUADROS	VIII
ÍNDICE DE GRÁFICAS Y FIGURAS.....	IX
I. INTRODUCCIÓN	10
II. REVISIÓN DE LITERATURA	12
2.1. Destete	12
2.1.1. Incidencia de diarrea al destete en lechones	12
2.1.2. Tiempo de destete.....	12
2.1.3. Ingredientes alimenticios durante el destete	13
2.2. Epitelio intestinal.....	13
2.2.1. Función metabólica del intestino	14
2.2.2. Vellosidades intestinales	14
2.2.3. Componentes de la barrera intestinal.....	15
2.2.4. Deformación del epitelio intestinal.....	16
2.2.5. Mecanismos de reparación de la barrera intestinal.....	17
2.3. Aminoácidos	17
2.3.1. Esenciales y no esenciales	18
2.3.2. Metabolismo y su función intestinal.....	20
2.4. Glutamina	21
2.4.1. Importancia	21
2.4.2. Metabolismo.....	22
2.4.3. Glutamina nutriente esencial del intestino delgado	24
2.4.4. Glutamina en la atrofia intestinal	24
2.4.5. Glutamina en la síntesis de glutamato	25
2.5. Glutamina como precursor de arginina.....	26
2.5.1. Importancia de arginina.....	27
2.5.2. Metabolismo de arginina	28
2.5.3. Arginina como precursor de ornitina.....	29
2.6. Poliaminas	31

2.6.1. Importancia	31
2.6.2. Biosíntesis	32
2.6.3. Transporte	32
2.6.4. Regulación de canales iónicos	33
2.6.5. Funciones en el crecimiento	34
2.7. Metionina	35
2.7.1. Importancia	35
2.7.2. Metabolismo	36
2.7.3. Metionina como precursor de poliaminas	36
III. JUSTIFICACIÓN	38
IV. HIPÓTESIS	40
V. OBJETIVOS	41
5.1. General	41
5.2. Específicos	41
VI. MATERIALES Y MÉTODOS	42
6.1. Localización	42
6.2. Animales y manejo	42
6.3. Tratamientos y variables de respuesta	44
6.3.1. Tratamientos	44
6.3.2. Variables de respuesta	45
6.4. Diseño experimental y modelo estadístico	48
VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	50
VIII. CONCLUSIONES	59
IX. LITERATURA CITADA	60

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Aminoácidos esenciales (AAE) y aminoácidos no esenciales (AANE) en mamíferos, peces y aves de corral (Wu, 2009)	19
Cuadro 2. Composición de las dietas experimentales (Exp. 1)	43
Cuadro 3. Composición de las dietas experimentales (Exp. 2)	44
Cuadro 4. Respuesta a la adición de glutamina y/o metionina en la primera semana postdestete en dietas para lechones, en la ganancia diaria de peso (GDP), consumo de alimento (CDA) y eficiencia alimenticia (Exp. 1)	50
Cuadro 5. Respuesta de la adición de glutamina y metionina en la primera semana postdestete en dietas para lechones, en la profundidad y altura de las vellosidades en intestino delgado (Exp. 1).....	52
Cuadro 6. Concentración de poliaminas en intestino delgado en respuesta al nivel de adición de glutamina y metionina en la primera semana postdestete en dietas para lechones (Exp. 1)	53
Cuadro 7. Ganancia diaria de peso (GDP), consumo de alimento (CDA) y eficiencia alimenticia (EA) en respuesta al nivel de adición de glutamina durante tres semanas postdestete en dietas para lechones (Exp. 2).....	57

ÍNDICE DE GRÁFICAS Y FIGURAS

Gráfica 1. Ganancia diaria de peso (GDP) en la primera semana postdestete en respuesta al consumo diario de glutamina dietética en lechones de 21 días de edad	56
Figura 1. Componentes de las vellosidades del intestino delgado (Johnson, 1988)	15
Figura 2. Estructura de la glutamina.....	21
Figura 3. Funciones de la glutamina (De Bandt <i>et al.</i> , 1998).....	23
Figura 4. Síntesis de arginina a partir de glutamina (Wu <i>et al.</i> , 1997).....	27
Figura 5. Metabolismo de glutamina y arginina (Wu, 2009)	29
Figura 6. Síntesis de poliaminas (Pegg, 2008).....	30
Figura 7. Síntesis de poliaminas a partir de metionina (Pegg, 2008)	37

I. INTRODUCCIÓN

En las granjas comerciales de cerdos, el destete es uno de los principales responsables de las pérdidas económicas, debido a que los lechones en la primera semana postdestete pierden peso, consumen poco alimento y presentan diarrea (Cranwell., 1995). Una causa importante en los efectos negativos del destete es la atrofia de vellosidades intestinales, pues existe una mayor descamación de las células intestinales en relación con su renovación, lo cual disminuye la digestión y absorción de los nutrientes (Pluske *et al.*, 1997). Las poliaminas son esenciales para el crecimiento y proliferación de las células epiteliales del intestino y tienen un papel muy importante en la maduración y renovación del intestino (Johnson, 1988).

Las poliaminas (putrescina, espermina y espermidina) presentes en calostro y leche de cerda, contribuyen a la maduración del intestino en lechones lactantes (Cheng *et al.*, 2006). La menor concentración o total ausencia de las poliaminas en la dieta de lechones al destete puede ser el causante de los cambios observados en la función y estructura del intestino después del destete. La glutamina y la metionina participan en la síntesis de poliaminas en los enterocitos de los cerdos (Wu *et al.*, 1997).

La glutamina, es considerada como un aminoácido no esencial, pero en situaciones de estrés prolongado (destete o enfermedad aguda), no se sintetiza en suficiente cantidad, convirtiéndose en un aminoácido esencial condicional (Wang *et al.*, 2009). La importancia de la glutamina radica en que interviene en diversos procesos metabólicos, además es precursor de otros aminoácidos y es un sustrato para la síntesis ATP en las células en constante multiplicación (Gerald *et al.*, 2001). En cuanto a la metionina, Shoveller *et al.* (2005), la describen como un aminoácido esencial, cuya característica es ser azufrada con cadena ramificada, y su principal función es iniciar la síntesis de proteína.

En este contexto, el presente estudio, se realizó con el propósito de evaluar el efecto de la adición de glutamina y metionina de manera individual o en combinación a la dieta de lechones destetados, en el intestino delgado. Se evaluó la altura de vellosidad, profundidad de la cripta de Lieberkühn, concentración de putrescina, espermidina y espermina, en duodeno, yeyuno e ileon; así como la ganancia diaria de peso, consumo de alimento y eficiencia alimenticia.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Destete

El destete de la misma manera que el nacimiento son momentos cruciales en la producción de cerdos, el bajo consumo de alimento y la disminución en el crecimiento posterior al destete, son las principales limitaciones en la eficiencia productiva. Los cambios producidos por el destete en la estructura y función intestinal, tales como atrofia de las vellosidades e hiperplasia de las criptas, son asociados generalmente con un comportamiento productivo deficiente, debido a que causan una disminución temporal de la capacidad digestiva y de absorción del intestino delgado (Pluske *et al.*, 1997; Kim *et al.*, 2009).

2.1.1. Incidencia de diarrea al destete en lechones

Una considerable pérdida económica en la producción de cerdos es el destete. Un factor común en las etapas de destete y postdestete es la incidencia de diarreas, la presencia de diarreas requiere de medicamento para su control, el empleo de antibióticos incrementa los costos de producción y contribuye al desarrollo de resistencia microbiana (Pluske *et al.*, 1997; Hacin *et al.*, 2008).

La incidencia de diarreas resulta de una serie de interacciones entre el tipo de alimentación, ambiente y la capacidad inmunológica del lechón. Los lechones que no soportan los desafíos infecciosos, son susceptibles a los trastornos gastrointestinales, que a su vez disminuyen el consumo y retardan el crecimiento e inclusive provocan la muerte (Hong *et al.*, 2006; Lee *et al.*, 2008).

2.1.2. Tiempo de destete

Las prácticas de manejo para mejorar la producción han evolucionado considerablemente. En granjas comerciales, existe la necesidad de mantener el tamaño de camada en partos posteriores, reducir el intervalo entre el destete y el periodo de apareamiento, así como el intervalo entre partos (Wang *et al.*, 2009).

No obstante, en la búsqueda de aumentar el número de lechones y de producción de carne de cerdo en general, ha desencadenado una reducción drástica de los días de edad al destete, que en condiciones intensivas se lleva a cabo durante la tercera o cuarta semana de edad. Aunque, de manera natural, los lechones se destetan gradualmente alrededor de la semana once y su comportamiento productivo difiere con los lechones destetados de forma precoz, puesto que el sistema digestivo está en desarrollo, lo cual aumenta el número de días necesarios para conseguir el peso a sacrificio (Abraham *et al.*, 2004).

2.1.3. Ingredientes alimenticios durante el destete

Un programa de alimentación en lechones generalmente se forma de dos etapas pre y postdestete, su uso es con la finalidad de complementar y sustituir a la leche de cerda respectivamente. En ambas dietas, los componentes básicos son granos de cereales y pastas de oleaginosas. Sin embargo, desde el punto de vista nutricional, los lechones deben ser alimentados con dietas altamente digestibles y que contengan un alto valor biológico en proteína, dentro de los ingredientes recomendables destacan los que contienen proteínas de origen animal, es decir, suero de leche, harina de huevo, plasma deshidratado, harina de pescado etcétera. Ciertamente, el empleo de estos ingredientes mejora el comportamiento productivo postdestete de los lechones, pero a su vez aumenta considerablemente el costo en la alimentación (Martelli *et al.*, 2003).

2.2. Epitelio intestinal

El epitelio intestinal es la membrana que recubre el intestino delgado y grueso. Es una parte del sistema inmunológico, que a la vez funciona como barrera y sistema de reconocimiento de primera línea para los agentes patógenos. El intestino de mamíferos está cubierto por una capa única de células epiteliales que se renueva

cada 4-5 días. Las células epiteliales en el intestino delgado son un tipo de células del borde en cepillo que se unen entre sí por uniones estrechas para formar una membrana semipermeable (Baba *et al.*, 2004; Basson, 2006).

El epitelio de la mucosa intestinal está formado por diversos tipos de células, las células absorbentes o enterocitos, las células caliciformes que secretan mucina, las células diferenciadas que son responsables de la renovación y finalmente las células de Paneth que se encargan de producir lisosimas empleadas como mecanismos de defensa antibacteriano (Basson, 2006).

2.2.1. Función metabólica del intestino

La absorción de nutrientes necesarios para el organismo y la protección inmunológica son las principales funciones del intestino delgado, se divide en tres porciones, duodeno, yeyuno e íleon. Efectivamente, como cualquier tejido, el intestino solicita de nutrientes. El transporte y la absorción de nutrientes que requiere el intestino es un gran consumidor de energía para el organismo y cuyo primordial combustible para el funcionamiento es la glutamina (Thibault *et al.*, 2005). El intestino demanda de una renovación celular rápida, la renovación de proteína intestinal representa aproximadamente 25% del volumen de consumo de proteína. El intestino como centro metabólico, participa en la gluconeogénesis y sintetiza algunos aminoácidos vitales para el cuerpo. Asimismo, el tejido linfóide del intestino es también el mayor órgano inmunológico del organismo (Thibault *et al.*, 2005).

2.2.2. Vellosidades intestinales

Las vellosidades intestinales (Figura 1), son proyecciones minúsculas, que salen de la pared del intestino delgado su función es aumentar el área de absorción, lo cual permite ampliar la filtración de nutrientes en el lumen. En la superficie de las vellosidades, se hallan también enzimas que sirven para digestión del alimento. Existen varias causas que pueden provocar la atrofia de vellosidades (ayuno

prolongado, enfermedad, destete) desencadenando una mala absorción de nutrientes (Pluske *et al.*, 1997; Ray *et al.*, 2000).

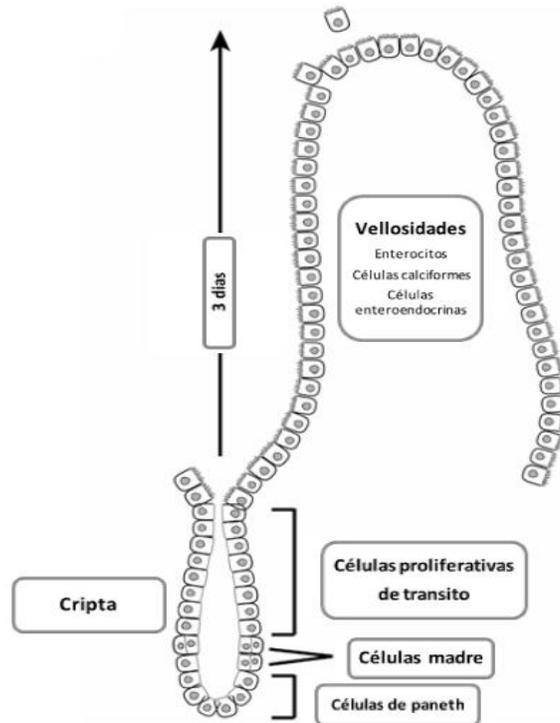


Figura 1. Componentes de las vellosidades del intestino delgado (Johnson, 1988)

Durante el destete, la atrofia de vellosidades aumenta la pérdida de células y existe un bajo índice de renovación, esto se asocia con una ampliación en la producción de criptas profundas, mientras se observa una reducción en la altura de vellosidades. La relación entre la profundidad de la cripta y la altura de vellosidad, probablemente manifieste de mejor forma el efecto negativo provocado por el destete en el funcionamiento del intestino delgado (Pluske *et al.*, 1997; Chen *et al.*, 2009).

2.2.3. Componentes de la barrera intestinal

La barrera intestinal se compone de células epiteliales, uniones estrechas y espacio lateral intercelular. Las uniones estrechas polarizan a la célula en las regiones apicales y basolaterales, las cuales regulan la difusión pasiva de los

solutos y de las macromoléculas. De hecho, la barrera intestinal sirve como la primera línea de defensa contra un ambiente hostil dentro del lumen intestinal. Los componentes naturales de defensa en la mucosa intestinal, son mecanismos que reducen la capacidad del patógeno y de sus toxinas para invadir la mucosa, asegurando la reparación rápida de defectos en la capa epitelial (Albers *et al.*, 1995; Blikslager *et al.*, 2007).

La regulación de la difusión pasiva a través de la barrera intestinal se centra en la capacidad de las uniones estrechas en permitir el paso de los solutos selectos que son beneficiosos al organismo, mientras que previenen el paso de antígenos, toxinas bacterianas y patógenos. Una vez que se interrumpe la barrera epitelial, los mecanismos epiteliales de la reparación deben reformar rápidamente una capa monomolecular epitelial continua para prevenir la absorción de las toxinas bacterianas (Blikslager *et al.*, 1997; Blikslager *et al.*, 2007).

2.2.4. Deformación del epitelio intestinal

El epitelio intestinal tiene por lo menos dos mecanismos disponibles de respuesta a deformación. El primero implica el alto estímulo de la proliferación y algunos aspectos de la diferenciación celular, además de la movilidad de inhibición de la célula, y el segundo es la movilidad de la célula mientras que impide la proliferación y el mantenimiento funcional fisiológico de la mucosa intestinal (Blikslager *et al.*, 2007). Otros mecanismos importantes de deformación, son las fuerzas físicas complejas que la mucosa intestinal experimenta, tales como, peristaltismo, movilidad de las vellosidades e interacción entre el contenido del lumen y el intestino, lo cual puede ser dañino para la mucosa y afectara su funcionamiento (Caplan *et al.*, 2001; Blikslager *et al.*, 2007).

2.2.5. Mecanismos de reparación de la barrera intestinal

Después de lesión aguda de la mucosa, se llevan a cabo tres eventos locales. A) la restauración continua y normal de la permeabilidad del epitelio. B) la contracción de vellosidades, que reduce la superficie total y el área desnuda para su pronta reparación. Y C) la migración de células epiteliales para sellar la membrana basal expuesta, con el propósito de cerrar los espacios intercelulares epiteliales y las uniones estrechas (Ray *et al.*, 2005; Blikslager *et al.*, 2007).

Estos acontecimientos se inician en pocos minutos después de la lesión y están regulados a nivel local por los mediadores derivados de una red compleja de nervios, fibroblastos, células endoteliales y la matriz extracelular subyacente en la lámina propia. Dichos eventos se llevan a cabo aproximadamente en las 24 h. posteriores al daño. No obstante, una mayor proliferación de células en la cripta, reemplazará las células perdidas y restaurará la arquitectura de vellosidades, así como la función de digestión y absorción de nutrientes (Blikslager *et al.*, 1997; Ray *et al.*, 2005; Blikslager *et al.*, 2007).

2.3. Aminoácidos

Los aminoácidos son compuestos orgánicos que contienen tanto el grupo amino como el grupo ácido unidos al carbono alfa. La configuración absoluta de los aminoácidos isómeros D o L, se define como la referencia a gliceraldehidos. Debido a las variaciones en sus cadenas laterales, los aminoácidos presentan notablemente propiedades bioquímicas y funciones diferentes, los aminoácidos generalmente son estables en solución acuosa a nivel de pH fisiológico, a excepción de la glutamina que lentamente forma piroglutamato y la cisteína que sufre una oxidación rápida y es transformada a cistina (Wu, 2009).

Excluyendo a la glicina, todos los aminoácidos pueden tener los isómeros D o L. La mayoría de los aminoácidos en forma D, a excepción de D-arginina, D-cistina, D-histidina, D-lisina, y D-treonina, pueden ser convertidos en L-aminoácidos en los

animales por medio de las oxidasas y aminotransferasas. La eficiencia de utilización de la forma D en los aminoácidos en base molar del isómero L, puede ser del 20 al 100%, dependiendo de los sustratos y de las especies (Cynober, 2002; Wu, 2009).

Entre los más de trescientos aminoácidos existentes en la naturaleza, solo veinte de ellos sirven como bloques de construcción de proteínas. Sin embargo, aminoácidos no proteicos como ornitina, citrulina y homocisteína pueden tener un importante rol en el metabolismo celular. Debido a su gran masa que representa del 40 al 45% del peso corporal, el músculo esquelético es el mayor depósito de aminoácidos en forma de proteína de donde, en caso necesario, se liberan al organismo. Durante los últimos veinte años, muchos esfuerzos han sido dirigidos hacia la definición de requisitos óptimos de los aminoácidos por especie incluyendo, cerdos, rumiantes, aves, peces y seres humanos con diversas variaciones alimenticias, condiciones ambientales, fisiológicas y patológicas (Cynober, 2002; Wu, 2009).

La mayoría de los aminoácidos comparten las mismas rutas metabólicas, y sus principales metabolitos incluyen al amoníaco, CO₂, ácidos grasos de cadena larga y corta, glucosa, cuerpos cetónicos, óxido nítrico, urea, ácido úrico, poliaminas, y otras sustancias nitrogenadas con enorme importancia biológica (Cynober, 2002; Cynober, 2004).

2.3.1. Esenciales y no esenciales

En base a las necesidades de la dieta, balance del nitrógeno o el crecimiento, los aminoácidos son clasificados tradicionalmente como esenciales (imprescindible) o no esencial (prescindible) para seres humanos y animales (Cuadro 1). Un aminoácido esencial, es definido como cualquiera de los aminoácidos cuyos esqueletos de carbono no pueden ser sintetizados, o son sintetizados en cantidad

insuficiente en relación con las necesidades del organismo, y deben ser proporcionados en la dieta (Cynober *et al.*, 1992; Wu, 2009).

Cuadro 1. Aminoácidos esenciales (AAE) y aminoácidos no esenciales (AANE) en mamíferos, peces y aves de corral (Wu, 2009)

Mamíferos y peces		Aves de corral	
AAE	AANE	AAE	AANE
Arginina	Alanina	Arginina	Alanina
Histidina	Asparagina	Glicina	Asparagina
Isoleucina	Aspartato	Histidina	Aspartato
Leucina	Cisteína	Isoleucina	Cisteína ^c
Lisina	Glutamato	Leucina	Glutamato
Metionina	Glutamina ^b	Lisina	Glutamina ^b
Fenilalanina	Glicina	Metionina	Serina
Treonina	Prolina ^c	Fenilalanina	Taurina
Triptófano	Serina	Prolina	Tirosina
Valina	Taurina ^d	Treonina	
	Tirosina	Triptófano	
		Valina	

^a arginina es un aminoácido esencial en mamíferos jóvenes ^b aminoácido esencial condicional en neonatos y situaciones de estrés ^c aminoácido esencial para cerdos y algunos peces ^d aminoácido esencial para carnívoros, neonatos y algunos peces.

Los aminoácidos esenciales condicionales, son los que normalmente pueden estar sintetizados en cantidades adecuadas por el organismo, pero deben incluirse en la dieta para satisfacer las necesidades en condiciones donde son mayores los índices de utilización, a los índices de síntesis. Igualmente, las necesidades funcionales en la reproducción y prevención de enfermedades deben ser un criterio importante para su clasificación en esenciales o esenciales condicionales (Cynober, 2004; Wu, 2009).

Finalmente, los aminoácidos no esenciales pueden ser sintetizados en cantidades adecuadas por el cuerpo para cumplir requisitos óptimos. Es reconocido que todas las proteínas y sus metabolitos, requieren de los veinte aminoácidos para la fisiología y la función normal de la célula. El metabolismo anormal de un aminoácido perturba la homeostasis del organismo, deteriorando el crecimiento y el desarrollo, pudiendo incluso causar la muerte. La mayor evidencia en los

aminoácidos demuestra que además de su papel como formadores de proteínas y polipéptidos, son reguladores importantes de las rutas metabólicas necesarias para el mantenimiento, crecimiento, reproducción, e inmunidad en los organismos (Cynober, 2004).

2.3.2. Metabolismo y su función intestinal

Varios aminoácidos no esenciales incluyendo glutamina, glutamato y aspartato son oxidados excesivamente por las células epiteliales absorbentes (enterocitos) del intestino delgado. Los productos nitrogenados como la ornitina, citrulina, arginina, y la alanina utilizan a la glutamina parenteral y del lumen para el buen funcionamiento del intestino delgado. La glutamina se sintetiza a partir de aminoácidos de cadenas conectadas y un α -cetoglutarato. Los enterocitos también degradan activamente a la prolina, debido a la oxidación de la prolina se producen, ornitina, citrulina y arginina (Wu, 1998; Wu, 2009).

En los mamíferos adultos, la citrulina del intestino delgado se convierte en arginina sobre todo en riñones y en menor grado, en otras células endoteliales. Sin embargo, los recién nacidos utilizan la mayor parte de la citrulina local para la síntesis de la arginina. No obstante, glutamina es precursor arginina, un aminoácido esencial en mamíferos jóvenes, los enterocitos de los mamíferos de edad posterior al destete tienen una limitada capacidad de catabolizar arginina. Asimismo la glutamina, vía ornitina es precursora de poliaminas, esenciales para la proliferación celular. El amoníaco generado del catabolismo intestinal de aminoácidos se utiliza localmente para la síntesis de la urea. La presencia de un ciclo funcional de la urea en los enterocitos sirve como la primera línea de defensa contra toxicidad del amoníaco en mamíferos. Metionina, fenilalanina, lisina, treonina e histidina han sido consideradas tradicionalmente como no catabolizadas en la mucosa intestinal (Wu, 1998).

2.4. Glutamina

La glutamina (figura 2) es uno de los veinte aminoácidos comunes empleados en la síntesis de proteína, es una cadena lateral de una amida del ácido glutámico, formada mediante el reemplazo del hidroxilo del ácido glutámico con un grupo funcional amino. Se trata de un aminoácido no esencial, que puede ser sintetizada a partir de alfa-cetoglutarato y ácido glutámico por la enzima glutamina sintetasa (Buchman *et al.*, 1999). Es el aminoácido más abundante en los músculos humanos (llegando a casi el 60% de los aminoácidos presentes) y está muy relacionado con el metabolismo que se realiza en el cerebro (Haynes *et al.*, 2009). Sin embargo, en ciertas circunstancias resulta necesaria su ingestión en la dieta mediante adición ya que evita la disminución del músculo debido a estrés oxidativo (Haynes *et al.*, 2009).

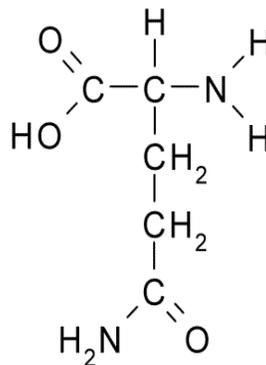


Figura 2. Estructura de la glutamina

2.4.1. Importancia

La Glutamina (Gln), un aminoácido abundante en el cuerpo, se ha considerado tradicionalmente como aminoácido no esencial, pero ahora se considera esencial condicional en el organismo bajo condición de estrés prolongado, por ejemplo en caso de infección, lesión y el destete (Li *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2008). En su papel como nutriente las células epiteliales y leucocitos del intestino delgado prefieren a la glutamina como fuente de energía, la glutamina es la llave de

muchos los procesos metabólicos, síntesis de proteína, gluconeogénesis, biosíntesis del ácido nucléico, la inmunorespuesta, y regulación del estado redox celular (Wu *et al.*, 2007). Asimismo, la inclusión dietética de la glutamina disminuye la susceptibilidad a la baja renovación de los enterocitos y de las células linfáticas (Domeneghini *et al.*, 2006), mientras que incrementa la proliferación celular y la función antioxidante en el intestino delgado (Wang *et al.*, 2008).

La importancia crucial de la circulación de glutamina luminal es favorable para conservar la integridad de la mucosa intestinal. Baskerville *et al.*, (1980), observaron que los animales que recibían la infusión intravenosa de la enzima glutaminasa desarrollaron diarrea, atrofia de vellosidades, ulceraciones y necrosis de la mucosa intestinal. De hecho, al adicionar glutamina se mantiene la altura de vellosidades intestinales, el grueso de la mucosa y de la pared intestinal en ratones (Qin *et al.*, 1996). Además, la inclusión dietética de la glutamina previene la atrofia yeyunal en lechones destetados durante la primera semana posterior al destete, lo cual mejora el crecimiento de los animales (Wu *et al.*, 1996). Asimismo, el uso de dietas enriquecidas con glutamina, acelera el transporte de aminoácidos a través de las microvellosidades intestinales (Frankel *et al.*, 1993).

2.4.2. Metabolismo

La glutamina (figura 3) es el principal donante a nivel intracelular de nitrógeno en la formación de amoniaco en la síntesis de carbamoil-fosfato, necesario para la ureogénesis (Carbamoil-fosfato sintetasa I hepático) o para la síntesis de nucleótidos (carbamoil-fosfato sintetasa II). Esta función también está incluida en la aminogénesis renal (favorecida para la acidosis). Finalmente, la glutamina forma los grupos aminos necesarios en la síntesis de hexosaminas y en consecuencia los proteoglicanos de las microvellosidades intestinales (De Bandt *et al.*, 1998; Curi *et al.*, 2005).

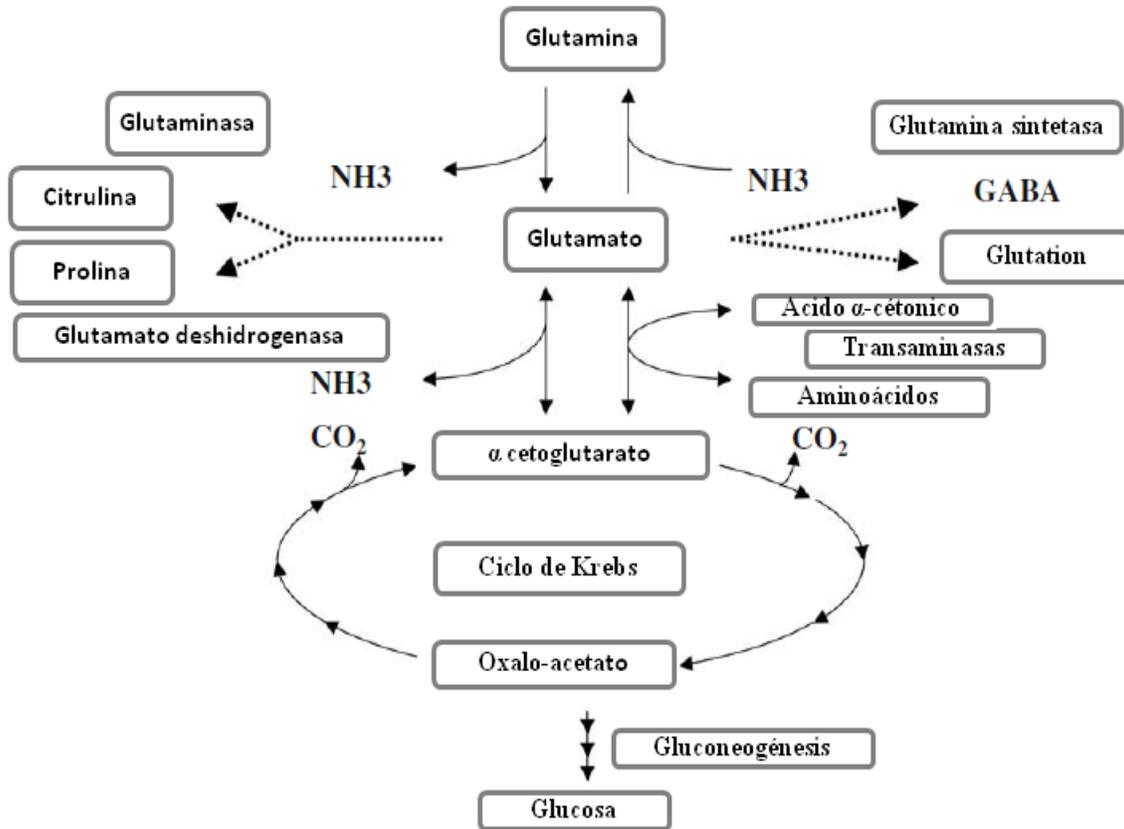


Figura 3. Funciones de la glutamina (De Bandt *et al.*, 1998)

Por medio del glutamato, la glutamina es precursor de la ornitina (mediante la ornitina aminotransferasa) y en consecuencia de la prolina (principal aminoácido del colágeno), arginina y de poliaminas, factores de proliferación celular. Por otra parte, la glutamina como el propio glutamato, es un precursor de neurotransmisores, interviniendo también en el equilibrio del ácido alfa-amino-butírico (GABA), neurotransmisor inhibitor. No obstante, debido probablemente a la compartición de funciones en el metabolismo intracelular, la glutamina parece ser el precursor preferido de glutamato, éste a su vez es necesario para la síntesis de gamma-glutamil-cisteinilglicina o glutación, que es el principal antioxidante intracelular (De Bandt *et al.*, 1998; Curi *et al.*, 2005).

Por último, la desaminación final de la glutamina conduce a la formación de α -cétoglutarato, importante substrato energético, puesto que su oxidación completa en el ciclo de Krebs produce treinta moles de ATP. Alternativamente, el α -

cétoglutarato puede utilizarse para la gluconeogénesis hepática. Ésta vía metabólica es también conocida a nivel renal, recientes trabajos pusieron de manifiesto que la gluconeogénesis intestinal podía desarrollarse esencialmente en algunas circunstancias y eso a partir de la glutamina (Curi *et al.*, 2005; Mithieux, 2005).

2.4.3. Glutamina nutriente esencial del intestino delgado

La glutamina es un aminoácido no esencial que puede ser sintetizado a partir de glutamato por la enzima glutamina ligasa. Es el combustible preferido para el intestino delgado. Los resultados encontrados en estudios animales donde se midió el efecto de la ausencia de la glutamina sobre el intestino delgado se observó, hipoplasia intestinal, un aumento creciente en la permeabilidad de macromoléculas, cambios de la viscosidad de la mucosa intestinal y disminución inmunológica debida al desplazamiento bacteriano del lumen intestinal hacia la linfa mesentérica. En contra parte, la adición de glutamina previene la disminución de la altura de vellosidades intestinales y mejora la permeabilidad de la mucosa intestinal, debido a que la glutamina es el principal sustrato de energía para los enterocitos, contribuyendo en más de dos tercios de la producción de energía de estas células (Buchman *et al.*, 1993).

El epitelio intestinal tiene una renovación de tejidos muy rápida, cuya integridad está garantizada por el equilibrio entre la proliferación de los enterocitos y la descamación en el extremo de las vellosidades. En el intestino delgado, el tiempo de renovación es de tres a cinco días (Rhoads y Wu, 2009).

2.4.4. Glutamina en la atrofia intestinal

La glutamina presenta un efecto directo sobre la proliferación de los enterocitos a través de la activación del sistema MAPK (mitógenos activados por las proteínas

quinasas), mientras que la acción de ciertos factores de crecimiento como el EGF (factor de crecimiento epidérmico) y el IGF-I (factor de crecimiento similar a insulina) son dependientes de la glutamina (De Bandt *et al.*, 1998).

En estudios *in vitro*, se ha observado que la glutamina estimula la síntesis de proteína en los enterocitos, este efecto disminuye a la glutamina disponible, lo que implica una disminución en altura y capacidad enzimática de vellosidades intestinales, aunado a un efecto opuesto en la síntesis de aminoácidos, esta acción se manifiesta en una menor protección según el deterioro de la permeabilidad intestinal y por ende reduce la protección contra infecciones (Ziegler *et al.*, 2000).

Asimismo, la glutamina es esencial para la actividad fagocítica de los macrófagos, la proliferación y la diferenciación de linfocitos, la producción de interleucina-2 para los linfocitos T, y la diferenciación de linfocitos B. Es importante señalar que el intestino, debido a su riqueza en células del sistema inmune, es uno de los principales tejidos linfoides del organismo. La glutamina es necesaria para mantener las funciones del tejido linfoide asociado al intestino y contribuye al mantenimiento integral de la barrera física e inmunología del intestino (Melis *et al.*, 2004).

2.4.5. Glutamina en la síntesis de glutamato

El aminoácido glutamato (Glu) se produce a partir de glutamina vía enzima glutaminasa en el intestino delgado (Wu, 1998). El glutamato en la dieta es casi completamente metabolizado por el intestino del lechón recién nacido durante la absorción (Hasabe *et al.*, 1999). Por otra parte, glutamato en la dieta es un precursor específico para el intestino en la síntesis de glutatión, arginina, y prolina (Wu y Morris, 1998). El glutamato es de suma importancia en el metabolismo y la fisiología intestinal. En la actualidad, los estudios sobre el papel de la inclusión de

glutamato en el tratamiento de las enfermedades intestinales son limitados (Wang *et al.*, 2008).

Utilizando un modelo en ratas, Hasebe *et al.*, (1999) informaron que glutamato podría ser un nutriente preferible que la glutamina cuando la actividad de la enzima glutaminasa en los enterocitos disminuye. Sin embargo, aún se desconoce si puede efectivamente glutamato sustituir en la dieta a la glutamina en diferentes condiciones (Wu *et al.*, 2007).

2.5. Glutamina como precursor de arginina

La glutamina es precursora de la arginina (figura 4). Arginina, es un aminoácido esencial para la síntesis de importantes moléculas, incluyendo el óxido nítrico, las poliaminas y la creatina (Wu y Morris 1998). Además, existe evidencia emergente que indica a la arginina como activadora en el camino de la señalización del mTOR en el intestino delgado (Corl *et al.*, 2008). Por lo tanto, la arginina tiene muchos papeles fundamentales en el metabolismo y fisiología de la célula, debido a que en mamíferos en etapas postdestete, el intestino delgado es un sitio importante para el metabolismo de la arginina (Wu, 1998).

El particular interés está en los enterocitos, que en la mayoría de los mamíferos (incluyendo los cerdos y los seres humanos) son responsables de la síntesis endógena de la arginina, desempeñando un papel crítico para mantener la homeostasis de la arginina en los recién nacidos (Wu *et al.*, 2004). Asimismo, una gran cantidad de estudios animales y humanos han identificado un papel importante de la arginina en la respuesta inmune en el intestino delgado (Li *et al.*, 2007).

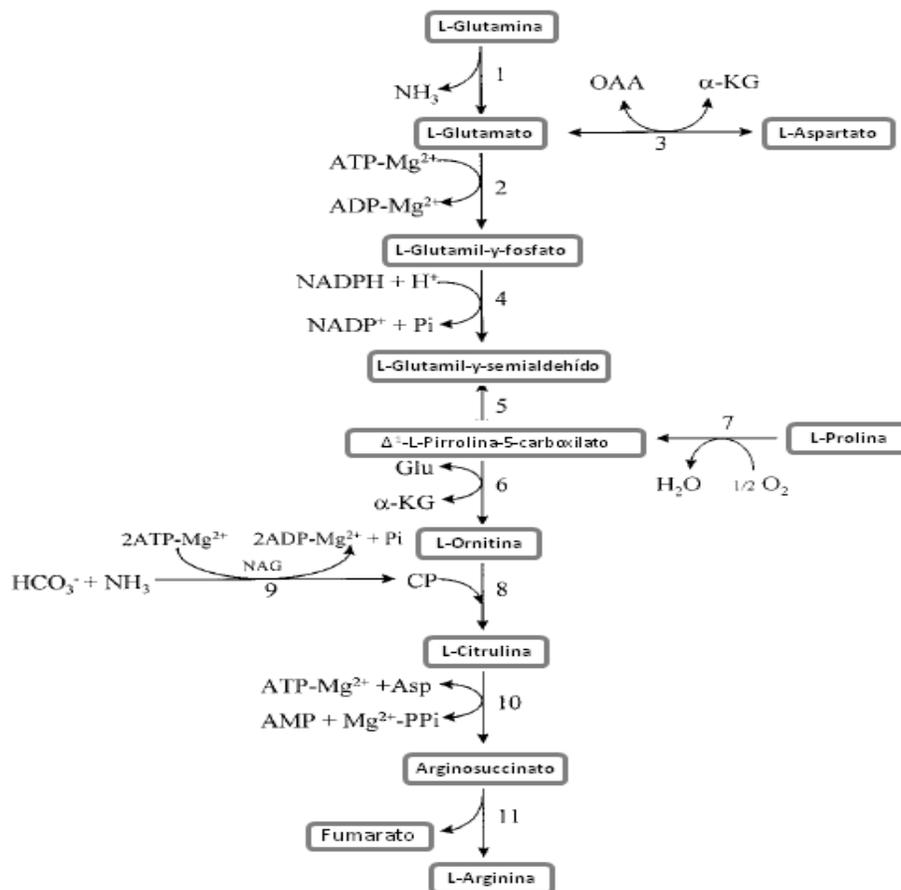


Figura 4. Síntesis de arginina a partir de glutamina (Wu *et al.*, 1997)

2.5.1. Importancia de arginina

La arginina es un aminoácido básico en líquidos fisiológicos, su contenido es relativamente alto en mariscos, pescados, semillas, algas, carnes, y proteínas del arroz (Wu *et al.*, 2007b), pero bajo en la leche de la mayoría de los mamíferos (incluyendo cerdas, vacas y seres humanos) (Wu *et al.*, 1994). De hecho, arginina en las dietas actuales es inadecuada para el máximo crecimiento de los lechones lactantes (Wu *et al.*, 2004b) y el funcionamiento reproductivo óptimo en cerdos (Mateo *et al.*, 2008). Por lo cual, la nutrición de la arginina sigue siendo una preocupación significativa en la salud de los animales, así como la producción (Wu *et al.*, 2009).

En cantidades substanciales, la arginina administrada de forma oral no se incorpora a la circulación sistémica en los adultos (seres humanos, cerdos, y ratas), pues el 40% de la arginina dietética es metabolizada en intestino delgado (Wu *et al.*, 2007b). De manera opuesta, en neonatos existe poca actividad de la enzima arginasa en los enterocitos del intestino delgado y casi toda la arginina dietética absorbida que no se utiliza localmente para la síntesis de la proteína (Wu *et al.*, 2007a), debido a que la arginina es el precursor para la síntesis del óxido nítrico (una molécula dominante en la señalización de cada tipo de célula) que regula los caminos metabólicos vitales como el ciclo de la urea (Jobgen *et al.*, 2006). Por lo cual, está creciendo el interés en la nutrición y la fisiología de la arginina, más allá de la síntesis de proteína (Yao *et al.*, 2008).

2.5.2. Metabolismo de arginina

En el organismo, la síntesis de la arginina ocurre principalmente vía el eje intestinal–renal (figura 5), donde el epitelio del intestino delgado, produce citrulina primariamente desde la glutamina y de glutamato, colaborando con las células tubulares proximales del riñón, que extraen la citrulina de la circulación y la convierte en arginina, colocándola en la circulación. Consecuentemente, anomalías intestinales o de función renal puede reducir la síntesis endógena de la arginina, haciendo necesario subir el requerimiento del aminoácido en la dieta. La adición de la arginina es eficaz en la mejora intestinal en función de la barrera y desarrollo vascular (Kim *et al.*, 2004).

Por otra parte, la lisina compite con arginina en la entrada a las células y también inhibe la actividad de la arginasa (Wu y Morris 1998). Por lo tanto, la relación dietética entre arginina:lisina, es un factor crítico que influencia el efecto de la inclusión de arginina. Bajo condiciones normales de alimentación, la cantidad total de arginina en la dieta no debe ser mayor al 150% de lisina (Wu *et al.*, 2009).

Los glucocorticoides juegan un rol importante en la regulación del metabolismo de la arginina vía la enzima arginasa en muchos tipos de la célula, particularmente hepatocitos y enterocitos (Flynn *et al.*, 2008). Durante el destete, la oleada de glucocorticoides induce la síntesis de arginasa intestinal, dando por resultado la producción elevada de la citrulina, y de la hidrólisis de arginina, lo cual incrementa la ruta metabólica del ciclo de la urea para la desintoxicación del amoníaco en los enterocitos de los lechones destetados (Wu 1995).

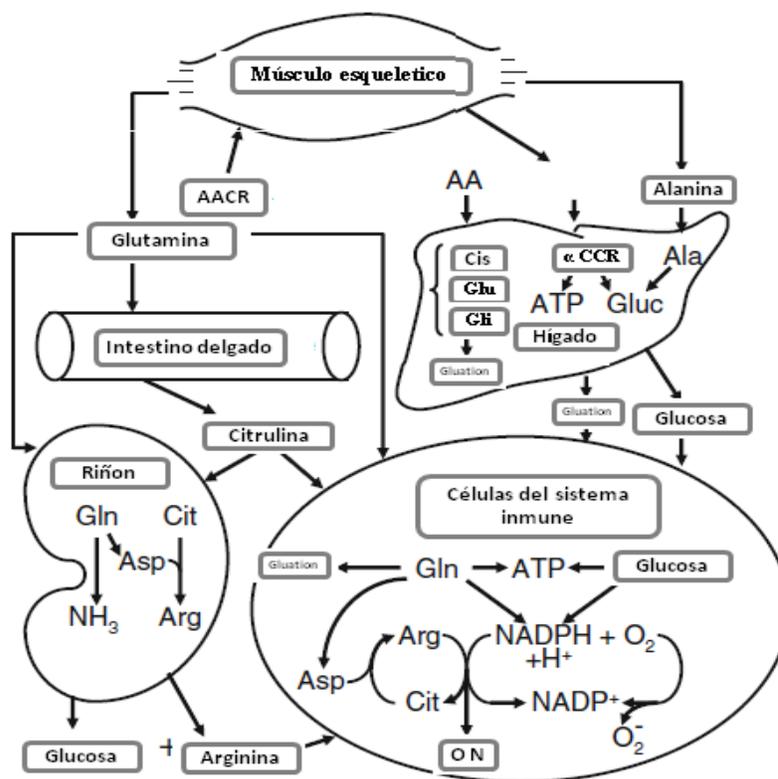
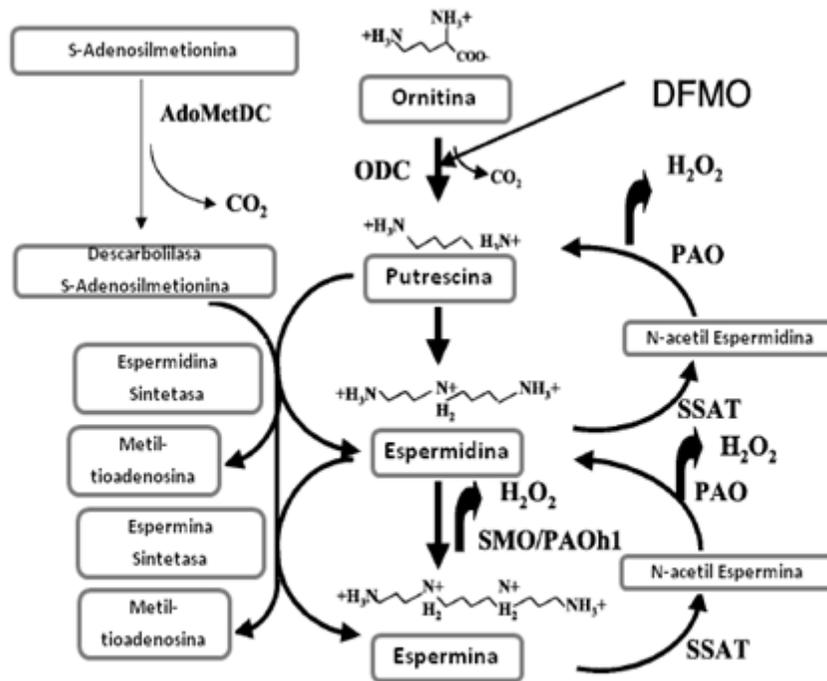


Figura 5. Metabolismo de glutamina y arginina (Wu, 2009)

2.5.3. Arginina como precursor de ornitina

El arginina se describe clásicamente como un aminoácido condicionalmente esencial, debido a que es indispensable en neonatos en crecimiento y en adultos en situación de estrés. Su síntesis hepática que es puramente local, se produce mayoritariamente a nivel renal a partir de citrulina, principalmente resultante del metabolismo intestinal de la glutamina; existe una relación directa entre la

biodisponibilidad de la glutamina y producción intestinal de citrulina en la síntesis renal de arginina (Wu *et al.*, 2009).



AdoMetDC, S-Adenosilmetionina descarboxilasa; DFMO, 2-difluorometilornitina;
 ODC, ornitina descarboxilasa; PAO, N¹-acetilpoliamina oxidasa;
 SMO, espermina oxidasa; SSAT, espermidina/espermina N¹-acetiltransferasa.

Figura 6. Síntesis de poliaminas (Pegg, 2008)

La arginina, hidrolizada por la enzima arginasa, es la responsable en la formación de la ornitina y la urea (Figura 6). Lo cual, desempeña un papel esencial en la síntesis de urea hepática e intestinal a partir del amoníaco, así como el abastecimiento de la ornitina para la síntesis de prolina, glutamato y poliaminas (Wu *et al.*, 1998; Jobgent *et al.*, 2006; Wu *et al.*, 2009). Asimismo, las poliaminas (putrescina, espermidina, y espermina) son esenciales para la proliferación, la diferenciación, y la migración de células mamíferas, incluyendo las células del epitelio intestinal (Cheng *et al.*, 2006).

2.6. Poliaminas

Las poliaminas son los cationes alifáticos de bajo peso molecular presentes en todos los organismos vivos. Su descubrimiento inicial se hizo en 1678, cuando los cristales “tres bandas” fueron descritos. Debido a que la poliaminas se produce en la alta concentración en el esperma, se asignó el nombre de espermina. La estructura química y la síntesis de estos compuestos se establecieron mucho tiempo después (1926) (Tabor and Tabor, 1984).

Espermina y espermidina son responsables del olor característico del semen, existen otras dos poliaminas de origen natural, putrescina y cadaverina, son compuestos fragmentables y volátiles derivados de la descomposición bacteriana. Ambas contribuyen al mal olor de la carne putrefacta de los cadáveres, de ahí el origen de sus nombres. Sus estructuras fueron establecidas, al igual que espermidina, en comparación con moléculas ya sintetizadas (Tabor and Tabor, 1984; Kusano *et al.*, 2008).

2.6.1. Importancia

Desde su descubrimiento, las funciones fisiológicas celulares de las poliaminas putrescina, espermidina y espermina, han sido importantes para varios estudios. Debido a su carga positiva, estos compuestos por enlaces electrostáticos pueden unirse a varias células y macromoléculas, incluyendo el ADN, ARN, y las proteínas de la cromatina, pudiendo causar la estabilización o la desestabilización. Asimismo los vínculos covalentes pueden dar lugar a la formación de enlaces cruzados de proteínas que forman los derivados citotóxicos (Sabater, 2008).

De hecho, se ha implicado a las poliaminas en múltiples procesos celulares fundamentales, incluyendo la regulación de la expresión génica, la traducción, la proliferación celular, la modulación de la señalización celular y la estabilización de la membrana (Sabater, 2008).

Varias funciones únicas de poliaminas en mamíferos han sido descubiertas. Frecuentemente, a) son los componentes de la membrana externa b) están involucradas en la formación de sideróforos, c) son importantes en la resistencia a los ácidos, d) protegen la toxicidad del oxígeno, e) juegan un papel primordial en la señalización de la diferenciación celular. Debido a la alta rotación de las células de la mucosa intestinal, el epitelio tiene un alto requerimiento de poliaminas, las cuales contribuyen al mantenimiento de la función normal intestinal, la maduración de la mucosa intestinal y su reparación posterior a la lesión (Kusano *et al.*, 2008).

2.6.2. Biosíntesis

Con algunas variaciones, las vías de biosíntesis de la poliaminas son similares en las bacterias, los animales y las plantas. La síntesis se inicia fundamentalmente a partir de dos aminoácidos precursores, L-arginina y L-metionina (Tabor and Tabor, 1984; Wu *et al.*, 2005).

La síntesis de poliaminas en los animales, es prácticamente irreversible, puesto que implica dos reacciones de descarboxilación. Su inicio es a partir de la ornitina que puede ser formada directamente de prolina por la ornitina aminotransferasa. La síntesis de poliaminas de la arginina descarboxilasa via agmatina que ha sido descrita para las bacterias y las plantas, no ha sido demostrada en las células animales. A manera de resumen, ornitina descarboxilasa, espermidina sintetasa, y espermina sintetasa, logran la síntesis secuencial de putrescina, espermidina y espermina, (Figura 6) respectivamente (Wu *et al.*, 2005).

2.6.3. Transporte

Se han propuesto varios sistemas de transporte de poliaminas en células de las plantas y los animales pero ninguno ha sido revelado a nivel molecular (Kusano *et al.*, 2008). Los resultados de los experimentos de absorción en putrescina y

espermidina, en las células de zanahoria sugirieron que la entrada de poliaminas en las células es impulsada por un transmembrana de gradiente eléctrico, con un mecanismo de antiporte posible entre externos e internos para las poliaminas. (Soulet *et al.*, 2004; Wu *et al.*, 2005).

En el primer modelo, las poliaminas se trasladan en las células a través de los transportadores conducidos por un potencial de la membrana (Pistocchi *et al.*, 1987). El segundo modelo propone un papel de las cadenas laterales del sulfato de la heparina reciclada 1 glipican (GPC1) en el transporte de la espermina, y asume que el reciclaje GPC1 es una base del transporte de la poliaminas. (Kusano *et al.*, 2008). En contraste, para las plantas un modelo que describa el sistema de transporte de la poliaminas no está todavía disponible (Soulet *et al.*, 2004).

2.6.4. Regulación de canales iónicos

La concentración intracelular total de poliaminas está en la gama de varios cientos de micromoles a algunos milimoles y se regula firmemente, pues niveles más altos de poliaminas son tóxicos a las células y conllevan a la muerte celular (Kusano *et al.*, 2008). Los niveles de las poliaminas se regulan mediante varios pasos incluyendo la síntesis, la degradación, y el transporte. En mamíferos, las poliaminas tienen efectos directos sobre varios canales y receptores de iones, dando por resultado la regulación de la homeostasis de Ca^{2+} , Na^+ y K^+ . Las poliaminas intracelulares están implicadas en la regulación de la sincronización intrínseca y de las entradas de K^+ . Por otra parte, las poliaminas, son responsables por la modificación interna del AMPA (α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-ácido isoxazolpropionico) y a través del cual se bloquea el poro del canal del receptor, evitando la entrada de Na^+ o Ca^{2+} . Por lo tanto, los cambios en los niveles intracelulares o extracelulares de las poliaminas podrían alterar la concentración de K^+ , Na^+ , o el tráfico de Ca^+ en la célula. (Oliver *et al.*, 2000).

2.6.5. Funciones en el crecimiento

Las poliaminas son consideradas esenciales para la vida, pues la inhibición de la biosíntesis de poliaminas bloquea el crecimiento de la célula. Las primeras evidencias provienen de datos en los huevos de erizo de mar. Cuando las células de huevo se tratan con un inhibidor de ornitina descarboxilasa, la hendidura del huevo se bloquea perceptiblemente, la inhibición se invierte en presencia de las poliaminas. Otros estudios en los que se bloquea las enzimas ornitina descarboxilasa o S-adenosilmetionina, se inhibe la síntesis de la espermidina y es mortal en las etapas embrionarias tempranas (Sabater, 2008).

Las poliaminas están implicadas en el crecimiento celular, sus funciones pueden ser agrupadas de la siguiente manera: A) estabilizan al ADN contra la desnaturalización, asociándose con el ARN de transferencia, B) síntesis de proteína, fijando las moléculas del ARN de transferencia a ribosomas. Y finalmente C) reacciones metabólicas, estimulando las nucleótido cinasas (Wu *et al.*, 2005).

La síntesis de las poliaminas especialmente, espermina y espermidina, aumentan progresivamente en la glándula mamaria durante los periodos de gestación y lactancia. A nivel sanguíneo, se observan mayores concentraciones de poliaminas durante las etapas de máximo desarrollo que posteriormente descienden en estado adulto (Cheng *et al.*, 2006).

Por otra parte, el tracto gastrointestinal de los mamíferos, tiende a madurar durante las primeras semanas de vida, además de adaptarse al cambio de alimentación, de la leche al alimento sólido. La actividad de las enzimas localizadas en los enterocitos se modifica con este cambio, por ejemplo, la actividad de lactasa disminuye, en contraste, las actividades de maltasa y sacarasa aumenta. Durante el funcionamiento normal del intestino, los componentes de la dieta, los factores de crecimiento y hormonas secretadas por el tracto gastrointestinal modulan las actividades del metabolismo de las poliaminas

en la mucosa intestinal, la contracción y la respuesta inmune/inflamatoria (Peulen *et al.*, 2004; Kusano *et al.*, 2008).

2.7. Metionina

La metionina es un aminoácido esencial clasificado como no polar, junto con la cisteína, es uno de los aminoácidos que contiene azufre. La metionina es un aminoácido indispensable en la dieta, ya que no puede ser sintetizada en cantidades suficientes para sostener el crecimiento normal en los mamíferos. Sin embargo, muchos tejidos del cuerpo son capaces de convertir a la metionina en cisteína a través de los procesos enzimáticos de transmetilación y transulfuración. Debido a que una parte de la metionina dietética normalmente se convierte en cisteína, numerosos estudios han demostrado que la cisteína en la dieta, puede reducir, o sustituir una parte de las necesidades de la metionina, tanto en aves como en los mamíferos (Shoveller *et al.*, 2005).

2.7.1. Importancia

El azufre que contienen los aminoácidos y sus productos metabólicos son de importancia en el crecimiento y la salud. La metionina es un aminoácido esencial nutricionalmente. Sin embargo, la cisteína se clasifica como un aminoácido semiesencial para los recién nacidos debido a una baja capacidad para convertir a la cisteína a través de transmetilación y transulfuración (Finkelstein, 2000; Shoveller *et al.*, 2005). Los productos finales principales del metabolismo de metionina y de cisteína son el glutatión, la homocisteína y la taurina, que juegan un papel importante en la respuesta inmune intestinal (Grimble, 2006).

Por otra parte, la taurina es un producto final de los aminoácidos que contienen azufre y participa en muchos procesos fisiológicos como osmorregulación, respuestas anti-oxidantes, desintoxicación, estabilización de la membrana, así como la retina y la función cardíaca (Huxtable, 1992).

2.7.2. Metabolismo

Las tres funciones metabólicas más importantes de la metionina son: 1) transmetilación, para formar donantes de metilo primarios, S-adenosilmetionina (SAM), que metila compuestos para formar productos tales como la creatina y fosfatidilcolina, lo que resulta en la metilación de homocisteína; SAM también puede ser descarboxilada para formar SAM descarboxilada, el cual participa en la síntesis de poliaminas. 2) transulfuración para formar a la cisteína, que a su vez es catabolizada para formación de la taurina o incorporada en glutatión. Y 3) la síntesis de proteínas, en la que metionina también puede entrar en el organismo por metilación de homocisteína o descomposición de la proteína (Shoveller *et al.*, 2005).

Un posible vínculo entre la transulfuración de la metionina y la función intestinal es el papel de la metionina en la renovación de las células epiteliales y el estado antioxidante. Es evidente que la disponibilidad de cisteína es importante para el mantenimiento del nivel de las células epiteliales y de las células de supervivencia. Sin embargo, probablemente la metionina puede afectar la disponibilidad de la cisteína en las células epiteliales a través de la transulfuración, y por lo tanto la función celular (Brosnan *et al.*, 2006).

2.7.3. Metionina como precursor de poliaminas

La S-adenosilmetionina (SAM) se compone de adenosina trifosfato (ATP) y metionina, en una reacción donde participa la enzima metionina adenosiltransferasa. Aunque estas reacciones anabólicas se producen en todo el organismo la mayor parte de SAM se origina y consume en el hígado. La SAM es un intermediario clave en el metabolismo de la metionina, sirve de fuente de grupos metilo y amino. En los mamíferos la mayor parte de SAM se utiliza en reacciones de metiltransferasa. La SAM puede donar su grupo metilo a una amplia

variedad de aceptores, incluidos los residuos de aminoácidos en las proteínas, ADN, ARN, moléculas pequeñas (Brosnan *et al.*, 2006).

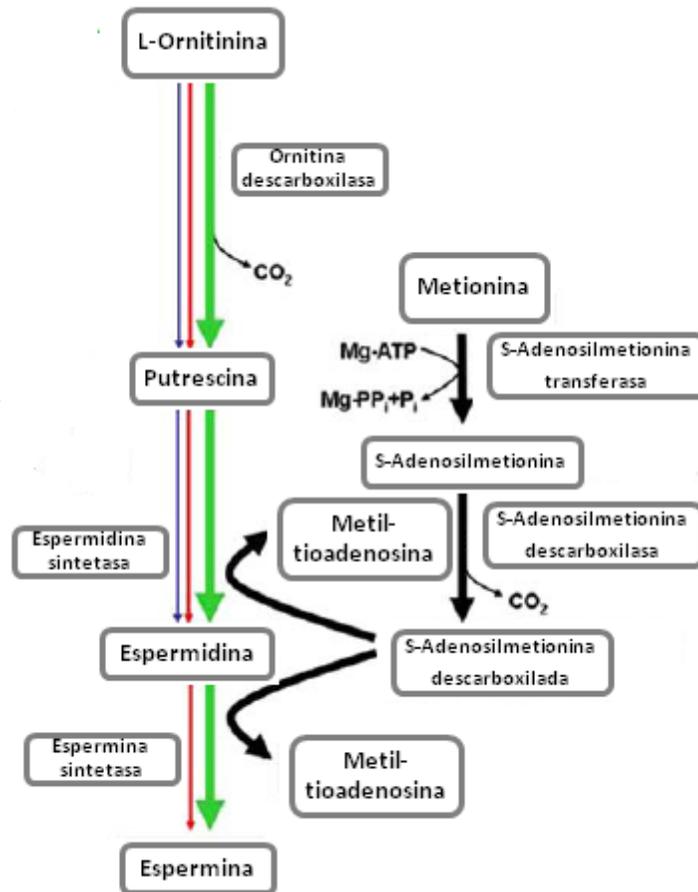


Figura 7. Síntesis de poliaminas a partir de metionina (Pegg, 2008)

La SAM es necesaria para el crecimiento y la reparación celular, una importante función es la biosíntesis de poliaminas (Figura 7). En la cual, la SAM es descarboxilada por la enzima SAM descarboxilasa. El grupo propil amino resultante se transfiere a la putrescina para originar la espermidina. Posteriormente, un segundo grupo se transfiere a la espermidina, mediante una enzima diferente, para sintetizar espermina. El otro producto de estas reacciones es la metiltioadenosina, que sufre una rotura fosfolítica a adenina y 5'-metiltiorribosa-1fosfato. Este último se emplea para sintetizar de nuevo metionina (Lehninger *et al.*, 1993).

III. JUSTIFICACIÓN

El destete es un momento de estrés en los lechones, los problemas prácticos relacionados con dicho evento son ampliamente conocidos, entre los que están las limitaciones de consumo, transición de dieta y estrés socio-ambiental. Realmente, en el postdestete, los lechones enfrentan una situación de balance energético negativo, que repercute de manera directa en su estado inmunológico (Pluske *et al.*, 1995; Le Dividich y Seve, 2000).

La transición de dieta líquida y frecuente a una dieta sólida y con menor reiteración, implica una serie de alteraciones en la fisiología digestiva. Con el retiro de la leche materna como alimento principal, ocurre una reducción drástica en el aporte de inmunoglobulinas, nutrientes esenciales y diversos factores de crecimiento como el EGF (factor de crecimiento epidérmico) y el IGF-I (factor de crecimiento similar a insulina) que necesitan de la glutamina (Wu *et al.*, 1996; De Bandt *et al.*, 1998).

Las alteraciones estructurales y funcionales del tejido intestinal, interfieren sobre la salud y el desempeño de los animales. Entre las alteraciones estructurales, destaca la disminución en la altura de las vellosidades, además de la reducción de actividad enzimática, dando como resultado una sensible baja de la capacidad de absorción de nutrientes. El efecto combinado de estos factores, limita el peristaltismo en el intestino delgado, lo cual repercute en la acumulación de un alimento rico para fermentar, que sirve de sustrato para la proliferación de bacterias patógenas y causantes de diarreas (Miller *et al.*, 1991; Pluske *et al.*, 1995).

Se han realizado diversos ensayos con el propósito de reducir el estrés del destete, empleando antibióticos, probióticos, prebióticos e inclusive la adición de aminoácidos en dieta. El aminoácido principalmente investigado por sus efectos benéficos postdestete, es la glutamina, por ser uno de los más versátiles en la fisiología y metabolismo celular. Como generalmente la glutamina abunda en las

proteínas de los tejidos vivos de los vegetales y animales, se ha recomendado tradicionalmente no incluirlo a los alimentos balanceados de animales adultos. Sin embargo, resultados de estudios recientes indican que la inclusión dietética del 1% de glutamina previene la atrofia intestinal, mejora la función inmune, así como el desempeño de lechones recién destetados (Wu *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2007).

Existen poca información del efecto de la adición de metionina en diferentes niveles, el principal interés es debido a que S-adenosil metionina derivado de metionina, participa en la síntesis de poliaminas nutrientes esenciales para la proliferación y división celular en el intestino delgado, por lo cual sería probable que un mayor adición de metionina en la dieta disminuyera el efecto negativo del destete y por ende mejoraría el comportamiento productivo. De esta manera, es fundamental señalar la importancia que tiene el desempeño de los lechones en la primera semana posterior al destete, puesto que es un excelente indicador del comportamiento en las siguientes etapas. Dicho de otra forma, de ser posible desaparecer o disminuir el efecto negativo en la primera semana postdestete, mejoraría el comportamiento general de la producción de cerdos.

IV. HIPÓTESIS

- 1) El nivel adicionado de glutamina y metionina afecta la síntesis de putrescina, espermidina, espermina y total de poliaminas en duodeno, yeyuno e íleon de lechones en la primera semana postdestete.

- 2) Los parámetros medios de las vellosidades AV, PCL y la relación entre ambas, son diferentes, dependiendo del nivel dietético de glutamina y metionina en la etapa inmediata posterior al destete.

- 3) La GDP, CDA y EA, se modifican, al incluir individualmente o en combinación glutamina y metionina en la dieta en la etapa de destete.

V. OBJETIVOS

5.1. General

Evaluar el efecto de la inclusión de diferentes niveles dietéticos de glutamina y metionina sobre la concentración de poliaminas, dimensiones de las vellosidades en la mucosa intestinal, así como los parámetros productivos, en lechones recién destetados.

5.2. Específicos

Medir la concentración de poliaminas: Putrescina, espermidina, espermina y el total de poliaminas, en duodeno, yeyuno, e íleon de lechones en la primera semana postdestete.

Comparar la respuesta a la inclusión de glutamina y metionina dietarias, sobre la histología, altura de vellosidades y profundidad de la cripta en lechones al final de la primera semana postdestete.

Calcular el nivel óptimo biológico de adición dietética de glutamina y/o metionina, que mejore el comportamiento productivo en lechones destetados.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Localización

La presente investigación, se llevó a cabo en las instalaciones de la Unidad Experimental Porcina, del Instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma de Baja California, ubicado en el Ejido Nuevo León, Mexicali, Baja California.

6.2. Animales y manejo

Experimento 1

Se utilizaron 80 lechones (Yorkshire x Landrace x Duroc) de 21 días de edad, distribuidos en 4 tratamientos con 5 repeticiones en un diseño de bloques completos al azar con arreglo factorial 2 x 2. Cada unidad experimental consistió de 4 animales; se formaron grupos homogéneos con base en edad, peso, sexo, y camada, sin permitir que lechones de una misma camada se asignaran a un mismo tratamiento. Los animales fueron alojados al azar en jaulas para destete con paredes metal (120 X 110 y altura de 70 cm), piso de plástico y equipada con bebederos automáticos, con agua y alimento a libre acceso. Las dietas empleadas (Cuadro 2) fueron a base de los ingredientes trigo-pasta de soya y aminoácidos sintéticos, formuladas para cubrir los requerimientos de nutrientes para esta etapa (NRC, 1998).

Cuadro 2. Composición de las dietas experimentales (Exp. 1)

Ingredientes, (%)	Testigo	Glutamina	Metionina	Glu+Met
Trigo	66.8	66.8	66.8	66.8
Pasta de soya (PC 47.5%)	27	27	27	27
L-Lisina	0.35	0.35	0.35	0.35
L-Treonina	0.1	0.1	0.1	0.1
DL-Metionina	0.05	0.05	1.05	1.05
L-Glutamina	0	1.5	0	1.5
Carbonato de calcio	1.26	1.26	1.26	1.26
Fosfato dicálcico	1.24	1.24	1.24	1.24
Sal yodada	0.25	0.25	0.25	0.25
Antibiótico	0.1	0.1	0.1	0.1
Sulfato de cobre	0.05	0.05	0.05	0.05
Almidón	2.5	1	1.5	0
Vitaminas y Minerales*	0.3	0.3	0.3	0.3
Total	100	100	100	100
	<u>Análisis calculado</u>			
Energía Metabolizable, (Mcal/kg)	3.17	3.17	3.17	3.1
Proteína, (%)	20.78	20.78	20.78	20.78
Lisina, (%)	1.37	1.37	1.37	1.37
Treonina, (%)	0.87	0.87	0.87	0.87
Metionina + cisteína, (%)	0.38	0.38	1.36	1.36
Calcio, (%)	0.8	0.8	0.8	0.8
Fosforo, disponible (%)	0.4	0.4	0.4	0.4

*Premezcla de vitaminas compuesta por 3000 UI de Vitamina A, 300 UI de Vitamina D3, 30 UI de Vitamina E, 2 mg de Vitamina K, 1.8 mg de Tiamina, 0.11 de Vitamina B12, 3.6 mg de Riboflavina, 0.55 mg de Ac. Fólico, 0.15 mg de Biotina, 10 mg de Pantotenato de Ca y 35 mg de Niacina. **La premezcla mineral sin Cu estuvo compuesta por 600 mg de Mg, 0.3% de K, 0.35 mg de I, 80 mg de Fe, 60 mg de Mn. 0.15 mg de Se y 40 mg de Zn. Penicilina fue el antibiótico adicionado.

Experimento 2

En el segundo experimento, se emplearon 112 lechones, con edad y cruzamiento similar a los del experimento 1. Fueron ordenados en 4 tratamientos con 7 repeticiones, cada repetición, contó con 4 cerdos. Se utilizó un diseño experimental en bloques completos al azar. Las dietas (Cuadro 3) se formularon para cubrir los requerimientos nutricionales de los cerditos en esta etapa (NRC, 1998), con ingredientes similares al experimento 1. Agua y alimento se ofrecieron a libre acceso durante el tiempo de ensayo.

Cuadro 3. Composición de las dietas experimentales (Exp. 2)

Ingredientes, (%)	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3	Nivel 4
Trigo	66.8	66.8	66.8	66.8
Pasta de soya (PC 47.5%)	27	27	27	27
L-Lisina	0.35	0.35	0.35	0.35
L-Treonina	0.1	0.1	0.1	0.1
DL-Metionina	0.05	0.05	0.05	0.05
L-Glutamina	0	0.7	1.4	2.1
Carbonato de calcio	1.26	1.26	1.26	1.26
Ortofosfato	1.24	1.24	1.24	1.24
Sal yodada	0.25	0.25	0.25	0.25
Sulfato de cobre	0.05	0.05	0.05	0.05
Almidón	2.5	1.9	1.2	0.5
Vitaminas y Minerales*	0.3	0.3	0.3	0.3
Total	100	100	100	100
	Análisis calculado			
Energía Metabolizable, (Mcal/kg)	3.17	3.17	3.17	3.1
Proteína, (%)	20.78	20.78	20.78	20.78
Lisina, (%)	1.37	1.37	1.37	1.37
Treonina, (%)	0.87	0.87	0.87	0.87
Metionina + cisteína, (%)	0.38	0.38	1.36	1.36
Calcio, (%)	0.8	0.8	0.8	0.8
Fosforo, disponible (%)	0.4	0.4	0.4	0.4

*Premezcla de vitaminas compuesta por 3000 UI de Vitamina A, 300 UI de Vitamina D3, 30 UI de Vitamina E, 2 mg de Vitamina K, 1.8 mg de Tiamina, 0.11 de Vitamina B12, 3.6 mg de Riboflavina, 0.55 mg de Ac. Fólico, 0.15mg de Biotina, 10 mg de Pantotenato de Ca y 35 mg de Niacina. **La premezcla mineral sin Cu estuvo compuesta por 600 mg de Mg, 0.3% de K, 0.35 mg de I, 80 mg de Fe, 60 mg de Mn. 0.15 mg de Se y 40 mg de Zn. No se adicionaron antibióticos.

6.3. Tratamientos y variables de respuesta

6.3.1. Tratamientos

Experimento 1

Se evaluaron dos factores: 1) El efecto de la inclusión de L-glutamina en dieta, a los niveles de: 0 y 1.5% y 2) El efecto de la inclusión de DL-metionina en dos niveles: 0.05 y 1.05% (Cuadro 2).

Experimento 2

El factor a evaluar, fue la inclusión de cuatro diferentes niveles de L-glutamina en la dieta: 0, 0.7, 1.4, y 2.1% (Cuadro 3).

6.3.2. Variables de respuesta

Experimento 1

El comportamiento productivo de la primera semana postdestete se midió con las siguientes variables: ganancia diaria de peso (GDP), consumo diario de alimento (CDA) y eficiencia alimenticia (EA). El consumo diario de alimento se calculó de la diferencia del alimento ofrecido y el rechazado. Asimismo, los animales fueron pesados semanalmente.

La evaluación de la histología intestinal se realizó como se describe a continuación. De los animales empleados en el ensayo de comportamiento productivo, se sacrificaron 20 lechones, 5 por cada tratamiento (3 machos y 2 hembras), de los cuales se obtuvieron cortes de aproximadamente 2 cm² de las secciones duodeno, yeyuno e íleon para ser procesados mediante inclusión y corte en parafina. Los cortes fueron teñidos con hematoxilina y eosina. Se realizaron 10 mediciones de altura de vellosidad (AV) y profundidad de la cripta (PCL) respectivamente, en cada una de las secciones de intestino delgado. La altura de las vellosidades y la profundidad de las criptas del intestino en duodeno, yeyuno e íleon de los lechones sacrificados se midieron con un microscopio óptico.

Para cuantificar la concentración de poliaminas en la mucosa intestinal, se procedió de acuerdo a Bardocz y White (1998). Los animales fueron los mismos empleados en morfología intestinal, a los que se les extrajo el tracto gastrointestinal identificando al intestino delgado para obtener las tres porciones (duodeno, yeyuno e íleon). A cada porción, se le efectuó un corte longitudinal, para limpiar toda el área de residuos de alimento, con solución estéril de cloruro

de sodio al 0.9%. Finalizada la limpieza, se procedió a tomar una muestra de mucosa intestinal mediante un raspado con portaobjetos, llenando un microtubo de 2 mL de capacidad. La colecta de las muestras se realizó en 15 min o menos, desde el momento del sacrificio del animal al almacenamiento de la última muestra.

Las muestras se identificaron y almacenaron a -82 °C hasta su análisis. Las variables a considerar en el presente trabajo con respecto a la concentración intestinal de poliaminas fueron las siguientes: Putrescina (PUT), espermidina (SPD), espermina (SPN), y el total (TOT). Esta última, es la suma de la concentración de las tres poliaminas, en duodeno, yeyuno e íleon.

Para la determinación de poliaminas en las muestras se utilizó cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), con un cromatógrafo Hewlett Packard serie 1100 con detector de fluorescencia, con una columna analítica de 5 mm de diámetro interno y longitud de 10 cm. Para la extracción de las muestras de mucosa, se usó el método de Clarke y Tyms (1986), con modificaciones:

- Se pesaron 0.5 g de muestra de intestino delgado homogéneo en un tubo de ensayo de 5 ml, se agregó 2.5 ml de ácido perclórico (Sigma 244252) al 10% en frío y homogenizado a 20,500 rpm durante 2 minutos (homogenizador Ultra Turrax D-79219 con un eje de 8 mm).
- Posteriormente, se centrifugó durante 25 minutos a 10,000 g, la centrifuga fue pre-enfriada a 2 °C, y se almacenó el líquido en refrigeración (4 °C). El precipitado insoluble se homogenizó con 2.5 ml de ácido perclórico al 10% en frío, y se realizó nuevamente el procedimiento anterior. El primer y segundo sobrenadante se mezclaron y se conservaron a -60 °C hasta que se realizara el análisis de poliaminas.
- Se colocaron 100 µl del líquido refrigerado en un tubo de ensayo de 2 ml, agregando 200 µl de solución saturada de carbonato de calcio y 400 µl del diluido cloruro de calcio (Sigma D-2625) / acetona (Sigma 179124) (1/100).

Dicho tubo fue cubierto con papel aluminio para ser incubado posteriormente en seco durante 60 min a 60 °C, transcurrido el periodo de incubación, se adicionó, 100 µl de dilución L-prolina (Pierce 20065) / agua grado HPLC (JT Baker 4218-0) (1/100), y nuevamente, se incubó en seco a 60 °C por 30 min.

- Para obtener las poliaminas, al tubo incubado, se agregó, 0.5 ml de tolueno (Sigma T4428), con el propósito de obtener dos fases. En una pipeta se separó, la fase superior del contenido y se evaporó con nitrógeno a baño María a 60 °C.
- Para reconstituir, se adicionó 350 µl de acetonitrilo HPLC (JT Baker 9017-03), con el fin de recolectar el contenido en los viales e inyectar y obtener el perfil de poliaminas.
- Para calcular la concentración de poliaminas, se utilizó una mezcla de estándares de putrescina (Sigma P7505), espermidina (Sigma S3265) y espermina (Sigma S2626).

Para la cuantificación de poliaminas, basado en la metodología descrita por Saarinen (2002), se emplearon dos fases móviles. La fase móvil A consistió de acetato de amonio (Sigma A-8920) 0.2 M, pH 5, agua grado HPLC (JT Baker 4218-0) y acetonitrilo HPLC (JT Baker 9017-03) (10:60:30). El pH del acetato de amonio 0.2 M, fue ajustado con ácido acético. La fase móvil B fue compuesta por acetato de amonio (Sigma A-8920) 0.2 M pH 5, agua grado HPLC (JT Baker 4218-0) y acetonitrilo HPLC (JT Baker 9017-03) (10:5:85). La longitud de fluorescencia de excitación y emisión fue de 250 y 540 nm respectivamente.

Experimento 2

El segundo experimento se realizó con la finalidad de evaluar el efecto de la inclusión de glutamina dietética en niveles diferentes, durante tres semanas posteriores al destete, en el comportamiento productivo GDP, CDA y EA de los cerdos.

6.4. Diseño experimental y modelo estadístico

Experimento 1

Se utilizó un diseño experimental en bloques completos al azar, con un arreglo factorial 2×2 , con cinco repeticiones. El modelo estadístico fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + B_k + G_i + M_j + G_i * M_j + E_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = Valor de la variable de respuesta AV, PCL, PUT, SPD, SPN, GDP, CDA, EA, en lechones destetados correspondiente al i -ésimo nivel de Glutamina j -ésimo nivel de Metionina en el Bloque k .

μ = Media general.

B_k = Efecto del k -ésimo bloque.

G_i = Efecto del i -ésimo nivel de Glutamina.

M_j = Efecto del j -ésimo nivel de Metionina.

$G_i * M_j$ = Efecto de la interacción nivel de Glutamina por el nivel de Metionina.

E_{ijk} = Error experimental, $E_{ijk} \sim N(0, \sigma^2)$.

Experimento 2

En el segundo experimento, se empleó un diseño experimental en bloques completos al azar, con siete repeticiones. El modelo estadístico fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + B_j + G_i + E_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = Valor de la variable de respuesta GDP, CDA, EA. En lechones destetados correspondiente al i -ésimo nivel de Glutamina en la repetición k .

μ = Media general.

B_k = Efecto del j -ésimo bloque.

G_i = Efecto del i -ésimo nivel de Glutamina.

E_{ijk} = Error experimental, $E_{ijk} \sim N(0, \sigma^2)$.

El análisis estadístico se realizó con el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS, (2006) versión 9.1, de acuerdo con el diseño propuesto. En el Experimento 1 se analizaron los efectos principales de glutamina y metionina y su interacción. En el Experimento 2 se realizó un análisis de regresión para determinar la mejor respuesta en comportamiento productivo a los diferentes niveles de glutamina en la dieta. Se consideró como significativa cualquier diferencia cuya P fuera mayor o igual que 0.05.

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Experimento 1

Comportamiento productivo

En el Cuadro 4, se muestran los resultados del comportamiento productivo de los lechones. El análisis de varianza muestra que en la primera semana postdestete, existe una interacción ($P < 0.01$) entre glutamina y metionina para GDP y EA. Esto indica, que la adición de 1.5% de glutamina a la dieta de manera individual, mejoró ($P < 0.01$) GDP y EA, sin afectar ($P > 0.05$) CDA. La inclusión de metionina en la dieta no afectó la respuesta productiva ($P > 0.05$).

Cuadro 4. Respuesta a la adición de glutamina y/o metionina en la primera semana postdestete en dietas para lechones, en la ganancia diaria de peso (GDP), consumo de alimento (CDA) y eficiencia alimenticia (Exp. 1)

Testigo	Glutamina	Metionina	Gln + Met	Valor de probabilidad		
				Gln	Met	Gln*Met
GDP (g/día)						
8.0 ^c ± 0.01	60 ^{at} ± 0.01	37 ^b ± 0.01	32 ^b ± 0.01	0.006	0.894	0.001
CDA (g/día)						
109 ± 0.01	121 ± 0.01	120 ± 0.01	121 ± 0.19	0.112	0.114	0.138
EA(GDP/CDA)						
0.14 ^c ± 0.12	0.45 ^{at} ± 0.11	0.28 ^b ± 0.13	0.23 ^{cb} ± 0.11	0.001	0.241	0.001

Se presenta media y error estándar de cada tratamiento, †Valores con distinta letra en un mismo renglón, son diferentes ($P < 0.05$).

Los resultados de la presente investigación muestran que la inclusión de glutamina mejora el comportamiento productivo de los animales al ser destetados. Se han realizado diversos trabajos de adición de glutamina en dietas para lechones (Wu *et al.*, 1996; Domeneghini *et al.*, 2006; Haynes *et al.*, 2009), los resultados han sido variables con una tendencia general a incrementar la ganancia de peso y la eficiencia alimenticia lo que concuerda con los resultados de la primera semana de este experimento.

Wu *et al.* (1996) observaron una mejora en la eficiencia alimenticia durante la segunda semana postdestete al adicionar glutamina en diferentes niveles, siendo 1% el nivel que mejor respuesta produjo, sin observar diferencias en la ganancia diaria de peso y el consumo de alimento al igual que la eficiencia alimenticia en las semanas 1 y 3.

Morfología intestinal

En el Cuadro 5, se presentan los resultados sobre morfología intestinal. La profundidad de las vellosidades intestinales no cambió significativamente ($P > 0.05$) por efecto de la adición de metionina y/o glutamina dietarias, en ninguna de las tres secciones de intestino: duodeno, yeyuno e íleon. Tampoco se observaron diferencias ($P > 0.05$) en la altura de las vellosidades por efecto de la adición de glutamina y/o metionina dietéticas. Sin embargo, se observó una tendencia de interacción ($P = 0.059$) entre metionina y glutamina, en la altura de vellosidades en yeyuno.

La capacidad del intestino delgado para digerir y absorber nutrientes es notablemente deteriorada en lechones destetados. Por lo tanto, el mantenimiento normal de la morfología intestinal mediante la inclusión individual de glutamina en 1.5% durante la primera semana posterior al destete se puede esperar para mejorar la digestión y absorción de nutrientes (Baba *et al.*, 2004; Basson, 2006; Hou *et al.*, 2010).

Según los resultados del Cuadro 5, no existieron diferencias en la altura de vellosidades y la profundidad de las criptas de Lieberkühn en las diferentes porciones del intestino delgado lo cual contrasta con los resultados anteriores (Wu *et al.*, 1996; Lee *et al.*, 1998) en los que incluyeron glutamina para prevenir la atrofia intestinal en cerdos y ratones, respectivamente. No obstante, se observó una tendencia de aumento ($P=0.59$) en la altura de vellosidades en yeyuno. Por lo que una recomendación importante de la presente investigación hacia estudios posteriores es incrementar en número de repeticiones así como las semanas de evaluación para las variables de morfología intestinal.

Cuadro 5. Respuesta de la adición de glutamina y metionina en la primera semana postdestete en dietas para lechones, en la profundidad y altura de las vellosidades en intestino delgado (Exp. 1)

Segmento	Testigo	Glutamina	Metionina	Gln + Met	Valor de probabilidad		
					Gln	Met	Gln*Met
Profundidad μm							
Duodeno	271 \pm 38.1	287 \pm 12.4	293 \pm 12.1	280 \pm 26.7	0.336	0.181	0.547
Yeyuno	333 \pm 28.2	264 \pm 14.6	273 \pm 12.9	281 \pm 37.6	0.257	0.434	0.158
Íleon	293 \pm 26.5	276 \pm 16.5	267 \pm 27.4	234 \pm 33.9	0.293	0.162	0.754
Altura μm							
Duodeno	259 \pm 19.6	303 \pm 18.2	320 \pm 26.3	317 \pm 25.5	0.364	0.108	0.292
Yeyuno	272 \pm 15.3	325 \pm 15.1	291 \pm 8.9	281 \pm 28.5	0.183	0.417	0.059
Íleon	284 \pm 18.9	272 \pm 21.1	266 \pm 9.1	244 \pm 26.2	0.308	0.253	0.803

Se presenta media y error estándar de cada tratamiento.

Poliaminas

La concentración de poliaminas de la mucosa intestinal, se muestra en el Cuadro 6. En yeyuno, la adición individual de glutamina a la dieta incrementó significativamente ($P = 0.03$) la concentración de espermidina, con respecto a los otros tratamientos, sin afectar ($P > 0.05$) las concentraciones individuales de putrescina y espermina. La adición de glutamina en la dieta, influyó positivamente en la concentración de poliaminas totales (TOT), es decir, la suma en la concentración de putrescina, espermidina y espermina aumentó ($P = 0.004$) en esta porción del intestino delgado. Además, la glutamina y metionina dietéticas mostraron una interacción ($P = 0.018$), en la concentración de espermidina (SPD). Esta interacción coincide con la tendencia de interacción encontrada para la altura de las vellosidades en yeyuno (Cuadro 5).

En los segmentos restantes del intestino delgado duodeno e íleon, las concentraciones de putrescina, espermidina y espermina, así como el total de poliaminas fue similar ($P > 0.05$) entre tratamientos con glutamina y/o metionina.

Los resultados de concentración intestinal de poliaminas, sugieren que la glutamina mejora la actividad de las células del epitelio intestinal. Asimismo, los resultados proporcionan evidencia en que la glutamina es un aminoácido condicionalmente esencial, especialmente en situaciones de estrés como el destete (Wu, 2009). Los resultados del cuadro 6, muestran un incremento en la concentración de espermidina y el total de poliaminas en yeyuno, debido al aumento de la síntesis de poliaminas en los enterocitos de los lechones. Probablemente, como resultado a la mayor actividad de la enzima ornitina descarboxilasa, responsable de la síntesis de poliaminas (Wu *et al.*, 2000a).

Cuadro 6. Concentración de poliaminas en intestino delgado en respuesta al nivel de adición de glutamina y metionina en la primera semana postdestete en dietas para lechones (Exp. 1)

Poliaminas	Testigo	Glutamina	Metionina	Gln + Met	Valor de probabilidad		
					Gln	Met	Gln * Met
Duodeno (mmol/g)							
Putrescina	2.09 ± 0.14	2.20 ± 0.16	1.89 ± 0.13	2.08 ± 0.14	0.498	0.437	0.984
Espermidina	3.56 ± 0.19	3.58 ± 0.15	3.58 ± 0.14	3.35 ± 0.21	0.559	0.553	0.479
Espermina	2.92 ± 0.18	2.91 ± 0.13	2.92 ± 0.16	3.03 ± 0.15	0.762	0.714	0.692
Total	8.57 ± 0.19	8.68 ± 0.31	8.48 ± 0.25	8.45 ± 0.22	0.866	0.521	0.788
Yeyuno (mmol/g)							
Putrescina	2.16 ± 0.12	2.25 ± 0.16	1.99 ± 0.12	2.18 ± 0.09	0.285	0.352	0.673
Espermidina	3.28 ^b ± 0.11	4.14 ^{a†} ± 0.15	3.46 ^b ± 0.15	3.58 ^b ± 0.15	0.003	0.213	0.018
Espermina	2.81 ± 0.15	2.97 ± 0.12	2.87 ± 0.06	3.00 ± 0.09	0.210	0.657	0.871
Total	8.25 ^c ± 0.26	9.36 ^{a†} ± 0.21	8.33 ^{bc} ± 0.23	8.76 ^b ± 0.19	0.004	0.267	0.154
Íleon (mmol/g)							
Putrescina	2.15 ± 0.09	2.25 ± 0.89	2.18 ± 0.09	2.00 ± 0.11	0.670	0.263	0.159
Espermidina	3.56 ± 0.22	3.84 ± 0.24	3.66 ± 0.18	3.53 ± 0.15	0.718	0.596	0.321
Espermina	2.85 ± 0.18	2.75 ± 0.13	2.89 ± 0.21	2.96 ± 0.12	0.804	0.366	0.686
Total	8.57 ± 0.39	8.84 ± 0.31	8.74 ± 0.32	8.49 ± 0.15	0.929	0.885	0.390

Se presenta media y error estándar de cada tratamiento, †:Valores con distinta letra en un mismo renglón son diferentes (P < 0.05).

El papel de glutamina en la síntesis intestinal de poliaminas es importante, en relación al potencial de síntesis de poliaminas en los enterocitos durante el destete. Ornitina, es precursor para la síntesis de putrescina por ornitina descarboxilasa. Sin embargo las dietas para lechones al destete contienen poca o

nula ornitina, el principal precursor de ornitina en el aminoácido arginina, que puede ser sintetizado a partir de glutamina (Wu *et al.*, 2000b). La síntesis de poliaminas a partir de arginina es la principal vía en los enterocitos al momento del destete, debido a una mayor producción de ornitina a partir de la arginina. La mayor concentración de espermidina en yeyuno puede deberse a la previa contribución de las poliaminas de la leche en la que espermidina y espermina se encuentran en mayores cantidades (Cheng *et al.*, 2006).

Finalmente, el nulo efecto observado en el comportamiento productivo, morfología y concentración intestinal de poliaminas por la adición de metionina, podría ser explicado debido a que la metionina, un aminoácido esencial, tradicionalmente es considerado como no metabolizado por la mucosa intestinal (Wu, 1998b). Sin embargo, Stoll *et al.*, (1998) reportó que aproximadamente el 50% de la metionina en la dieta se metaboliza en el primer paso intestinal, esto es importante ya que la mayoría de la cisteína en circulación se deriva de la síntesis endógena, influyendo notablemente en el metabolismo de metionina pues la conversión de metionina a cisteína es un proceso irreversible.

La metionina muestra un papel metabólico específico en las células de la mucosa intestinal (Brosnan y Brosnan, 2006). Los resultados recientes indican que la degradación de la metionina en los enterocitos del cerdo es muy pobre, pues los niveles altos para la degradación de metionina se encuentran en el hígado y sugieren que los microorganismos son los responsables del catabolismo extenso en el intestino (Chen *et al.*, 2009).

La clave en la activación de la síntesis de poliaminas putrescina, espermidina y espermina, ocurre por medio de las enzimas ornitina descarboxilasa (ODC) y S-adenosilmetionina descarboxilasa (SAMd). Las actividades de estas enzimas ocurren pocas horas después de la ingestión de alimento (Moore y Swendseid, 1983; Shoveller *et al.*, 2005). Estudios publicados han demostrado que el tiempo de respuesta de SAMd es dependiente de la actividad de ODC, ya que SAM

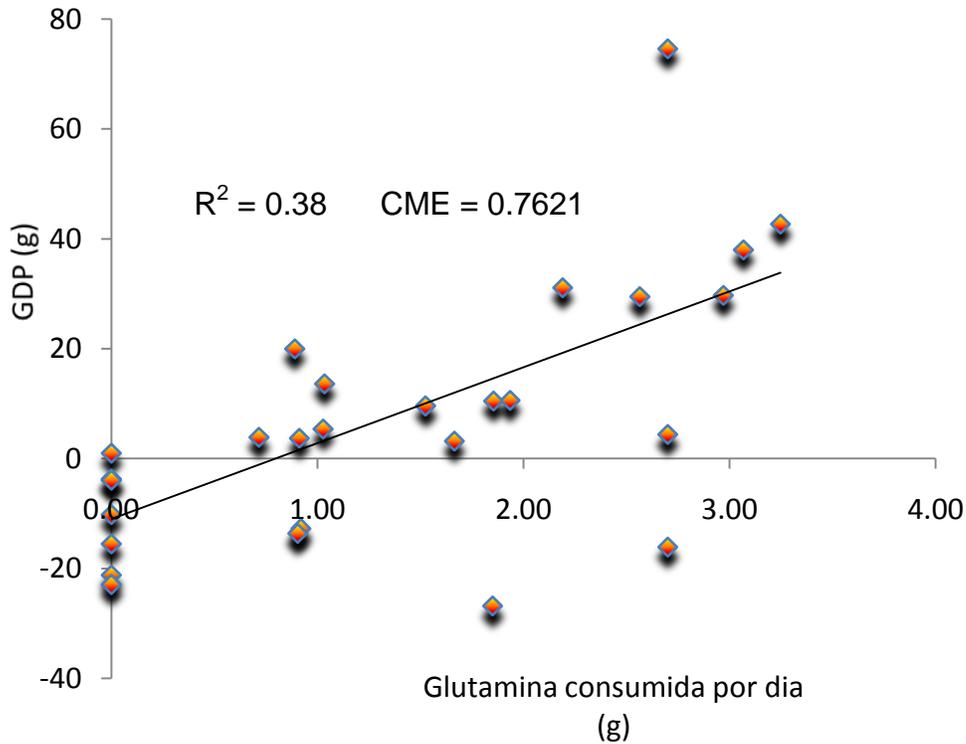
requiere de la putrescina (producto de la actividad de ODC) para formar espermidina y espermina (Brosnan y Brosnan, 2006). De hecho, en el hígado y el intestino las actividades de SAMD alcanzan su máximo antes que las actividades de ODC lo que implica que la concentración de putrescina sea insuficiente para que SAMD produzca espermidina y espermina (Moore y Swendseid, 1983). Asimismo, la coenzima S-adenosil metionina, precursora de SAMD se compone de adenosina trifosfato (ATP) y metionina, por lo que el destete en los lechones representaría una limitante para su síntesis, puesto que el organismo se encuentra en un estado de balance energético negativo (Gong *et al.*, 2008).

Experimento 2

Comportamiento productivo

Los resultados correspondientes al comportamiento productivo de los lechones en el segundo experimento, se muestran en el Cuadro 7. En la primera semana posterior al destete, los niveles de glutamina dietética incrementaron ($P = 0.0084$) la ganancia diaria de peso, siendo 2.1% el nivel con mejor respuesta. Asimismo, la eficiencia alimenticia mejoró ($P = 0.0103$) debido a los niveles de glutamina en la dieta, y al igual que en ganancia de peso, el nivel con mayor impacto (Grafica 1) fue 2.1%. Estos resultados no están relacionados con el consumo de alimento sino con una mejora en la absorción de nutrientes ya que el consumo de alimento en la primera semana fue semejante ($P = 0.1933$).

Finalmente, en la segunda y tercera semana postdestete, no se observaron diferencias significativas ($P > 0.05$) en ganancia diaria de peso, consumo diario de alimento y eficiencia alimenticia, según los niveles de inclusión de glutamina en la dieta. Sin embargo, la ganancia de peso en la primera semana influyó para que el peso acumulado de los lechones al final de las 3 semanas del estudio, fuera un 50% mayor ($P = 0.001$) que el inicial.



Gráfica 1. Ganancia diaria de peso (GDP) en la primera semana postdestete en respuesta al consumo diario de glutamina dietética en lechones de 21 días de edad

Los resultados del cuadro 7, pueden ser explicados mediante las funciones de glutamina como nutriente esencial para el intestino delgado. La glutamina, vía glutamato forma α -cetoglutarato, el cual interviene en la síntesis de oxaloacetato, y a su vez en la formación de glucosa mediante el ciclo de Krebs (Hou *et al.*, 2010). De esta manera, la glutamina es el principal sustrato energético subministrando ATP en células en constante multiplicación como son: Eritrocitos, linfocitos, macrófagos y células renales (Wu *et al.*, 1996). La glutamina estimula a los diversos factores de crecimiento en la mucosa dañada, mejorando la actividad en las vías de señalización, conduciendo en última instancia a la reparación de la barrera intestinal (Wang *et al.*, 2008).

Cuadro 7. Ganancia diaria de peso (GDP), consumo de alimento (CDA) y eficiencia alimenticia (EA) en respuesta al nivel de adición de glutamina durante tres semanas postdestete en dietas para lechones (Exp. 2)

Variable	Nivel de Glutamina en dieta (%)				P=
	0	0.7	1.4	2.1	
Primera semana					
GDP (g)	-10.9 ± 0.01	2.9 ± 0.01	12 ± 0.01	28.9 ± 0.01	0.0084
CDA (g/d)	119 ± 0.01	129 ± 0.01	130 ± 0.01	135 ± 0.01	0.1933
EA	-0.089 ± 0.02	0.021 ± 0.03	0.094 ± 0.06	0.21 ± 0.08	0.0103
Segunda semana					
GDP (g)	123 ± 0.01	122 ± 0.01	135 ± 0.01	142 ± 0.01	0.8266
CDA (g/d)	241 ± 0.01	243 ± 0.01	218 ± 0.01	214 ± 0.01	0.2979
EA	0.52 ± 0.01	0.49 ± 0.01	0.63 ± 0.01	0.67 ± 0.01	0.2602
Tercera semana					
GDP (g)	170 ± 0.01	174 ± 0.02	182 ± 0.01	184 ± 0.01	0.9104
CDA (g/d)	341 ± 0.02	346 ± 0.02	349 ± 0.01	364 ± 0.01	0.7956
EA	0.49 ± 0.03	0.47 ± 0.04	0.51 ± 0.03	0.52 ± 0.02	0.6756
Acumulada, d1 a d21					
GDP (g)	94 ± 0.01	100 ± 0.01	110 ± 0.01	118 ± 0.01	0.5818
CDA (g/día)	234 ± 0.01	239 ± 0.01	232 ± 0.01	238 ± 0.01	0.4289
EA	0.31 ± 0.02	0.33 ± 0.03	0.41 ± 0.01	0.47 ± 0.01	0.3154
Pesos (kg)					
INICIAL	4.71 ± 0.12	4.69 ± 0.13	4.73 ± 0.14	4.72 ± 0.12	0.9969
FINAL	6.69 ± 0.12	6.77 ± 0.14	7.04 ± 0.14	7.21 ± 0.12	0.0461
ACUMULADO	1.98 ± 0.01	2.1 ± 0.01	2.31 ± 0.01	2.48 ± 0.01	0.001

Se presenta media y error estándar de cada tratamiento, EA = GDP/CDA.

Por otra parte, la mucosa del epitelio intestinal es rica en glucoproteínas que son sintetizadas a partir de glucosamina 6-fosfato en cuya síntesis participa glutamina (Basson, 2007). Finalmente, arginina puede ser sintetizada a partir de glutamina en los cerdos, la arginina reduce las concentraciones plasmáticas de urea y aumenta los niveles plasmáticos de creatina y ornitina en cerdos, beneficiando la síntesis de poliaminas (Wu *et al.*, 2008). La arginina es el transportador de nitrógeno más abundante del organismo y participa en múltiples vías metabólicas (Wu *et al.*, 1997). Por lo tanto, los requisitos de la arginina en los mamíferos jóvenes (Incluidos los lechones) son particularmente altos (He *et al.*, 2009). Por lo cual, la adición en la dieta de la glutamina puede prevenir estas deficiencias.

negativas durante el destete en los lechones (Wu *et al.*, 1997; Kim *et al.*, 2004). En resumen, la adición dietética con glutamina previene la lesión intestinal y mejora la absorción de nutrientes en lechones postdestete. Los efectos de glutamina se asocian con la proliferación de células intestinales, reduciendo del estrés oxidativo y mejorando considerablemente el comportamiento productivo.

VIII. CONCLUSIONES

La adición de 1.5% de glutamina en la dieta mejora la ganancia de peso y eficiencia alimenticia de lechones recién destetados e incrementa la concentración de espermidina y el total de poliaminas en yeyuno durante la primera semana posterior al destete, sin afectar la altura y profundidad de las vellosidades intestinales, ni la concentración de putrescina y espermina.

La mejor respuesta a la adición de glutamina, en la ganancia de peso y la eficiencia alimenticia, se observa en la primera semana postdestete. No se observó efecto de adicionar metionina a la dieta en la respuesta de los parámetros productivos, vellosidades intestinales ni concentración de poliaminas.

IX. LITERATURA CITADA

- Abraham, J., Satyapaul, AK., Chandrahas. 2004.** Effect of early weaning, split weaning and nursery feeding programmes on the growth of landrace x design pings. *Trop. Anim. Health Prod.* 36:599-608.
- Albers, T. M., Lomakina, I., Moore, R. P. 1995.** Fate of polarized membrane components and evidence for microvillus disassembly on migrating enterocytes during repair of native intestinal epithelium. *Lab. Invest.* 73: 139-148.
- AOAC, 2000.** Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. 13 Ed. Washington, D.C. USA.
- Baba, R., Yamami, M., Sakuma, Y., Fujita, M., Fujimoto, S. 2005.** Relationship between glucose transporter and changes in the absorptive system in small intestinal absorptive cells during the weaning process. *Med. Mol. Morphol.* 38:47-53.
- Bardocz, S., and White, A. A. 1998.** Effect of lectins on uptake of polyamines: In *Lectin methods and protocols.* 393-405 pp, Humana Press, Totowa, NJ.
- Baskerville, A., Hambleton, P., Benbough, J. E. 1980.** Pathologic features of glutaminase toxicity. *Br. J. Exp. Pathol.* 61:132-138.
- Basson, M. D. 2007.** Effects of repetitive deformation on intestinal epithelial cells. 15: 109-114.
- Bliksladger, A., Moeser, A., Gookin, J., Jones, S. L., and Odle, J. 2007.** Restoration of barrier function in injured intestinal mucosa. *Physiol, Rev.* 87: 545-564.
- Blikslager, A. T., Roberts, M. C., Rhoads, J. M., Argenzio, R. A. 1997.** Is reperfusion injury an important cause of mucosal damage after porcine intestinal ischemia? *Surgery.* 121: 526-534.
- Brosnan, J. T., Brosnan, M. E., 2006.** The sulfur containing amino acids: An overview. *J. Nutr.* 136: 1636S-1640S.
- Buchman, A. L., MSPH, M. D. 1999.** Glutamine for the gut: mystical properties or an ordinary amino acid? 1:417-423.

- Caplan, M. S., Jilling, T. 2001.** New concepts in necrotizing enterocolitis. *Curr. Opin. Pediatr.* 13: 111-115.
- Chen, L., Li, P., Wang, J., Li, X., Gao, H., Yin, Y., Hou, Y., Wu, G., 2009.** Catabolism of nutritionally essential amino acids in developing porcine enterocytes. *Amino Acids* 37:143-152.
- Cheng, Z. B., Li, D. F., Ge, C.R. and Xing, J. J. 2006.** Polyamines in sow colostrum and milk at different stages of lactation. *Anim. Sci.* 82:95-99.
- Chung, T. K., and Baker, D. H. 1992.** Efficiency of dietary methionine utilization by young pigs. *J. Nutr.* 122:1862-1869.
- Corl, B. A., Odle, J., Niu, X. M., Moeser, A. J., Gatlin, L. A., Phillips, O. T., Blikslager, A. T., Rhoads, J. M. 2008.** Arginine activates intestinal p70(S6k) and protein synthesis in piglet rotavirus enteritis. *J. Nutr.* 138:24-29.
- Cranwell, P. D. 1995.** Development of the neonatal gut and enzyme systems. *In: The neonatal pig: development and survival* (ed. M. A. Varley), pp. 99-154, CAB International, Wallingford, UK.
- Curi, R., Lagranha, C. J., Doi, S. Q., et al. 2005.** Molecular mechanisms of glutamine action. *J. Cell. Physiol.* 204: 392-401.
- Cynober, L. 2002.** Plasma amino acid levels with a note on membrane transport: characteristics, regulation and metabolic significance. *Nutrition* 18: 761-766.
- Cynober, L. 2004.** Amino acid metabolism. *In: Encyclopedia of Biological chemistry*, Vol.1. Elsevier Inc, New-York, 90 p.
- Cynober, L., De Bandt, J. P., Lim, S. K., Giboudeau, J. 1992** Cytokines et métabolisme protéique. *Cah. Nutr. Diet.* 27: 224-228.
- De Bandt, J. P., Cynober, L. A. 1998.** Amino acids with anabolic properties. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 1: 263-72.
- Finkelstein, J. D. 2000.** Pathways and regulation of homocysteine metabolism in mammals. *Semin. Thromb. Hemost.* 26:219-225.
- Flynn, N. E., Bird, J. G., Guthrie, A. S. 2008.** Glucocorticoid regulation of amino acid and polyamine metabolism in the small intestine. *Amino acids*. doi:10.1007/s00726-008-0206-7.

- Frankel, W. L., Zhang, W., Afonso, J., Klurfeld, D. M., Don, S. H., Laitin, E., Deaton, D., Furth, E. E., Pietra, G. G., Naji, A. 1993.** Glutamine enhancement of structure and function in transplanted small intestine in the rat. *J Parenter Enteral Nutr.* 17:47-55.
- Gerald, E. L., Simone, O. H., and Chris, J. M. 2001.** Glutamine in animal science and production. *J. Nutr.* 31:2525-2531.
- Gong, Z., Yan, S., Zhang, P., Huang, Y., Wang, L., 2008.** Effects of S-adenosylmethionine on liver methionine metabolism and steatosis with ethanol-induced liver injury in rats. *Hepatol. Int.* 2:346-352.
- Grimble, R. F. 2006.** The effects of sulfur amino acids intake on immune function in humans. *J. Nutr.* 136:1660S-1665S.
- Hacin, B., Rogelj, I., Matijasic, B.B. 2008.** *Lactobacillus* isolates from weaned piglets mucosa with inhibitory activity against common porcine pathogens. *Microbiol.* 53:569-576.
- Hasebe, M., Suzuki, H., Mori, E., Furukawa, J., Kobayashi, K., Ueda, Y. 1999.** Glutamate in enteral nutrition: can glutamate replace glutamine in supplementation to enteral nutrition in burned rats? *J. Parenter. Enteral. Nutr.* 23:S78-S82.
- Haynes, T. E., Li, P., Li, X., Shimotori, K., Sato, H., Flynn, N. E., Wang, J., Knabe, D. A., Wu, G. 2009.** L-Glutamine or L-alanyl-L-glutamine prevents oxidant- or endotoxin-induced death of neonatal enterocytes. *Amino Acids* 37:131-142.
- He, Q., Kong, X., Wu, G., Ren, P., Tang, H., Hao, F., Huang R., Li, T., et al., 2009.** Metabolomic analysis of the response of growing pigs to dietary L-arginine supplementation. *Amino acids.* 37:199-208.
- Hong, T. T. T., Linh, N. Q., Ogle, B., Lindberg, J. E. 2006.** Survey on the prevalence of diarrhoea in pre-weaning piglets and on feeding systems as contributing risk factors in smallholdings in Central Vietnam. *Trop. Anim. Health Prod.* 38:397-405.

- Hou, Y., Wang, L., Ding, B., Liu, Y., Zhu, H., Liu, J., Li, Y., Wu, X., Yin Y., Wu, G., 2010.** Dietary *a*-ketoglutarate supplementation ameliorates intestinal injury in lipopolysaccharide-challenged piglets. *Amino Acids*. 10:1007/s00726-010-0473-y.
- Huxtable, R. J. 1992.** Physiological actions of taurine. *Physiol. Rev.* 72:101-163.
- Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática (INEGI), 2001.** Síntesis de información geográfica del estado de Baja California.
- Jobgen, W. S., Fried, S. K., Fu, W, J. et al 2006.** Regulatory role for the arginine-nitric oxide pathway in metabolism of energy substrates. *J. Nutr. Biochem.* 17:571-588.
- Johnson, L.R. 1988.** Regulation of gastrointestinal mucosal growth. *Physiol. Rev.* 68:456-502.
- Johnson, T. D. 1996.** Modulation of channel function by polyamines. *Trends Pharmacol. Sci.* 17:22-27.
- Kim, S. W., Wu, G., 2004.** Dietary arginine supplementation enhances the growth of milk-fed young pigs. *J. Nutr.* 134:625-630.
- Kim. S. W., and Wu, G. 2009.** Regulatory role for amino acids in mammary gland growth and milk synthesis. *Amino Acids*. 37:89-95.
- Kusano, T., Berberich, T., Tateda, C., Takahashi, Y. 2008.** Polyamines: essential factors for growth and survival. *Planta* 228:367-381.
- Lee, S. H., Prashant, S., Jaeyong, C., Munsu, P., Seho, O., Kyong, K., Son, P., Byung, J. C. 2008.** Effects of dietary iron levels on growth performance, hematological status, liver mineral concentration, fecal microflora, and diarrhea incidence in weanling pigs. *Biol. Trace Elem. Res.* 126:S57-S68.
- Lehninger, A. L., D. L. Nelson y M. M. Cox. 1993.** Principios de bioquímica. Ediciones Omega, S. A. Barcelona, España. 1013 pp.
- Li, P., Yin, Y. L., Li, D. F., Kim, S. W., Wu, G. 2007.** Amino acids and immune function. *Br. J. Nutr.* 98:237-252.
- Martelli, G., Sardi, L., Parisini, P., Mordenti, A. 2003.** Different protein sources in piglet feeding. *Vet. Res. Com.* 1:261-264.

- Mateo, R. D., Wu, G., Moon, H. K. et al 2008.** Effects of dietary arginine supplementation during gestation and lactation on the performance of lactating primiparous sows and nursing piglets. *J. Anim. Sci.* 86:827-835.
- Melis, G. C., Wengel, T. N., Boelens, P. G., Van Leeuwen. P. A. 2004.** Glutamine: recent developments in research on the clinical significance of glutamine. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 7: 59-70.
- Mithieux, G. 2005.** The new functions of the gut in the control of glucose homeostasis. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 8: 445-9.
- Moore, P., Swendseid M. E., 1983.** Dietary regulation of the activities of ornithine decarboxylase and S-adenosylmethionine decarboxylase in rats. *J. Nutr.* 113: 1927-1935.
- NRC (National Research Council). 1998.** Nutrient Requirements of Swine. 10th ed. National Academy Press, Washington, DC.
- Oliver, D., Baukowitz, T., Fakler, B. 2000.** Polyamines as gating molecules of inward-rectifier K⁺ channels. *Eur. J. Biochem.* 267:5824-5829.
- Pegg, A. E., 2008.** Spermidine/spermine-N1-acetyltransferase: a key metabolic regulator. *J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 294: E995-E1010.
- Petra, G. B., Robert, J. N., Alexanderm, P. J., Houdijk, S. M, and Paul, A. M. 2001.** Glutamine alimentation in catabolic state. *J. Nutr.* 131:2569-2577.
- Peulen, O., Deloyer, P., and Dandrifosse, G. 2004.** Short-term effects of spermine ingestion on the small intestine: a comparison suckling and weaned rats. *Reprod. Nutr. Dev.* 44:364-369.
- Pluske, J.R., Hampson, D. J., and Williams, I. H. 1997.** Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. *Livest. Prod. Sci.* 51:215-236.
- Qin, H. L., Cui, H. G., Zhang, C. H., Wu, D. W., Chu, X. P. 1996.** Effects of glutamine on structure and function of gut in endotoxemic rats. *China Natl. J. New Gastroenterol.* 2:69-72.
- Ray, R. M., Bhattacharya, S., and Johnson, L. R. 2005.** Inhibition of PP2A in polyamine depleted cells is responsible for their resistance to apoptosis. *J. Biol. Chem.* 280: 31,091-31,100.

- Ray, R. M., Viar, M. J., Yuan, Q., and Johnson, L. R. 2000.** Polyamine depletion delays apoptosis of rat intestinal epithelial cells. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 278: C480-C489.
- Redmond, H. P., Stapleton, P. P., Neary, P., Bouchier, H. D. 1998.** Immunonutrition: the role of taurine. *Nutrition* 14:599-604.
- Rhoads, J. M., Wu, G. 2009.** Glutamine, arginine, and leucine signaling in the intestine. *Amino acids.* 37:111-122.
- Riedijk, M. A., Stoll, B., Chacko, S., et al 2007.** Methionine transmethylation and transsulfuration in the piglet gastrointestinal tract. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 104:3408-3413.
- Saarinen, M.T. 2002.** Determination of biogenic amines as dansyl derivatives in intestinal digesta and feces by reversed phase HPLC. *Chromatographia.* 55: 297-300.
- Saber, Molina M. 2008.** Efectos de las poliaminas y los fructooligosacáridos de la dieta sobre la maduración intestinal en cerdos destetados precozmente. Tesis de Doctorado. Departamento de Fisiología. U. Murcia, España. 164 p.
- SAS. 2001,** SAS/STAT User's Guide. Cary N. C., USA: SAS Inc.
- Shoveller, A. K., Stoll, B., Ball, R. O., Burrin, D. G. 2005.** Nutritional and functional importance of intestinal sulfur amino acid metabolism. *J. Nutr.* 135: 1609-1612.
- Shoveller, A. K., Stoll, B., Ball, R. O., Burrin, D. G., 2005.** Nutritional and functional importance of intestinal sulfur amino acid metabolism. *J. Nutr.* 135: 1609-1612.
- Smith T. J., Schmidt T., Fang J., Wu J., Siuzdak G. and Stanley C.A. 2002.** The structure of apo human glutamate dehydrogenase details subunit communication and allostery. *J. Mol. Biol.* 318:765-77
- Soulet, D., Gagnon, B., Rivest, S., Audette, M., Poulin, R. 2004.** A fluorescent probe of polyamine transport accumulates into intracellular acidic vesicles via a two-step mechanism. *J. Biol. Chem.* 279:49355–49366.

- Stoll, B., Henry, J., Reeds, P. J. et al. 1998.** Catabolism dominates the firstpass intestinal metabolism of dietary essential amino acids in milk protein-fed piglets. *J. Nutr.* 128:606-614.
- Suryawan, A., Pamela M. J., O'Connor, S. R., Kimball, J. A., Bush, H. V., Jefferson L. S. and Davis T. A. 2004.** Amino acids do not alter the insulin-induced activation of the Insulin signaling pathway in neonatal pigs. *J. Nutr.* 134:24-30.
- Tabor, C. W., Tabor, H. 1984.** Polyamines. *Annu. Rev. Biochem.* 53:749- 790.
- Thibault, R., Coppet, P., Bourreille, A. 2005.** Inflammation decreases the expression of the butyrate transporter, MCT-1: implication for impaired butyrate utilization by intestinal mucosa in inflammatory bowel diseases. *Gastr.* 128: A497.
- Visek, W. J. 1986.** Arginine needs physiological state and usual diets. A reevaluation. *J. Nutr.* 116:36-46.
- Wang, W. W., Qiao, S. Y., Li, D. F. 2008.** Amino acids and gut function. *Amino acids.* 37:105-110.
- Wang, Y., Tang, J. W., Ma, W. Q., Feng, J., Feng, J. 2009.** Dietary zinc glycine chelate on growth performance, tissue mineral concentrations, and serum enzyme activity in weanling piglets. *Biol. Trace Elem. Res.* 133:325-334.
- Wu, G. 1995.** Urea synthesis in enterocytes of developing pigs. *Biochem. J.* 312: 717-723.
- Wu, G. 1998b.** Intestinal mucosal amino acid catabolism. *J. Nutr.* 128:1249-1252.
- Wu, G. 2009.** Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. *Amino Acids.* 37:1-17.
- Wu, G., Bazer, F. W., Cudd, T. A. et al 2007b.** Pharmacokinetics and safety of arginine supplementation in animals. *J. Nutr.* 137: 1673S-1680S.
- Wu, G., Bazer, F. W., Davis, T. A., Jaeger, L. A., Johnson, G. A., Kim, S. W., Knabe, D. A., Meininger, C. J., Spencer, T. E., Yin, Y. L. 2007a.** Important roles for the arginine family of amino acids in swine nutrition and production. *Livest. Sci.* 112:8-22.

- Wu, G., Bazer, F. W., Hu, J., Hohnson, G. A., Spencer, T. E. 2005.** Polyamine synthesis from proline in the developing porcine placenta. *Biol. Reprod.* 72:842-850.
- Wu, G., Davis P.K., Flynn N. E., Knabe D. A. and Davidson J.T. 1997.** Endogenous synthesis of arginine plays an important role in maintaining arginine homeostasis in postweaning growing pigs. *J. Nutr.* 127:2342-2349.
- Wu, G., Flynn N E., and Knabe D. A. 2000a.** Enhanced intestinal synthesis of polyamines from proline in cortisol-treated piglets. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 279:E395-E402.
- Wu, G., Flynn, N. E., Knabe, D. A., Jaeger, L. A., 2000b.** A cortisol surge mediates the enhanced polyaminesynthesis in porcine enterocytes during weaning. *J. Physiol. Reg. Inte. Comp. Physiol.* 279: R554-R559.
- Wu, G., Fuller, W. B., Davis, T. A., Kim, S. W., Li, P., Rhoads, J. M., Satterfield, M. C., Smith, S. B., Spencer, T. E., Yin, Y. 2009.** Arginine metabolism and nutrition in growth, health and disease. *Amino acids* 37:153-168.
- Wu, G., Jaeger, L. A., Bazer, F. W., Rhoads, J. M. 2004a.** Arginine deficiency in premature infants: biochemical mechanisms and nutritional implications. *J. Nutr. Biochem.* 15:442-451.
- Wu, G., Knabe, D. A. 1994.** Free and protein-bound amino acids in sow's colostrum and milk. *J. Nutr.* 124:2437-2444.
- Wu, G., Knabe, D. A., Kim, S. W. 2004b.** Arginine nutrition in neonatal pigs. *J. Nutr.* 134: 2390S-2783S.
- Wu, G., Meier, S.A., and Knabe, D. A. 1996. Dietary glutamine supplementation prevents jejunal atrophy in weaned pigs.** *J. Nutr.* 126:2578-2584.
- Wu, G., Morris, S. M. 1998a.** Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. *J. Biochem.* 336:1-17.
- Yao, K., Yin, Y. L., Chu, W. Y. et al. 2008.** Dietary arginine supplementation increases mTOR signaling activity in skeletal muscle of neonatal pigs. *J. Nutr.* 138:867-872.
- Ziegler, T. R., Bazargan, N., Leader, L. M., Martindale, R. G., 2000.** Glutamine and the gastrointestinal tract. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 3