

01674



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN
Y DE LA SALUD ANIMAL

EFFECTO DE LA ADICCIÓN EN LA DIETA DE L-GLUTAMINA
SOBRE LA CAPACIDAD DIGESTIVA Y EL SISTEMA INMUNE
INTESTINAL DEL LECHÓN DESTETADO PRECOZMENTE

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:
HECTOR HERRERA GUTIERREZ

TUTOR:
DR. GERMÁN BORBOLLA SOSA

COMITE TUTORIAL:
DR. GERARDO MARISCAL LANDÍN
DR. HUMBERTO RAMIREZ MENDOZA



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Índice.

ÍNDICE.....	I
LISTA DE CUADROS.....	III
LISTA DE FIGURAS.....	IV
INTRODUCCIÓN.....	1
Destete Temprano.	1
Ventajas del destete temprano.....	2
Efectos negativos del destete en el lechón.....	4
Efectos del Destete sobre el Intestino Delgado.....	5
Ontogenia del intestino delgado.	7
Requerimientos del intestino.....	13
Sistema inmune intestinal.	14
Gastroenteritis Transmisible (GET).	16
Glutamina.	19
Glutamina y el intestino delgado.....	21
Glutamina e inmunidad.....	24
JUSTIFICACIÓN.....	26
OBJETIVO.....	27
HIPÓTESIS.....	28
MATERIAL Y MÉTODOS.....	29
Localización.	29
Animales y Alojamiento.	29
Tratamientos.	30
Toma de Muestras.	31
Variables de respuesta.	32
Parámetros productivos.....	32
Histología.....	32

Aislamiento viral.....	32
Técnica de Prueba de Microtitulación para Gastroenteritis Transmisible.....	33
Técnica de micro sueroneutralización para Gastroenteritis Transmisible.....	34
Técnica de ELISA.....	35
Procedimiento.....	36
Cálculos.....	37
Interpretación de resultados.....	37
Diseño Experimental.....	38
RESULTADOS.....	39
Parámetros productivos.....	39
Pesos y Ganancia Diaria de Pesos.....	39
Consumo diario de alimento.....	41
Conversión alimenticia.....	43
Mediciones histológicas.....	45
Comparación entre los diferentes días de observación para los tratamientos y las diferentes porciones intestinales.....	45
Profundidad de las criptas.....	45
Altura de las Vellosidades.....	47
Proporción Vellosidad : Cripta.....	49
Comparación entre los diferentes tratamientos para las diferentes porciones intestinales.....	51
Altura de las vellosidades.....	53
Radio Vellosidad : Cripta.....	55
Serologías mediante la prueba de ELISA.....	57
Prueba de Suero Neutralización.....	57
Aislamiento Viral.....	60
DISCUSIÓN.....	61
CONCLUSIONES.....	64
BIBLIOGRAFÍA.....	65

Lista de cuadros.

Cuadro 1. Efecto de la adición en la dieta de L-Glutamina sobre los Pesos y Ganancia diaria de peso de lechones destetados precozmente e inoculados con el virus de gastroenteritis transmisible a los 4 días posteriores al destete.....	40
Cuadro 2. Efecto de la adición en la dieta de L-Glutamina sobre el consumo diario de alimento (CDA) de cerdos destetados precozmente e inoculados con el virus de gastroenteritis transmisible a los 4 días posteriores al destete.....	42
Cuadro 3. Efecto de la adición de L-Glutamina en la dieta sobre conversión alimenticia (C. A.) de cerdos destetados precozmente e inoculados con el virus de gastroenteritis transmisible a los 4 días posteriores al destete.....	43
Cuadro 4. Efecto de la adición en la dieta de L-Glutamina en la dieta sobre la profundidad de las criptas de cerdos destetados precozmente e inoculados con el virus de gastroenteritis transmisible a los 4 días posteriores al destete; comparación entre los valores basales (día 0) y los diferentes periodos de registro.....	46
Cuadro 5. Efecto de la adición en la dieta de L-Glutamina sobre la altura de las vellosidades de cerdos destetados precozmente e inoculados con el virus de gastroenteritis transmisible a los 4 días posteriores al destete; comparación entre los valores basales (día 0) y los diferentes periodos de registro.....	48
Cuadro 6. Efecto de la adición en la dieta de L-Glutamina sobre el radio vellosidad : cripta de cerdos destetados precozmente e inoculados con el virus de gastroenteritis transmisible a los 4 días posteriores al destete; comparación entre los valores basales (día 0) y los diferentes periodos de registro.....	50
Cuadro 7. Efecto de la adición en la dieta de L-Glutamina sobre la profundidad de las criptas de cerdos destetados precozmente e inoculados con el virus de gastroenteritis transmisible a los 4 días posteriores al destete; comparación entre tratamientos.....	52
Cuadro 8. Efecto de la adición en la dieta de L-Glutamina sobre la altura de vellosidades en cerdos destetados precozmente e inoculados con el virus de gastroenteritis transmisible a los 4 días posteriores al destete; comparación entre tratamientos.....	54
Cuadro 9. Efecto de la adición en la dieta de L-Glutamina sobre el radio vellosidad : cripta en cerdos destetados precozmente e inoculados con el virus de gastroenteritis transmisible a los 4 días posteriores al destete; comparación entre tratamientos.....	56
Cuadro 10. Efecto de la adición en la dieta de L-Glutamina, sobre la seroconversión de cerdos destetados precozmente y desafiados al virus de la gastroenteritis transmisible.....	58
Cuadro 11. Efecto de la adición en la dieta de L-Glutamina, sobre la seroconversión de cerdos destetados precozmente y desafiados al virus de la gastroenteritis transmisible.....	59

Lista de Figuras.

Figura 1. Efecto de la adición de L - Glutamina en la dieta sobre el peso de cerdos destetados precozmente e inoculados con el virus de gastroenteritis transmisible a los 4 días posteriores al destete.....	40
Figura 2. Efecto de la adición en la dieta de L- Glutamina sobre la ganancia diaria de peso (GDP), en cerdos destetados precozmente e inoculados con el virus de gastroenteritis transmisible a los 4 días posteriores al destete.....	41
Figura 3. Efectos de la suplementación de L-Glutamina sobre el consumo diario de alimento (CDA), en cerdos destetados precozmente e inoculados con el virus de gastroenteritis transmisible a los 4 días posteriores al destete.....	42
Figura 4. Efecto de la adición en la dieta de L- Glutamina sobre la Conversión alimenticia (C.A.) de cerdos destetados precozmente e inoculados con el virus de gastroenteritis transmisible a los 4 días posteriores al destete.....	44
Figura 5. Efecto de la adición en la dieta de L-Glutamina sobre la profundidad de las criptas en diferentes días posteriores al destete (14 días) e inoculados con el virus de GET a los 4 días posdestete.....	46
Figura 6. Efecto de la adición en la dieta de L-Glutamina sobre la altura de las vellosidades en diferentes días posteriores al destete (14 días) e inoculados con el virus de GET a los 4 días posdestete.....	48
Figura 7. Gráfica 7. Efecto de la adición en la dieta de L-Glutamina sobre el radio vellosidad : cripta, en diferentes días posteriores al destete (14 días) e inoculados con el virus de GET a los 4 días posdestete.....	50
Figura 8. Efecto de la adición en la dieta de L-Glutamina sobre la profundidad de las criptas intestinales en cerdos destetados precozmente e inoculados con virus de GET al día 4 posterior al destete.....	52
Figura 9. Efecto de la adición en la dieta de L-Glutamina sobre la altura de las vellosidades intestinales en cerdos destetados precozmente e inoculados con virus de GET al día 4 posterior al destete.....	54
Figura 10. Efecto de la adición en la dieta de L-Glutamina sobre el radio vellosidad : cripta en cerdos destetados precozmente e inoculados con virus de GET al día 4 posterior al destete.....	56

Introducción.

La producción porcina, ha evolucionado con el tiempo de una actividad meramente familiar y de autoconsumo, a una industria de gran importancia económica que genera grandes cantidades de proteína de alta calidad biológica. Como ejemplo, México durante el 2001 logró una producción de carne de cerdo de 1, 143, 580 ton, con un valor estimado de 19, 925.1 millones de pesos.¹

En esta industrialización de la porcicultura, se han desarrollado métodos de producción que la hacen más eficaz y eficiente, enfocadas en aminorar el impacto de las enfermedades y aumentar su rentabilidad. La disminución de la edad al destete, es una de estas prácticas empleadas para alcanzar dichas metas, pasando de un destete de 15 - 22 semanas de edad en estado silvestre,² a un destete temprano que puede ser menor a 21 días;³ no obstante en los países integrantes de la Comunidad Europea una menor edad no está permitida.⁴

Los animales pasan por un periodo crítico de adaptación al inicio del destete, como una consecuencia de la corta edad a la que son separados de la madre, expresado por una caída en su crecimiento y susceptibilidad a enfermedades, que representan pérdidas económicas a las empresas cuando las instalaciones, manejos sanitarios, zootécnicos y programas nutricionales no son los adecuados. Una gran cantidad de investigaciones se han enfocado al área nutricional, con el propósito de evitar o disminuir la caída en el crecimiento al inicio del destete, logrando así, expresar el potencial de las modernas líneas genéticas.⁵

Destete Temprano.

El destete precoz o temprano, tiene sus inicios en los años 50's, con el desarrollo de programas de producción de cerdos libres de patógenos específicos (SPF, de sus siglas en inglés), obtenidos bajo intensa medicación, y enfocado a cerdos de 5 a 10 días de edad. El sistema implicaba altos costos de producción, por medicación, con el fin de reducir la diseminación de agentes infecciosos entre las piaras.^{2,6} La necesidad de obtener cerdos más saludables tomó mayor importancia con la intensificación de la producción en los Estados Unidos durante los años 60's y 70's, cuando se dificultó el control de las enfermedades. Aun así, los productores no implementaron el sistema SPF de alta salud por su alto precio, el incierto costo : beneficio de la implementación del programa y el posible costo de repoblar si la pira era re infectada; fue hasta los 80's en que los métodos de destete temprano medicado (MEW), Todo dentro – Todo fuera y Destete Aislado (ISOWEAN ®) fueron disponibles y adoptados rápidamente por la industria porcina. Basado en esta tecnología, el National Pork Producer's Genetic

Evaluation Committee de los E. U., inició un esquema de Destete Temprano Segregado (SEW), para mantener el estatus sanitario de los cerdos usados en su programa,⁷ y desde entonces, los sistemas de producción intensiva en Estados Unidos, México y otras partes del mundo, han adoptado estos métodos por ser identificados como un factor que va asociado con la alta productividad.^{8, 9}

Los componentes más importantes de estos sistemas son: la temprana edad al destete (menor a 21 días) y la segregación; en segundo término se encuentra la vacunación y la medicación, aunque la eliminación de ciertos patógenos requiere la combinación de estos elementos.¹⁰ El fundamento que apoya el destete temprano, como un sistema de alta salud, se establece en cortar los ciclos de enfermedad, evitando la transmisión vertical de patógenos entre la cerda y su camada. Dependiendo de la edad a la cual son destetados los cerdos, es el tipo de patógeno que se puede erradicar; entre menor sea el periodo de lactancia, una mayor variedad de organismos se eliminan.³

Es importante mencionar, que las metodologías del destete temprano no solucionan todos los problemas sanitarios, ya que existen patógenos que no pueden ser eliminados (Ejem: *Streptococcus suis*, *PRRS*, *Lawsonia intracellularis*).^{11,12} Hay que tomar en cuenta, que la incorrecta implementación de estos sistemas, ya sea por la falta de un completo entendimiento de las reglas primordiales que les aplican, o por la incomprensión de los ciclos de infección, de los patógenos que se quieren erradicar, existe la posibilidad de reinfección en la piara.^{3,13}

Ventajas del destete temprano.

Conjuntamente con las ventajas que ofrece sobre el control de enfermedades, también se observa un incremento en la productividad del pie de cría, al incrementar el número de partos por cerda por año y con ello un mayor número de cerdos finalizados por cerda,¹⁴ así como la optimización de las instalaciones de maternidad, al aumentar la capacidad instalada en un tercio por cada semana que se reduzca la edad al destete¹⁵ y un menor desgaste de la cerda, por efecto del menor periodo de lactancia.^{16,17}

Destetar a los cerdos a temprana edad, proporciona la oportunidad de aumentar el consumo de materia seca en el lechón. No obstante que la leche de la cerda es un excelente alimento para el cerdo recién nacido, por estar perfectamente adaptado el sistema digestivo para digerir y absorber todos los nutrientes que esta aporta, es a partir del 10° día de lactancia en promedio, que la cantidad de nutrientes que suple la leche son insuficientes¹⁸ para expresar todo el potencial de crecimiento magro de las nuevas líneas genéticas, a causa de la baja cantidad de materia seca (20%), y la posible deficiencia en algunos aminoácidos como la Arginina;¹⁹ además, la composición de la leche favorece el aumento de la grasa corporal necesaria en un ambiente silvestre, como una medida de aislamiento del cuerpo ante el medio, pero esta es innecesaria en una producción con ambiente

controlado. La carente capacidad de la leche para expresar el potencial de crecimiento se ha comprobado en varios estudios, donde cerdos alimentados con sustitutos lácteos logran mayores ganancias de peso que sus contrapartes lactando con la cerda.^{2,20}

Este incremento de consumo de materia seca, es una de las causas por las cuales, los lechones criados bajo un sistema de destete temprano muestran un mejor desempeño en su crecimiento, manifestado en mejores pesos al finalizar su estadía en el área de destete, cuya ventaja pueden conservar hasta la etapa de finalización, alcanzando su peso de venta en menos días comparado con cerdos destetados a mayor edad.^{21,22} Este punto es importante, ya que el cerdo no presenta un crecimiento compensatorio, lo cual implicaría sacrificar el desarrollo de los cerdos en sus primeras etapas de vida, reflejándose hasta su finalización, si bien Whang *et al.*, sugiere que el crecimiento compensatorio se da.^{23,24}

Para obtener buenas ganancias de peso durante la etapa de destete, se han desarrollado programas de alimentación, conformados por más de una dieta o multi fases. Estos se ofrecen a los animales durante el periodo comprendido generalmente entre los 14 a 70 días de edad. Las dietas utilizadas llamadas preiniciadoras, empleadas ampliamente en los destetes precoces, tienen por característica, utilizar una mayor variedad de ingredientes, por lo que también reciben el nombre de dietas complejas.⁵ Estas dietas, utilizan ingredientes que regularmente son de alta digestibilidad y alto costo, pero que favorecen mejores ganancias de peso, consumos de alimento y eficiencia alimenticia principalmente en el periodo inmediato al destete, pudiendo alterar o no^{23,24} la composición corporal al finalizar la engorda de los animales.^{25,26} Cerdos destetados de manera temprana y con alto estatus sanitario, pueden prescindir o utilizar en menor cantidad ingredientes de alta calidad, es decir dietas más sencillas, que aquellos cerdos que habitan un ambiente de mayor carga de microorganismos patógenos, permitiendo disminuir así los costos de la dieta.²⁷

Segregar a los animales a temprana edad, ayuda a evitar enfermedades clínicas y subclínicas, lo cual representa menores costos de producción por concepto de uso de antibióticos, en forma terapéutica o como promotores de crecimiento;¹⁰ sin embargo Fangman *et al.*,²⁸ reportó no haber encontrado diferencias en el desempeño productivo ni estatus inmune medido en poblaciones de linfocitos T (CD 4+ y CD 8+), entre los cerdos destetados < 14 días de edad, ya sea enviados a otro sitio o alojados en instalaciones dentro de la misma granja, pero con baja exposición a patógenos, lograda por la aplicación de métodos de sanitización, poniendo de manifiesto la importancia del no estimular al sistema inmune.

Un sistema inmune poco estimulado, ejerce en los lechones una mejora en el crecimiento (masa muscular, estructura ósea, etc.), como resultado del incremento en la eficiencia de los nutrientes para cumplir esta función. La mejora en la salud de los cerdos y por tanto de sus parámetros productivos, también tiene un impacto sobre sus necesidades nutricionales, aumentando estas (ejem. lisina en 40.1% y energía en 19.7%), a causa del crecimiento acelerado y no por una pérdida de la

eficiencia alimenticia; manteniéndose esta demanda incrementada en nutrientes hasta la etapa de finalización en un ambiente de baja estimulación inmunológica.^{29,30,31} De manera contraria, un mayor estímulo, modifica el metabolismo del animal y lo obliga a utilizar los nutrientes para montar una defensa en contra del componente agresor como destino primario y no para continuar con su proceso de crecimiento, aun a pesar de la complejidad y concentración energética de la dieta.^{32,33,34}

Los estados agudos y subclínicos de enfermedad, producen citocinas (Ejem: IL-1, IL-6, TNF- α) y la producción de ciertas proteínas, como son las de fase aguda y anticuerpos, que demandan grandes cantidades de aminoácidos. Esta demanda, frena el crecimiento y produce una baja de peso, a causa de la inhibición de síntesis proteica muscular y su degradación. Hay que tomar en cuenta, que el perfil de aminoácidos del músculo es muy diferente al de citocinas y proteínas de fase aguda, esto involucra un gran catabolismo muscular para llenar sus requerimientos, y no únicamente por la disminución en el aporte de nutrientes, ejercida por el bajo consumo de alimento que se observa durante la enfermedad, también efecto de las citocinas.^{35,36,37}

Efectos negativos del destete en el lechón.

El acortamiento del periodo de lactación, también tiene efectos nocivos en el cerdo. El proceso de separación de la madre provoca un estado de estrés agudo y crónico muy severo, a causa de un gran número de factores³⁸ de los cuales podemos mencionar:

- a) Cambio de instalación y la completa separación de la madre, ya sea en sistemas de ciclo completo o destete segregado; en esta última el estrés se incrementa por la transportación de los animales a varios kilómetros de su sitio de nacimiento.
- b) Reagrupamiento de camadas, resultando en peleas con el fin de establecer una nueva jerarquía en el corral, que pueden durar de 5 a 10 días; siendo más severas cuando no se respeta el mínimo espacio para cerdos de esta edad.
- c) Cambio radical en la dieta, pasando de un alimento en estado líquido, sabor y temperatura agradable, administrado de forma continua, a dietas sólidas en la mayoría de sus casos; de sabor desconocido, fría y en forma discontinua.
- d) El cerdo recién destetado, también tiene que distinguir entre sed y hambre, satisfaciendo dichas necesidades en la mayoría de los casos, en un comedero y bebedero por separado; estos equipos pueden no favorecer el consumo.

El estrés generado se manifiesta en los animales con alteraciones en la conducta, representado por lechones que maman el ombligo de sus compañeros, un

aumento en su comportamiento de escape, menor tiempo empleado en beber y alimentarse; siendo mas evidente a edades de 7 días que aquellos destetados a 28 días, como lo observó Worobec *et al.*,³⁹ en animales destetados a 7,14 y 28 días.

Desde el punto de vista hormonal, los cerdos destetados a muy temprana edad (7 días) incrementan transitoriamente sus niveles de cortisol, como aquellos observados en las situaciones crónicas de estrés, también disminuyen marcada y prolongadamente los niveles de catecolaminas, como pueden ser la epinefrina y la norepinefrina; lo cual nos manifiesta una respuesta psicológica y fisiológica al manejo,⁴⁰ indicando una ausencia de bienestar, ya que este altera al mismo tiempo el desarrollo productivo de los cerdos y los patrones de comportamiento.

Además de las alteraciones conductuales y hormonales, existe un efecto sobre el sistema inmune. El cerdo, a pesar de nacer con todos los componentes del sistema inmune desarrollado y funcional, no son capaces de montar una respuesta eficaz durante sus primeros días de vida,⁴¹ por ello es muy importante la inmunidad pasiva que la madre le proporciona en anticuerpos mediante el calostro, principalmente IgG; más tarde, la leche cambia la secreción de IgG por IgA, las cuales solo le proporcionan inmunidad local.⁴² Conforme pasan las semanas, el sistema inmune del lechón se va madurando; sin embargo, el destete deprime la inmunidad, siendo más evidente cuando este es menor a 4 semanas de edad. Bletcha *et al.*,⁴³ observó que los linfocitos de lechones destetados a 2, 3 y 4 semanas, mostraron una respuesta baja; pero no, los destetados a las 5 semanas, tanto *in vivo* como *in vitro*, cuando fueron estimulados con fitohemaglutinina. Aun así, el destete en cerdos de 5 semanas, disminuye su respuesta para producir anticuerpos al estímulo antigénico de eritrocitos de borrego a las 24 h posteriores al destete, indicando una incapacidad para montar una respuesta celular.⁴⁴ En cerdos destetados a las 3 semanas, se suprime la habilidad para producir IL-2 por parte de los linfonodos mesentéricos.⁴⁵ Las células secretoras de inmunoglobulinas IgG del bazo y ganglios mesentéricos, disminuyen durante la 4ª semana (edad de destete) y logran sus niveles adultos hasta la semana 40; de igual forma las de médula ósea, que alcanzan su nivel adulto hasta la 12ª semana.⁴⁶

Efectos del Destete sobre el Intestino Delgado.

Uno de los sistemas que sufre cambios importantes, durante el periodo inmediato y posterior al destete, es el sistema digestivo y muy en especial el intestino delgado. Durante el destete, el intestino experimenta una alteración en su morfología y fisiología de manera dramática. En su estructura se observa una atrofia de las vellosidades y un aumento en la profundidad de las criptas.^{47,48} La atrofia, causada por la pérdida de enterocitos, una disminución en la cantidad de enterocitos producidos o ambas;^{49 50} se aprecia histológicamente como un acortamiento en la altura de la vellosidad, adquiriendo una forma de lengua, a

diferencia de su estado previo, donde se ve una arquitectura con forma de dedo. En el caso de las criptas, estas incrementan su profundidad por la hiperplasia que sufren, con el objeto de producir una mayor cantidad de enterocitos y repoblar nuevamente la vellosidad. La atrofia de las vellosidades es más pronunciada al día 5 posterior al destete y es más evidente en lechones destetados a menos de 14 días de edad, que a los 28 días.⁵¹

La disminución del número de enterocitos y el acortamiento de las vellosidades, provocan que la superficie de absorción del intestino sea menor; al mismo tiempo, los nuevos enterocitos que vuelven a repoblar estas vellosidades atrofiadas, pueden no haber madurado completamente, teniendo principalmente funciones secretoras y no de absorción – digestión. Como consecuencia, existe una capacidad de absorción y digestión de nutrientes disminuida.^{2,52} A estos cambios se asocia la diarrea posdestete. Por un lado, los nutrientes que provienen de la nueva dieta, no son digeridos completamente, provocando un aumento en la presión osmolar en la luz intestinal, generando entonces la salida de líquidos. Y por otro lado, este contenido intestinal, sirve como caldo de cultivo para patógenos, que dentro de sus mecanismos de patogenicidad está, el provocar diarrea.⁵³ Asimismo, la pérdida de integridad del epitelio intestinal, predispone a la entrada de patógenos al organismo, que agravan el estado crítico por el que pasa el cerdo durante este periodo.⁵⁴

La brusca transición del estado líquido (leche de la cerda) a sólido (alimento preiniciador en harina o pellet), al que es sometido el cerdo en el momento del destete, tiene un impacto sobre la morfología del intestino. Las vellosidades del intestino delgado, en cerdos que consumen dietas sólidas, sufren una mayor atrofia que aquellos que consumen dietas húmedas; y estas a su vez, atrofian en mayor proporción las vellosidades que las dietas líquidas; sugiriendo un efecto mecánico del estado físico de la dieta sobre la pared intestinal.⁵⁵

La pasta de soya, principal fuente proteica en las dietas para cerdos, produce efectos negativos en animales precozmente destetados. Su inclusión en las dietas preiniciadoras, como única fuente proteica, se ha asociado con la atrofia de las vellosidades.⁵⁶ El efecto dañino sobre la estructura intestinal, se atribuye a las glicinas y β -glicinas que contiene; estos compuestos se consideran antigénicos, lo cual genera una respuesta inmunológica en el epitelio intestinal y por tanto inflamación en la mucosa, a la cual se asocia la atrofia.^{57,58} Por su parte Makkink *et al.*,⁵⁹ propone que, no es la respuesta inflamatoria la que produce los daños directamente sobre el epitelio, sino el consumo de alimento disminuido, como consecuencia del malestar intestinal provocado por la inflamación de la mucosa, debido a la ingestión de los compuestos de la soya.

La falta de consumo de materia seca, durante los primeros días posteriores al destete, se considera, es una de las principales causas de la atrofia de las vellosidades. El cerdo debe consumir 475 g de un alimento altamente digestible, y con una concentración de 16.5 MJ DE kg⁻¹ al momento del destete, para

mantener el nivel de crecimiento anterior a este.⁶⁰ El lechón, puede no alcanzar este consumo sino hasta dos semanas posteriores al destete⁶¹.

El cerdo recién destetado, puede pasar varias horas o días sin consumir alimento alguno o en poca cantidad, y es esta falta de estímulo de contenido en el lumen intestinal, lo que se ha relacionado fuertemente con la atrofia de las vellosidades.⁶² Aun en cerdos recién destetados, a quienes se les ofrece ciertas hormonas y compuestos de manera experimental como: el factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento parecido a la insulina IGF-I e IGF-II, poliaminas, y la glutamina; que están presentes en la leche y relacionadas con el crecimiento, mantenimiento y maduración de la mucosa intestinal. Su inclusión, no provoca crecimientos tan espectaculares cuando se ofrecen oralmente, aun cuando se den los nutrientes por vía parenteral.⁶³ De forma contraria, la materia seca *per se*, ofrecida a los cerdos recién destetados en alimentación forzada, favorecen la integridad intestinal, sin la presencia de estas hormonas presentes en la leche y caracterizadas por estimular el crecimiento de la mucosa.^{64,65}

Esta por definirse, que factor es el importante en la alimentación enteral: 1) la cantidad de energía consumida, como una limitante para el metabolismo de mantenimiento y crecimiento del sistema digestivo,⁶⁶ ó 2) la presencia de los nutrientes en el lumen, como un estímulo para el desarrollo de éste. Stoll *et al.*,⁶⁷ estimó, que aproximadamente el 20% de los nutrientes deben pasar vía oral, para mantener la integridad de las vellosidades intestinales y el 60% de los mismos para favorecer el desarrollo. Por su parte, Pluske *et al.*,^{61,66} reportó que el cerdo recién destetado, necesita consumir un mínimo de 2.5 veces sus requerimientos de mantenimiento de energía, para conservar la arquitectura intestinal.

Por ello, la importancia de estimular el consumo de materia seca de alta digestibilidad, en el cerdo recién destetado de forma precoz. Así como precisar las características del alimento para cerdos jóvenes en su contenido de minerales, vitaminas, energía y el perfil de aminoácidos en exacto equilibrio, incluyendo por supuesto, los considerados esenciales y no esenciales, para evitar el daño al epitelio intestinal; y por el contrario, favorecer su integridad, para el mejor aprovechamiento de los nutrientes que se le ofrecen a través del alimento, obteniendo con esto el desarrollo óptimo del cerdo.^{2,5,49}

Ontogenia del intestino delgado.

En todas las especies mamíferas, la mucosa intestinal es la principal interfase entre los tejidos y el medio ambiente externo. Solamente con 1 mm de grosor y con una superficie de 400 m² tiene como función primaria la de absorber nutrientes y agua. Su gran superficie, es producto de cientos de miles de proyecciones en forma de vellosidades en el intestino delgado. Cada vellosidad tiene un centro con

tejido conectivo altamente vascularizado, delineado por una capa de epitelio simple. El epitelio es constantemente renovado por células nuevas que provienen de las 10 a 20 criptas de Lieberkühn que rodean a cada vellosidad. En el colon la superficie es llana y las células epiteliales son producidas en las glándulas. La forma de la mucosa es determinada por la lámina propia (LP), que es la zona de tejido conectivo suelto debajo del epitelio. La estructura de este compartimiento es mantenido por las células parecidas a los fibroblastos (miofibroblastos), las cuales secretan una matriz extracelular, contribuyendo a la formación de la membrana basal epitelial y son necesarios para la proliferación epitelial y la diferenciación. En adición, la lámina propia contiene células T, macrófagos y células plasmáticas, y hay una asociación microambiental estrecha entre aquellas células inmunes y los miofibroblastos de la mucosa. Aquellos miofibroblastos ayudan a formar la membrana basal del epitelio y endotelio vascular, son necesarias para la diferenciación epitelial, y secretan matriz extracelular dentro del cual todas las células de la LP están embebidas.⁶⁸

El cerdo, es una especie que nace con una capacidad limitada para digerir y absorber un perfil de nutrientes, diferentes a los presentes en la leche. Entre las especies mamíferas, el cerdo nace con un sistema digestivo medianamente maduro en comparación con el humano o primates, considerados especies precoces, pero a su vez el cerdo nace con mayor madurez intestinal, en comparación con las especies denominadas altricias (roedores y carnívoros).⁶³

El tracto gastrointestinal, en la etapa fetal, comienza como un simple tubo. A los 30 días de gestación, esta estructura está rodeada por una capa de células mesenquimatosas, que posteriormente se convertirán en una capa de células simple columnar, que comprometerán las futuras regiones de las vellosidades y las intervallosidades. La morfogénesis temprana en el intestino, se realiza mediante una oleada de eventos que comienzan de la porción proximal del tracto hacia la porción distal, observándose los primeros cambios en el duodeno y la primera parte del yeyuno. La proliferación celular ocurre sobre la superficie de las nacientes vellosidades, así como en la región de las intervallosidades del epitelio.⁶⁹

Al día 35 de gestación, aparecen las primeras vellosidades, también llamadas vellosidades primitivas, y es hasta el día 40 que, la diferenciación de las células es evidente, pues ya se observan células globosas y enteroendócrinas en el intestino proximal. La conversión del epitelio pseudo estratificado a simple columnar, durante el desarrollo fetal, envuelve el establecimiento de los dominios de la membrana basolateral y apical, y la separación de las células por las estructuras llamadas uniones estrechas (tight junctions). La diferenciación y migración del epitelio, son influenciadas por los cambios ontogénicos de la matriz extracelular y por la naturaleza de las intercomunicaciones en el epitelio mesenquimatoso.⁷⁰

Al día 45 de gestación, el gradiente de diferenciación celular también es de proximal a distal, siendo por lo tanto menor en la porción distal del tracto. Conforme progresa el desarrollo, las microvellosidades se alargan, y se observa

un complejo endocítico apical al día 60.⁷¹ Es también en este momento, que se observan las primeras criptas; conforme avanza la formación de las vellosidades, la división celular se va confinando e incrementando en estas futuras criptas; antes, región de la intervallosidad. La distribución observada en la cripta durante el desarrollo del epitelio intestinal fetal, es un importante suceso que refleja la creación de la maquinaria celular que regulará la proliferación, diferenciación y renovación del epitelio intestinal a través de la vida. Al día 110, las vellosidades están bien desarrolladas, con un mayor grado de maduración en la parte proximal, donde las células absortivas no están vacuoladas, mientras que en el yeyuno distal, se encuentran enterocitos con grandes vacuolas lisosomales.^{69,70}

Una semana antes del nacimiento, la proporción entre el peso del estómago y el corporal se mantienen constantes, incrementándose esta proporción al nacimiento hasta en un 25% a la semana de nacido, donde alcanza su mayor peso en relación al cuerpo; sin ser afectado por los niveles de cortisol.⁷² El páncreas, decrece 25% una semana antes del nacimiento e incrementa en un 60 – 80% durante la última semana posparto, siendo gradual el crecimiento posterior a este evento. El crecimiento más dramático esta en el intestino delgado, el incremento en su tamaño es de 70 a 80% en las últimas 3 a 4 semanas preparto; este aumento es más acelerado durante el nacimiento, tanto como 50% en las primeras 24 horas posparto.⁶³ A las 24 h de nacido, el cerdo lactante tiene un intestino 29% mas largo, 86% más pesado y con 130% más mucosa.⁷³

Hormonas como el cortisol, tiene efecto sobre la madurez intestinal con un mayor efecto al final del periodo de gestación y los primeros días neonatales. Al momento del parto, los niveles son superiores a los basales y corresponden con un incremento en el tejido intestinal, aunque también hay un aumento, pero de menor intensidad, durante el periodo de destete. Los niveles aumentados en esta hormona sugieren una señal para el tracto gastrointestinal en su maduración. Los niveles de oxigenación, también tienen efecto sobre el desarrollo gastrointestinal. Si al momento del parto existe una disminución en el aporte del oxígeno, entonces el desarrollo del tracto gastrointestinal se ve severamente afectado, lo que aumenta la probabilidad de sufrir estados de mal función intestinal y enterocolitis.⁷⁴

La funcionalidad de los órganos del sistema digestivo comienza desde la etapa fetal. El pH estomacal en el feto es cercano al neutro y es hasta unas semanas antes del parto, en que incrementan los niveles de secreción del ácido clorhídrico,⁷⁵ alcanzando los niveles maduros a los 5 días posparto.⁷⁶ Este desarrollo, que va de las dos semanas preparto a la primera semana posparto, coincide con los niveles de cortisol. Los niveles de gastrina coinciden también con el incremento de los glucocorticoides. Los glucocorticoides, solo tienen efecto sobre las secreciones de gastrina y HCl antes del nacimiento, y no posterior a este.⁷⁷ Por su parte, las proteasas comienzan su actividad justo antes del parto, y su actividad depende de un pH de 2 – 4.⁷² En el caso de la quimosina, sus niveles más altos se encuentran al nacimiento y disminuyen conforme avanza la edad del cerdo, donde es gradualmente remplazada por la pepsina.⁷⁵ Esta no presenta un

cambio en su actividad por la alimentación enteral.⁷² En el intestino delgado, el desarrollo se da al final de la gestación o inmediatamente después del nacimiento. El consumo de calostro al nacimiento, como se explicará posteriormente, tiene mayor efecto sobre el desarrollo del intestino, que el líquido amniótico consumido antes del nacimiento.⁷⁸

En el feto, la hidrólisis de los sustratos es mínima y en los enterocitos inmaduros (vacuolados) los procesos de digestión son intraluminales y no lumbales, a diferencia de los enterocitos maduros.^{70,79} La enzima lactasa y las peptidasas, tienen altos niveles al momento del nacimiento, mientras que las glucosidasas comienzan a incrementar sus niveles en este momento, mientras tanto decrece la lactasa. Lactasa y aminopeptidasas, parecen estar reguladas en parte por los niveles de cortisol.¹⁸ Si los cerdos nacen por cesárea, los niveles de glucocorticoides son bajos y se producen alteraciones enzimáticas en el tracto gastrointestinal, aunque el efecto es variable, lo cual depende de receptores, sitio y momento.⁸⁰

La función del intestino va muy de la mano con el desarrollo estructural del mismo. La membrana con borde de cepillo, consiste de un borde apical con microvellosidades y un glicocalix asociado. La diferenciación de esta membrana, es un componente importante para la vida y nutrición ex útero. Los niveles de enzimas son bajos en el feto, comparados con los animales lactantes y destetados, con excepción de la lactasa y la aminopeptidasa N.⁸¹ Esta última, coincide su expresión genética con la formación de las nacientes vellosidades⁸² y se encuentra dentro de vacuolas en los enterocitos, donde se presume degrada el meconio.⁸¹

El transporte de iones y nutrientes en la etapa fetal, es mayor conforme se acerca al nacimiento.⁸³ Los enterocitos, pueden transportar elementos del líquido amniótico que el cerdo consume muy temprano en la gestación, y que pueden llegar a ser hasta el 20% de su peso corporal y obtener un porcentaje similar de energía a partir de este.⁸⁴ El intestino fetal tiene la habilidad para absorber macromoléculas, como aquellas que recibirá del calostro; de hecho, el calostro ofrecido al feto, estimula la absorción de macromoléculas y el efecto llamado "cierre intestinal".⁸⁵

En el cerdo durante la etapa fetal, el contenido intestinal no tiene un papel importante en su desarrollo y función como lo es al nacimiento.⁶³ Al nacimiento, la ausencia del contenido intestinal, aun cuando se lleve a cabo una nutrición parenteral, tiene efectos negativos sobre el crecimiento y desarrollo del intestino;⁸⁶ el páncreas es poco afectado por la ausencia del estímulo de contenido intestinal y el efecto es nulo para el estómago.⁸⁷ El cerdo recibe los nutrientes de forma enteral, como única vía de alimentación a partir del nacimiento,⁸⁸ y este estímulo en el lumen, es indispensable a lo largo de toda su vida.^{65,67}

Como se mencionó, al momento del nacimiento, el cerdo neonato sufre un cambio radical en su nutrición, pasando de una nutrición realmente constante, vía intravenosa mediante el cordón umbilical, a una totalmente enteral. El cerdo al

nacer, deja de recibir la alimentación continua y sufre breves periodos de ayuno antes de alimentarse.⁸⁸ Su dieta cambia en frecuencia y composición, teniendo que adaptarse rápidamente, lo cual influirá en su bienestar.⁶⁷

A partir de este momento, el programa de desarrollo del aparato digestivo estará influenciado por una compleja interrelación de factores locales, sistémicos y luminales.⁸⁹

El calostro, es el primer alimento enteral al que es expuesto el cerdo, y esta secreción tiene profundos efectos sobre el desarrollo intestinal.⁹⁰ Su consumo estimula la proliferación celular en las criptas,^{91,92} además de que no solo le aporta nutrientes,⁹³ sino también otro tipo de compuestos o moléculas no nutritivas como es el caso de: IgG, que brinda protección pasiva; y otras como factor de crecimiento parecido a la insulina I y II (IGF-I e IGF-II, de sus siglas en ingles) y el factor de crecimiento epidermal (EGF, de sus siglas en ingles), que son sustancias bioactivas relacionadas con la proliferación, diferenciación y apoptosis, por sus funciones autocrinas, paracrinas y endocrinas.^{94,95} Otra molécula, es el Factor de Transformación de Crecimiento – α ó TGF- α (de sus siglas en ingles). Este compuesto, parece ser el ligando exógeno del receptor EGF en el intestino del cerdo lactante.⁹⁶ La expresión de TGF en las criptas durante las primeras tres semanas de vida, sugiere que este factor de crecimiento esta envuelto en la maduración y la remodelación de la mucosa intestinal neonatal. Pero como ya se mencionó, por si solos, sin la presencia de nutrientes, no tienen efectos tan pronunciados y solo explican una pequeña parte del desarrollo del tracto gastrointestinal. De igual forma, aun no se comprende del todo, el por qué la sola presencia de nutrientes en el lumen, estimula el desarrollo de los órganos. El Growth Like Peptide – 2 (GLP – 2), es una molécula que tiene un efecto regulador y estimulante, el cual responde a la presencia de nutrientes, liberándose al torrente desde el íleon y esta puede ser la hormona que explique, en cierta medida, el efecto que tienen los nutrientes sobre la integridad y arquitectura de los órganos gastrointestinales.⁹⁷

A diferencia del nulo efecto que tiene el líquido amniótico sobre el desarrollo del tejido gastrointestinal, la privación del consumo de calostro, trae consigo alteraciones en la capacidad de absorción de nutrientes por el intestino delgado. Justo después del nacimiento, cuando los recién nacidos comienzan a mamar, hay una disminución dramática en el consumo de glucosa y aminoácidos, asociados estos cambios con el consumo de calostro.⁹¹ Cuando la secreción de calostro termina y continua la leche, incrementa la absorción, probablemente debido a la inserción de nuevos transportadores de nutrientes dentro de la membrana de las microvellosidades,⁷⁰ lo cual depende de la nutrición enteral.

Existe un evento muy particular en el caso de los cerdos, como consecuencia de la poca relación íntima, entre el producto y la cerda. Debido a las características histológicas de la placentación epitelio-corial,¹⁴ los fetos nacen sin inmunidad pasiva, ya que los anticuerpos provenientes de la madre no pueden pasar a través de la placenta, por tanto los reciben mediante el consumo de calostro; solo

durante las primeras horas de nacido,⁹⁸ el intestino delgado puede absorber estas macromoléculas de manera intacta.^{99,100} Este efecto, permite que el lechón tenga el mismo perfil de anticuerpos circulante que la cerda, a las pocas horas de consumir el calostro.¹⁰¹ El calostro, favorece el paso de macromoléculas a través del epitelio intestinal, por su contenido de proteasas, que impiden la digestión y favorece el paso de inmunoglobulinas y factores tróficos.¹⁰² El calostro, también sirve como señal al intestino delgado para cerrar el paso de estas macromoléculas. El sellado intestinal, que se observa a partir del consumo de calostro, comienza a las 6 o 12 horas de iniciada la ingestión y completándose a las 24 o 36 h.^{90,103}

El paso de las macromoléculas del lumen intestinal al torrente sanguíneo, se lleva a cabo de la siguiente manera. Los enterocitos, a partir de la endocitosis, recogen las macromoléculas del lumen en la región apical, posteriormente por un sistema lisosomal/endosomal lo transportan a través de la célula y por último lo liberan por exocitosis por la membrana basolateral. El cierre del intestino, no es causa de la incapacidad de los enterocitos en llevar a cabo la endocitosis, ni por un aumento en la degradación de los lisosomas, sino a la incapacidad de exocitosis, posiblemente por la modificación de las propiedades de la membrana basolateral, causadas por compuestos bioactivos presentes en el calostro, y que se ubican en el espacio intercelular; estos compuestos aun no están claramente identificados, pero se cree, están en la porción sérica del calostro.¹⁰⁴

En esta permeabilidad de la mucosa intestinal, que presenta el cerdo a las primeras horas de nacido, se considera que juegan un papel importante los glucocorticoides, luego de observarse que animales nacidos mediante cesárea y por lo tanto, con bajos niveles de glucocorticoides, tienen una menor absorción de macromoléculas que aquellos nacidos en parto natural.^{105,106}

La actividad enzimática se presenta en el intestino delgado, en el llamado borde de cepillo de los enterocitos, que representan el 80% de las células epiteliales. Las demás células que tapizan las vellosidades son: células de Paneth, enteroendócrinas y mucosas o globosas.⁶⁴

El perfil de enzimas que se encuentran en este borde de cepillo, son principalmente dos: Las carbohidrasas y las peptidasas.¹⁸

Los cerdos nacen con baja cantidad de glucosidasas, lo que sugiere que el cerdo difícilmente puede desdoblar otro carbohidrato que no sea lactosa.⁹¹ La ingesta de calostro aumenta o disminuye los niveles de lactasa, incrementa los niveles de aminopeptidasas y maltasas,^{90,91} mientras que el efecto a causa de la ingesta de leche sobre estas es más gradual.^{78,87} La causa por la que caen los transportadores, que median el paso de aminoácidos en las primeras 24 h de nacimiento, no son debido a su pérdida, sino al gran aumento del tejido que diluyen la concentración de transportadores.⁷⁰ También, a una redistribución de las funciones de transporte a lo largo del eje cripta - vellosidad, debido al reemplazo de enterocitos fetales.⁸⁵

Algunos cambios en las enzimas del intestino delgado, están dados por sustancias de la leche o por los nutrientes vía enteral. Aunque algunas enzimas (lactasa, maltasa, sucrasa), mantienen niveles similares en animales con alimentación parenteral, comparado con aquellos alimentados enteralmente.⁸⁷

Dentro de las carbohidrasas se encuentran la lactasa, treolasas y maltasas (isomaltasa, sucrasa, maltasa II y III).¹⁰⁷ Como se mencionó, la lactasa es la enzima que se encuentra en altos niveles al tiempo del nacimiento, y decrece desde la 2ª a la 3ª semana de vida a los niveles adultos hasta la 8ª semana, y esta es la encargada de hidrolizar la lactosa. La maltasa y la sucrasa se encuentran en niveles menores al 50% antes del nacimiento, e incrementan su actividad con la edad en 26 veces para la sucrasa y 14 veces para la maltasa, desde la 1ª a la 8ª semana de edad. Estas enzimas, se encuentran en mayor cantidad en la primera mitad del intestino delgado.¹⁸

En cerdos destetados a 3 o 5 semanas de edad, la actividad de la sucrasa, isomaltasa y lactasa, caen en 2 a 5 veces al 5º día de destete, pero se recuperaron a los 11 días posdestete, a excepción de la lactasa que continúa su descenso. La Maltasa II y III, incrementaron hasta el día 5 posterior al destete, cuando este fue a las 5 semanas, pero no hubo ese repunte en un destete de 3 semanas.¹⁰⁸

Existe un mayor número de peptidasas en el enterocito, comparado con el número de carbohidrasas, en general su actividad es alta al nacimiento o en la primera semana de vida, disminuye en sus primeros treinta días de vida, para posteriormente mantener su nivel hasta la etapa adulta.¹⁸

La función digestiva de los enterocitos y sus microvellosidades, comienzan cuando su diferenciación estructural es completa en su migración de las criptas a la vellosidad. Este momento sucede cuando el enterocito, lleva un tercio de la vellosidad recorrida en su camino a la punta. Mientras que la función digestiva comienza cuando el enterocito está por encima de la mitad de la vellosidad.¹⁰⁹

Requerimientos del intestino.

Las vísceras drenadas por la circulación porta, cuentan para el 3.6% del peso corporal, pero tienen una tasa de recambio de 20 al 35% de la proteína y energía corporal.^{110,111} La tasa de recambio proteico de estos órganos es más alta que en tejidos periféricos como el músculo, siendo 10 a 30 veces mayor en animales en crecimiento y adultos, respectivamente.^{112 113 114}

El intestino utiliza aproximadamente el 35% de la proteína y el 50% de los aminoácidos de la dieta,^{115 116} metabolizando mayor cantidad de aminoácidos no esenciales (glutamato, aspartato y glutamina). El balance neto del glutamato y aspartato es muy bajo, solo pasa a la circulación el 4% de lo consumido, indicando una alta tasa de metabolismo. Por su parte, el balance de glutamina es negativo;

es decir, el intestino toma toda la glutamina de la dieta, más 20% extra desde la circulación sistémica.^{117,118}

Los aminoácidos esenciales de la dieta, a diferencia de los anteriores, son metabolizados en menor cantidad, ya que sus necesidades son cubiertas a partir de los provenientes de la circulación arterial. El intestino solo utiliza cerca del 30 al 50% de la lisina, leucina y fenilalanina y el 85% de la treonina de la dieta.¹¹⁹ De este 35 - 40% de aminoácidos esenciales que consume el intestino, solo 1/3 lo aprovecha para la síntesis de proteína en la mucosa, utilizando para este fin, principalmente los aminoácidos de la circulación sistémica.^{119,120}

El 65% al 85% de la glucosa consumida, pasa a la circulación porta, por tanto el 85% de la glucosa que utiliza el intestino proviene de la circulación, lo que sugiere que el intestino consume una mayor proporción de aminoácidos que de glucosa a partir de la dieta.^{117,121} La glucosa es uno de los principales combustible que se oxida (29%) en términos de la total producción de CO₂ desde las vísceras de la circulación porta; aun así, la proporción de glucosa oxidada es substancialmente menor que la oxidación del glutamato o glutamina (52 y 70%, respectivamente). Estos dos son canalizados hacia la oxidación mitocondrial y la glucosa utilizada para otros propósitos metabólicos; el glutamato y el aspartato generan aproximadamente el 50% de la energía oxidativa generada en el intestino.¹¹⁷

Un aminoácido que ha recibido especial atención en el intestino es la glutamina. Mucha evidencia bioquímica y fisiológica sugiere que la glutamina juega un papel fisiológico en el soporte del sistema de la mucosa intestinal. Hay evidencia, que las células de la mucosa no utilizan la glutamina solamente para sintetizar aminoácidos, ya que si se inhibe la síntesis de glutamina, también se inhibe la proliferación y la diferenciación en cultivos celulares, sugiriendo algo más que un rol regulador; al parecer la glutamina puede activar algunos genes asociados con el ciclo celular en la mucosa.¹²²

Sistema inmune intestinal.

El sistema inmune intestinal en el cerdo y en general de todos los mamíferos, tienen por objetivo: reconocer y eliminar los efectos de microorganismos y sus productos que tienen el potencial de causar enfermedades infecciosas; así como ser capaz de reconocer los antígenos inocuos de la dieta y prevenir la destrucción, con la consecuente respuesta potencialmente dañina hacia el animal.

El tracto gastrointestinal, cuenta con varios sistemas de protección en contra del medio ambiente a lo largo de todo el tracto, donde podemos mencionar: la lisozima que se encuentra en la saliva y que tienen un efecto bactericida, los cambios en el pH; ya sea un pH bajo en el estómago y un pH alcalino en el

duodeno. También la presencia de enzimas que actúan en proteínas, carbohidratos y grasas y que pueden afectar la arquitectura y la virulencia de patógenos ó sustancias ajenas al organismos.⁶⁸ Además, la flora normal que en simbiosis con el organismo, controla la patogenicidad de ciertas bacterias, al competir con ellas por los nutrimentos o producirles un medio poco favorable para su replicación.¹²³ La presencia de células especializadas, en el combate en contra de estos patógenos ya sea de manera inespecífica o específica.¹²⁴ Todas estas herramientas de las cuales hecha mano el organismo para defenderse en contra del medio externo, parecen lógicos que se encuentren en el tracto intestinal, debido a la gran superficie que este expone al medio ambiente (se compara un tracto gastrointestinal de un humano adulto, con la superficie de una cancha de tenis). La importancia del conocimiento del sistema inmune intestinal, radica en este constante contacto con el medio exterior y la oportunidad de crear vacunas y tratamientos inmunológicos en contra de diversas patógenos, alergenicos o enfermedades inmunomediadas.¹²⁵ Ya que existe evidencia, que muchas enfermedades intestinales son inmunomediadas,¹²⁶ y entender cómo el intestino es capaz de crear una tolerancia a muchas sustancias, como pueden ser los alimentos, para poder aprovecharlos como fuentes de nutrimentos sin crear una respuesta inmune hacia ellos.¹²⁷

Para que un microorganismo patógeno pueda causar un daño intestinal, necesita adherirse a las células epiteliales y poder entrar a través del epitelio. En este caso, mantener la integridad del epitelio es necesario e indispensable. Por ello es muy probable que los mecanismos de de defensa de la mucosa intestinal, no sean dirigidos hacia respuestas inflamatorias, sino a mantener a los antígenos potencialmente dañinos dentro del lumen intestinal, donde el peristaltismo y el constante flujo de la digesta los puedan eliminar. La función protectora de las células epiteliales y los anticuerpos IgA, que no activan el complemento, son de gran utilidad para mantener la integridad de la mucosa intestinal.¹²⁸ Solo cuando la barrera intestinal es rota, entran otros mecanismos defensivos como IgG, linfocitos citotóxicos y otras células del sistema inmune para mantener la salud intestinal y la del cerdo.¹²⁹

El lugar donde se lleva acabo la diferenciación entre un antígeno dañino y uno inocuo, es lo que se llama tejido linfoide asociado a la mucosa. Este se divide en dos partes importantes: Las placas de Peyer y linfonodos mesentéricos, donde ambas son estructuras especializadas y la lámina propia, que es una estructura que realiza mucho más funciones que las inmunológicas.

Las placas de Peyer, se encuentran en un número entre 11 y 26, las cuáles contienen múltiples folículos de células B separadas por áreas interfoliculares de células T. Las células plasmáticas que contienen IgG, IgM e IgA, están presentes en el domo y entre la base de los folículos. Células M (Microfold) han sido descritas en el borde del epitelio linfoide, además de células con características dendríticas que expresan altos niveles de MCH II. Al nacimiento, estas estructuras no se encuentran completamente formadas, pero se organizan rápidamente a los

pocos días del nacimiento, y su incremento en tamaño son parcialmente dependiente de los antígenos.¹³⁰

En la lámina propia intestinal, esta altamente poblada con linfocitos en animales maduros, en el caso de cerdos se observa una alta organización de las poblaciones celulares, donde las células plasmáticas y las B predominan alrededor de las criptas y las células T, en las vellosidades. La mayoría de las células plasmáticas son IgA e IgM. Mientras que en la vellosidad, dominan las células T del tipo CD8⁺ bajo el epitelio y las CD4⁺ en la lámina propia profunda, cercano al plexo capilar.¹³¹

La lámina propia del cerdo recién nacido, prácticamente no tienen poblaciones de células T, ni células plasmáticas, y su desarrollo parece ser manejado por la exposición a antígenos y en fases.¹³² Las células plasmáticas se acumulan en las primeras 4 semanas de vida, siendo al inicio IgM, pero predominan rápidamente IgA.¹³³ Durante las primeras semanas entran a la lámina propia linfocitos CD2⁺ 4⁻ 8⁻; las CD2⁺4⁺ aparecen a las 3 semanas y los CD2⁺8⁺ hasta la séptima semana.¹³⁴

Esta inmadures, puede ser la causa de la falla a una respuesta de baja regulación a los antígenos de la dieta durante el destete. Mientras tanto, la tolerancia a proteínas del alimento no pueda ser alcanzada completamente hasta después de las 8 semanas de edad; observándose una menor respuesta a proteínas de la dieta conforma avanza la edad del cerdo.¹³⁵ El cerdo es capaz de activar una respuesta inmune a las tres semanas de edad con una magnitud comparable a la de un antígeno sistémico.¹³⁶

En el epitelio, la mayoría de los linfocitos intraepiteliales (LIE) expresan CD2 que en etapa adulta expresan el marcador CD8+. Mientras que en cerdos jóvenes los LIE son principalmente CD2-CD4-CD8-. Durante las primeras semanas expresan CD2+CD4-CD8-, y solo se convierten a CD2+CD4-CD8+ hasta la quinta a séptima semana.¹³⁷ Pero la habilidad de estos LIE para responder a mitógenos es pobre y desarrolla con el tiempo, aunque esto puede ser retrasado por efecto del destete.¹³⁸

Gastroenteritis Transmisible (GET).

La gastroenteritis transmisible,^{139,140} es una enfermedad entérica viral producida por un coronavirus. Altamente contagiosa cuyos principales signos son diarrea, deshidratación, vómito transitorio y alta mortalidad en cerdos jóvenes. En hatos infectados crónicamente los signos son menos obvios.

Propiedades biológicas. Es muy estable cuando se congela, pero algo lábil a temperatura ambiente o superior. El virus es altamente foto sensible. En términos de estabilidad química, es inactivado con 0.03% de formalina, 0.01% beta

propiolactona, hipoclorito de sodio, NaOH, iodados, compuestos cuaternarios de amonio, éter y cloroformo.

Como se reporta para otros virus entéricos, el virus de GET es tripsina resistente, relativamente estable en la bilis del cerdo, y estable en pH 3. Estas propiedades permiten al virus sobrevivir en el estómago y en el intestino

Epidemiología. La vía de infección es por contacto directo de cerdo a cerdo, por heces fecales o por material infectado. El cuadro epizootico, se produce cuando la mayoría de los cerdos o todos los animales son susceptibles, entonces la enfermedad se esparce rápidamente en cerdos de todas las edades. La edad más afectada y donde se produce la mayor mortalidad es en cerdos de menos de 2 – 3 semanas de edad, y decrece conforme aumenta la edad de los animales.

En el caso de un brote enzoótico, solamente se observa diarreas medias en animales de 6 días hasta 2 semanas posdestete, en estas explotaciones la intensidad de los signos depende de la cantidad de inmunidad pasiva que proporcionen las cerdas y del estatus inmunológico de la piara.

Patogenia. El virus se introduce vía oronasal principalmente por heces fecales. La replicación del virus en tejidos extra intestinales se puede llevar a cabo en pulmones y nodos linfáticos, pero la principal replicación se lleva a cabo en las células intestinales (duodeno, yeyuno e ileon) que se encuentran en la punta de las vellosidades intestinales. Esto provoca una pérdida del epitelio, la misma que promueve una atrofia de las vellosidades, un aumento en la profundidad de las criptas y la repoblación de estas por células inmaduras. Las células inmaduras, son principalmente secretoras lo que agrava el cuadro de diarrea por un aumento en la osmolaridad intra intestinal, por la falta de absorción de los nutrientes que provienen de la ingesta.

El periodo de eliminación del virus es de 14 días, pero el animal puede quedar infectado por más de 100 días después de su exposición.

Los anticuerpos maternos que provienen del calostro y de la leche protegen al cerdo por 36 h posteriores a su retiro.

Signos Clínicos. Los clínicos signos típicos son: vomito transitorio, acompañado o rápidamente seguido por una diarrea líquida y amarillenta, rápida pérdida de peso, deshidratación, alta morbilidad y mortalidad en cerdos de menos de 2 semanas de edad. Los signos clínicos observados en los cerdos en crecimiento son la mitad de severos que en los cerdos lactantes. La diarrea en estos cerdos es muy profusa y puede contener a menudo grumos de leche sin digerir.

El olor de las heces es muy desagradable. La severidad de los signos, duración de la enfermedad y mortalidad es inversamente relacionada a la edad del cerdo. La mayoría de los cerdos menores a 7 días de edad podrían morir en 2-7 días después de mostrarse los primeros signos clínicos. La mayoría de los cerdos lactantes mayores de 3 semanas podría sobrevivir pero quedarían retrasados por un tiempo. Cuando la enfermedad afecta a cerdos recién nacidos de cerdas no

inmunizadas la mortalidad puede alcanzar el 100%, posteriormente la mortalidad es usualmente baja y está asociada a cerdos susceptibles.

El uso de la vacuna oral e intra mamaria en las cerdas se ha utilizado como un método con fundamentos de intuición teórica (proporcionando anticuerpos IgA específicos al lechón por medio del calostro y la leche de la cerda), pero con resultados decepcionantes, probablemente debido a la baja resistencia del virus al medio ácido estomacal. Para ello se ha utilizado una vacuna viva atenuada. Además se ha sugerido que la vacuna puede predisponer a que la infección quede en el hato en un estado subclínico.

En el caso de las vacunas parenterales han sido de poca eficacia, ya que producen una fuerte respuesta de IgG en suero, pero pocas IgA en calostro y leche.

Diagnóstico. A continuación se mencionan las técnicas comúnmente utilizadas para diagnosticar la presencia del virus.

- Seroneutralización, ELISA, prueba de aglutinación de Bentonita, en lugares donde la forma espiratoria se presenta, únicamente con la prueba e ELISA con anticuerpos monoclonales se puede realizar.
- Demostración del virus en secciones de intestino congelado mediante anticuerpos fluorescentes o anticuerpos monoclonales, en cerdos eutanaciados. Una prueba positiva es el encontrar fluorescencia en las puntas de las vellosidades del intestino, la fluorescencia sólo se ve en infecciones en activo. PCR en heces.
- Este virus puede ser detectado en el citoplasma por inmunofluorescencia cerca de los 4-5 días post infección. La maduración del virus ocurre en el citoplasma, lo cual se observa como botones en el retículo endoplásmico rugoso y partículas virales (65 a 90 nm de diámetro) observadas dentro de vacuolas.
- Aislamiento de virus en linfonodos mesentéricos, tonsilas e intestino delgado el cual puede ser congelado posterior a ser examinado.

Glutamina.

La glutamina es un aminoácido no esencial, y circula en la sangre de los mamíferos en una concentración de 0.5 – 0.8 mM, lo que le convierte, en el aminoácido más abundante en la circulación sanguínea; la mayoría de los aminoácidos circulan en una concentración considerablemente más baja a esta.¹⁴¹

Glutamina, es un aminoácido neutral con un peso molecular anhidrido de 146.1. En un pH fisiológico, el grupo carboxil tiene una carga negativa, mientras que el grupo amino es protonado, resultando en una molécula con carga neta con valor 0 ó neutral.¹⁴² Tiene una estructura muy similar al glutamato, solo que en éste último, el nitrógeno amido ha sido remplazado por un grupo hidroxilo confiriéndole una carga negativa. Esta diferencia, hace que el glutamato no pueda reemplazar a la glutamina en los medios de cultivo y también por ello, las células de mamíferos utilizan diferentes sistemas para trasportar estos aminoácidos a través de la membrana celular.¹⁴³

La molécula de glutamina tiene dos nitrógenos en su cadena, lo que le convierte en una molécula capaz de trasportar nitrógeno en una forma no tóxica. Solamente este aminoácido, carga el 30 al 35% de todo el nitrógeno trasportado por los aminoácidos en la sangre,¹⁴⁴ desde los tejidos periféricos a órganos viscerales, donde puede ser excretado como amoniaco (riñones) o convertido a urea (hígado). Se ha estimado que el 50 % del nitrógeno excretado en la orina, proviene de la glutamina. Este es un aminoácido glucogénico, ya que su esqueleto carbonado puede ser convertido hasta glucosa en el hígado, a diferencia de la mayoría de los aminoácidos que tienen dos nitrógenos laterales en su cadena.

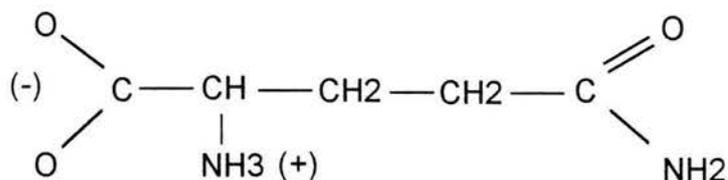


Figura 1. Estructura molecular de glutamina.

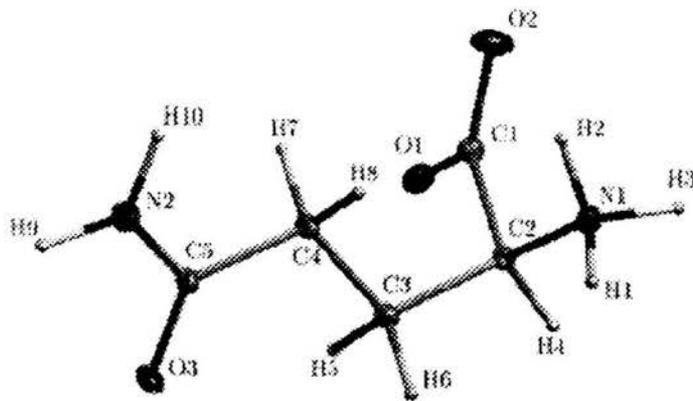


Figura 2. Representación ORTEP, de la molécula de glutamina.¹⁴²

La concentración circulante de glutamina, se mantiene en un nivel constante y depende de la tasa relativa de consumo neto y liberación del aminoácido por varios órganos en el cuerpo. Bajo condiciones normales, la tasa de consumo iguala a la tasa de liberación, manteniendo el nivel de glutamina en la sangre en 0.6 mM.

La glutamina, es el aminoácido más abundante en forma libre dentro de la célula. En el humano, cuenta para el 61% del conjunto de aminoácidos en el músculo esquelético. Su nivel intracelular, es 30 veces más alto a la glutamina circulante, donde representa el 25%; convirtiéndole también en el aminoácido más abundante.^{145 146}

La importancia de la glutamina en el metabolismo celular, fue considerada por el Dr. Harry Eagle, quién revisó las necesidades nutricionales de las células mamíferas en cultivos celulares y enfatizó la importancia de la glutamina como nutriente.¹⁴⁷ Al igual, Krebs mencionó que la mayoría de los aminoácidos tienen funciones múltiples, pero que la glutamina es excepcionalmente versátil.¹⁴⁸

La glutamina juega un papel en numerosas vías metabólicas, y las funciones que tiene dentro del organismo se han identificado.¹⁴¹

- a) Sustrato para la síntesis proteica (codones CAA y CAG).
- b) Sustancia anabólica / trófica para músculo; intestino (factor de competencia).
- c) Control del balance ácido-base (amoniogénesis renal).
- d) Sustrato para ureogénesis hepática.
- e) Combustible para enterocitos.
- f) Combustible y precursor de ácidos nucleicos e importante en la generación de productos citotóxicos en las células inmunocompetentes.
- g) Recolector de amonio.

- h) Sustrato para la síntesis de Arginina y Citrulina.
- i) Donador de nitrógeno (nucleótidos, amino azúcares, coenzimas).
- j) Transportador de nitrógeno (1/3 del nitrógeno circulante).
- k) Precursor para la síntesis del ácido δ –aminobutírico.
- l) Lanzadera para el glutamato (sistema nervioso central).
- m) Uno de los principales sustratos para la producción de glutatión.
- n) Mecanismo de señal osmótica en la regulación de síntesis proteica.
- o) Estimula la síntesis de glicógeno.
- p) Parte del metabolismo L- Arginina – NO.

Aunque la glutamina es considerada un aminoácido no esencial, diferentes estudios han demostrado que las reservas de glutamina endógena y las capacidades de síntesis, pueden no ser suficientes para llenar las necesidades del organismo durante estrés prolongado, estados hipercatabólicos e hipermetabólicos o durante inanición prolongada.^{149,150,151} Esta deficiencia causal, han llevado a designarlo como un aminoácido condicionalmente esencial.¹⁵²

A pesar de las diferencias que existen entre especies, el intestino delgado es el principal órgano de consumo en estado basal postabsortivo.^{153,154} Posterior a una comida, el hígado es el principal consumidor de este aminoácido, actuando como un órgano homeostático. El riñón también consume glutamina, pero este solo llega a ser importante en un estado de acidosis, cuando se necesita una cantidad mayor de glutamina para soportar la amoniogénesis.

Por el contrario, la liberación y producción de glutamina en el organismo la lleva a cabo el músculo esquelético¹⁵⁵ y los pulmones,¹⁵⁶ quienes lo sintetizan desde novo a partir del amonio y glutamato.¹⁴⁸

Glutamina y el intestino delgado.

El tracto gastrointestinal es el principal órgano de consumo de glutamina. El intestino humano consume más del 50% de la extracción neta del aminoácido de la circulación esplénica (aprox. 15g/día), que esta obtiene a partir de la circulación sistémica. La enzima glutaminasa, envuelta en la glutaminólisis y clave en el flujo de ésta, se encuentra en gran cantidad en la mucosa del yeyuno, localizándose el 80% del total corporal de esta enzima.¹⁵⁷

La glutamina proveniente de la dieta (aprox. 5g/día), es menos importante que el circulante, pero este aporte de la dieta toma considerable relevancia en estados de enfermedad, asociados con una substancial reducción de consumo de alimento, que en algunos casos, es una fuente de todos los aminoácidos

incluyendo glutamina; donde la cantidad de glutamina/glutamato a partir del alimento, puede ser crítico para la función del intestino y otros órganos.¹⁴⁵

Considerando la necesidad de glutamina para la función intestinal, y el comportamiento metabólico de los enterocitos para obtenerla, se puede predecir una situación de estrés crítico en el cual todo el metabolismo corporal, especialmente el músculo, se disponen para la formación y liberación de glutamina para el metabolismo energético y síntesis proteica del intestino. El destete del cerdo, esta considerado como una situación de alto estrés y es asociado con un incremento de las concentraciones de hormonas identificadas con este estado, como son los glucocorticoides.¹⁵⁸ Con el incremento de esta hormona, se ha visto como incrementa el metabolismo de la glutamina intestinal.¹⁵⁹

Por ello, la glutamina ha recibido un constante interés como un nutriente en las funciones intestinales, debido al propósito clave en el mantenimiento de la mucosa intestinal, tanto en su estructura como en su función. Se ha considerado, como un combustible metabólicamente indispensable para ser oxidado por la mucosa intestinal¹⁶⁰ y un importante donador de nitrógeno para los enterocitos.¹⁶¹

La importancia de la glutamina en el intestino, no solo se considera por el hecho de que éste toma glutamina arterial, sino que también la puede producir tanto en células de la vellosidad como de la cripta.^{162,163} Por el contrario, glutamato, aspartato o glicina no tienen una extracción desde el flujo porta visceral y sí aparecen en la circulación porta a pesar de su eficiente remoción, libre o unido a proteína desde la dieta.^{164,165} En lechones, el intestino metaboliza prácticamente todo el glutamato de la dieta, durante su absorción, por lo tanto el glutamato y la glutamina en el cuerpo, puede ser completamente derivado desde la síntesis de *novo*.¹⁶⁶

La glutamina, es importante también para el mantenimiento proliferativo y secretor, además de la liberación de glutamato y amonio libre desde esta. La producción de glutamato, puede ser uno de los papeles importantes de la glutamina, ya que el glutamato, ha demostrado poder ser intercambiable con la glutamina para la síntesis de proteína y el mantenimiento de la masa mucosa del intestino.^{167,168}

Enterocitos jóvenes muestran un marcada actividad de la enzima glutamin – sintetasa.^{146,169} Y aunque la oxidación de la glutamina y del glutamato en el intestino es incompleta, esta incrementa con la edad.^{117,170} Los enterocitos de cerdos neonatos, tienen una alta capacidad para utilizar glutamina inmediatamente después del nacimiento, el cual queda alto durante su periodo de lactante,¹⁷¹ siendo alta al nacimiento y a los dos días de nacidos, con un consumo de glutamina de 2.5 – 3.8 nmol/min/10⁶ células; los principales productos generados a partir de esta glutamina son: amonio, glutamato, CO₂ y aspartato.¹⁷² El efecto de la glutamina es más marcado en los enterocitos del lechón, que en los de rata, pollo; pero menor que los enterocitos de humano.¹⁷³

La Glutamina, es uno de los principales combustibles, al igual que glutamato y aspartato en los enterocitos del intestino delgado, comparada su importancia con

la glucosa en otras células. En lechones alimentados, el 94% de la [U-¹³C] glutamina enteral, es utilizada en el primer paso por las vísceras drenadas por la circulación portal contra el 6% de la [U-¹³C] glucosa; mientras que extrae del flujo arterial 20.4% de [U-¹³C] glutamina y 6% de [U-¹³C] glucosa.¹¹⁷ La glutamina entonces, puede auxiliar a la proliferación de enterocitos, como una fuente de energía celular y porque parte de los efectos mitógenos son dependientes de ella.¹⁷⁴

El rol de la glutamina intestinal esta ubicada en: ^{175 176 177}

- Proporcionar al hígado una mezcla óptima de substrato.
- En enterocitos de cerdos puede sintetizar arginina y prolina para todo el organismo y jugar un rol importante anabólico.
- Provee suficiente cantidad de precursores de nitrógeno para vías anabólicas de la mucosa para mantener su estructura y función.

La Glutamina, sirve como un donador de nitrógeno desde su grupo amida, en la síntesis de purinas y pirimidinas, componentes básicos de los nucleótidos; los cuales son esenciales para reparar la mucosa intestinal.¹¹⁸ Este proceso se lleva acabo en el área citoplasmática, mientras que su esqueleto carbonado y el grupo alfa amino entra a las vías que sintetizan aminoácidos, principalmente prolina, ornitina y arginina; esta parte del proceso se lleva acabo en la mitocondria, donde se encuentra con la glutaminasa fosfato dependiente.¹⁷⁸

La glutamina también puede estar jugando un rol en la síntesis de aminoazúcares, lo que implica que:

- Influenciando la síntesis de componentes de la matriz extracelular, la glutamina puede ser un factor en el mantenimiento de la mucosa estructural, especialmente en el mantenimiento de las uniones estrechas de los enterocitos (tight junctions).¹⁷⁹
- Como precursor de N – acetilglucosamida, que aumentan la síntesis de mucina y por tanto el mantenimiento de una barrera pasiva, la glutamina evitaría la entrada de las bacterias.¹⁸⁰

Este aminoácido, parece tener acciones proliferativas por sí misma y probablemente tenga más un rol regulatorio que bioquímico,^{181,182,183} ya que no solo activa específicamente la protein kinasa, envuelta en la regulación de ciclo celular, sino que el metabolismo de la glutamina es necesario para estas acciones regulatorias.^{184,185}

La glutamina, no solo es un precursor de la síntesis proteica, intermediario común de varias vías metabólicas, sino que también toma parte en la regulación ácido – base.¹⁸⁶ En el estrés metabólico, tiene un papel como regulador del balance ácido – base durante la acidosis, ya que se dispone de mayor cantidad de bicarbonato a partir de un cambio en la producción de urea hacia la síntesis de glutamina en el hígado. Por tanto, la ureogénesis disminuida permite que el bicarbonato que no se

utiliza, esté disponible para neutralizar protones; la glutamina es entonces desamidada y desaminada en el riñón y los iones amonio son liberados en la orina.¹⁸⁷

Éste aminoácido, también ha mostrado ser útil en mitigar diarrea, probablemente por la absorción electroneutral y electrogénica,¹⁸⁸ efecto también observado en becerros infectados con E. coli K99, habiendo una absorción tanto en células de la cripta como de la vellosidad.¹⁸⁹

En el caso específico de la producción porcina, la adición de la glutamina en la dieta, previene un incremento en la profundidad de la lámina propia al día 14 posterior al destete, lo que significa un menor número de células inmaduras, lo que sugiere que esta molécula podría favorecer la maduración de los enterocitos. Pero no tuvo efecto sobre la altura de las vellosidades duodenales y sí sobre las yeyunales al día 7 postdestete, cuando se adicionó en 1%, lo que puede reflejar diferencias en el metabolismo y proliferación celular entre el duodeno y yeyuno de los cerdos. Esta adición también incrementa las concentraciones de aspartato, glutamato y alanina.¹⁹⁰

La atrofia intestinal, puede ser explicada por un decremento en los nutrientes que suplen la dieta, debido al mínimo consumo de alimento durante la primera semana postdestete. Es poco probable que la mínima ingestión de glutamina, a partir del consumo de alimento disminuido durante la primera semana postdestete, mantengan correctamente la alta actividad metabólica de los enterocitos, así como también la proliferación, maduración y migración de las células de la cripta o la función de los linfocitos intestinales.^{191 192 193}

Glutamina e inmunidad.

La baja en la disposición de glutamina, resulta en inmunodepresión y existe evidencia que las funciones claves de las células del sistema inmune dependen de la provisión de glutamina;¹⁹⁴ la cual, puede ser muy benéfica para los lechones al momento del destete, donde su sistema inmune está comprometido. En específico, la glutamina es usada para óptima función por los linfocitos mientras que la Arginina y la hormona de crecimiento estimulan la función de los macrófagos en la mucosa intestinal.¹⁹⁵

La nutrición total parenteral (NTP), promueve la traslocación bacteriana desde el intestino en ratas,¹⁹⁶ un proceso que es atenuado cuando se incluye glutamina a la solución.^{197,198} El decremento en la traslocación es asociado con la normalización de las IgA secretoras y una disminución en la adherencia a los enterocitos, sugiriendo que la adición de la glutamina a la nutrición totalmente parenteral puede aumentar la función del sistema inmune intestinal.^{199,200}

La nutrición parenteral, es una herramienta valiosa en los cuidados de enfermos que no pueden obtener nutrientes total o parcialmente vía oral. Pero esta forma de alimentación, puede provocar también una atrofia del tejido intestinal y muy

particularmente de la mucosa hasta en un 50%²⁰¹. Estudios indican que la adición de glutamina a las soluciones destinadas a la NTP, acelera la recuperación del intestino, provocada a partir de la atrofia por inanición y las disfunciones que acompañan a esta.^{160,198}

Como regla general, la depleción de glutamina que comúnmente se desarrolla durante la sepsis, tiende a ser más severa y de larga duración, si el insulto séptico es particularmente persistente y no tratado. Las endotoxinas, aceleran la liberación de glutamina y se provoca un incremento en la síntesis de glutamina al doble para evitar la rápida disminución de las reservas de glutamina a corto plazo.^{202,203} Los glucocorticoides, juegan un papel importante pero no exclusivo en el incremento de la glutamin – sintetasa. Aunque llega un punto en que el incremento de la glutamin – sintetasa, no compensa a la glutamina liberada por la glutaminasa.²⁰⁴ Las concentraciones de glutamina en sangre, también fallan marcadamente seguido de un estrés catabólico como emaciación, cirugía y trauma.^{205,206}

Cuando lo anterior sucede, la caída en la concentración de glutamina excede la de todos los otros aminoácidos y persiste durante la recuperación del daño, aun cuando los otros aminoácidos han recobrado sus niveles normales. El retorno a la normalidad de sus niveles antes del daño, coincide con el regreso a la capacidad funcional del paciente. Consecuentemente, la glutamina es de interés para clínicos y nutriólogos y su interés ha estimulado conferencias y trabajos, que han llevado a la hipótesis de que la glutamina es un nutriente condicionalmente esencial.

El objetivo de este trabajo, fue evaluar la adición de glutamina a la dieta de cerdos destetados precozmente, sobre la morfología de las vellosidades intestinales, y su impacto sobre los parámetros productivos, así como la respuesta inmunológica sistémica, después de haber sido desafiados al virus de la Gastroenteritis transmisible.

Justificación.

La atrofia de las vellosidades intestinales, provocada por el destete temprano, disminuyen la capacidad digestiva del lechón, que evita aproveche eficientemente los nutrientes que le aporta la dieta, cayendo los parámetros productivos de estos animales y por tanto las ventajas de rentabilidad de obtener cerdos más pesados al finalizar su estadía en el área de destete. Además, el cerdo se encuentra inmaduro y disminuido en su sistema inmune durante las edades precoces a las que es destetado de manera comercial, haciéndolo susceptible a enfermedades, principalmente entéricas, dentro de las cuales se encuentra la diarrea posdestete que tiene múltiples etiologías y gran impacto económico, durante el periodo inmediato a este manejo.

La inclusión L-glutamina en la dieta, ha mostrado evitar la atrofia de las vellosidades en el intestino en lechones destetados precozmente, en un ambiente de bajo microbismo. Pero la producción porcina comercial se desarrolla en ambientes donde los cerdos son desafiados inmunológicamente de forma constante, y la glutamina también registra un papel importante en la eficiencia y eficacia del sistema inmune cuando este es estimulado por patógenos.

Por ello, en el presente trabajo se decidió utilizar glutamina adicionada a una dieta para cerdos jóvenes, en lechones destetados precozmente, desafiados ante un virus que afecta las vellosidades y observar su efecto sobre la integridad intestinal y productiva de estos animales, así como su efecto en el sistema inmune.

Objetivo.

Ubicar el impacto de la adición de 1% de glutamina en la dieta de lechones destetados precozmente, sobre la integridad de la mucosa en las diferentes porciones del intestino delgado, la producción sistémica de anticuerpos y los parámetros productivos, después de ser desafiados ante el virus de la Gastroenteritis transmisible.

Hipótesis.

La adición de glutamina en la dieta lechones, favorecerá la integridad de las vellosidades intestinales, durante el periodo crítico posterior al destete y después de ser desafiados con el virus de la Gastroenteritis transmisible, así como incrementará la capacidad inmunológica del lechón para afrontar este desafío antigénico. Con ello los cerdos tendrán un mejor rendimiento productivo.

Material y Métodos.

Localización.

El presente estudio se realizó en los corrales de nutrición del Departamento de Producción Animal: Cerdos, en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Ciudad Universitaria.

Animales y Alojamiento.

En el presente trabajo, se utilizaron 35 cerdos recién destetados de 14 ± 1 días de edad y 4.6 ± 0.2 Kg. de peso, producto de la cruce de cerdos híbridos especializados en la producción de animales para abasto, provenientes del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensionismo en Producción Porcina (C. E. I. E. P. P.), propiedad de esta universidad y ubicada en el Municipio de Jilotepec, Estado de México.

En la etapa anterior al destete, los lechones recibieron las prácticas de manejo rutinarias para cerdos de esta edad como son: corte y desinfección de ombligo; aplicación de hierro al tercer día de edad y castración de los machos a los 5 días de edad.

La granja tiene una historia de no presentar casos de enfermedad por el virus de Gastroenteritis Transmisible (GET), lo cual es relevante, ya que para el presente trabajo se utilizó este virus como desafío antigénico. Así que los anticuerpos que se detectaron después del desafío correspondían a la reacción inmune contra el virus inoculado durante el periodo experimental, y no a los maternos, ni a una cepa viral presente en la granja. Aun así se tomaron muestras de sangre en lechones que se encontraban en maternidad por lo menos un mes antes de realizar la prueba, con el fin de saber si la granja es positiva a el virus de GET, mediante la prueba de suero - neutralización.

Al momento de su traslado a las instalaciones de esta facultad, los cerdos se alojaron en un edificio de ambiente controlado con una dimensión 9.2 m x 9.6 m que cuenta con 8 corrales, distribuidos en cuatro corrales de cada lado, y un pasillo central.

Cada corral tiene un dimensión de 3.8 x 2.3 metros, construida de pisos y paredes de cemento. Además, cuentan con un comedero para colocar alimento preiniciador, con una dimensión de 75 x 20 x 60 cm. de cinco bocas y una capacidad de 40 Kg (marca Kane, modelo PNF30, USA) que fueron utilizados durante todo el periodo experimental.

También cuentan con 2 bebederos de chupón desmontables, para cerdos recién destetados con una capacidad de 7.5 l (Marca KANE, modelo KPW-B, USA), además de cuatro bebederos de chupón dos de los cuales se encuentran ubicados a una altura de 0.39 m y otros dos a 0.70 m, lo cual permite un libre acceso a la fuente de agua según la edad y tamaño del animal. A los cerdos recién destetados también se les proveyó de dos lechoneras de madera por corral con dimensiones de 90 x 60 x 60 cm., con un foco de 200 watts como fuente de calor y un tapete térmico por lechonera. La temperatura del edificio se monitoreó mediante termómetros de máximos y mínimos, que se encontraban a la altura del lomo del animal. La ventilación esta regulada mediante cuatro extractores ubicado dos a cada lado en la parte superior del edificio. Las instalaciones fueron lavadas, encaladas y desinfectadas una semana antes de la llegada de los animales.

Tratamientos.

Los animales a su arribo se distribuyeron aleatoriamente en seis corrales, con cinco animales por corral, para posteriormente ser distribuidos en uno de dos tratamientos, control y experimental. El tratamiento control (0% Glutamina) consistió únicamente de una dieta preiniciadora comercial para cerdos destetados precozmente (Dieta NUPIG SEW, Nutec) sin la adición de L – Glutamina (Lab. Kyowa Hakko Co. Ltd, Tokio Japón). El tratamiento experimental consistió en la dieta preiniciadora comercial más la adición de 1% de L – Glutamina durante 21 días posterior al destete.

La cantidad de L – Glutamina que consumió el grupo experimental se calculó a partir del consumo diario de alimento promedio por corral. Este se obtuvo al restar la cantidad de alimento no consumido a la cantidad de alimento colocado el día anterior, por tanto el consumo de alimento se midió diariamente a lo largo de los 21 días del periodo experimental. El resultado de esta operación se multiplicó por 0.01, obteniendo así la cantidad total de L – Glutamina (1%), que se dividió entre el número de animales del corral. La glutamina que consumió cada animal se diluyó en aproximadamente 10 ml de agua y se dosificó mediante una jeringa. Este manejo se realizó durante los 21 días del periodo experimental; para mantener la uniformidad en el manejo entre los grupos experimentales, los lechones del grupo control recibieron únicamente agua en la jeringa.

Al cuarto día posterior al destete, los lechones de ambos grupos fueron inoculados por vía oral con el virus de Gastroenteritis Transmisible con 1×10^6 dosis infectantes, en 2 ml de medio de cultivo celular como vehículo, por animal.

Toma de Muestras.

El día de arribo de los animales a las instalaciones de la F. M. V. Z., se tomaron al azar y se sacrificaron 5 lechones para obtener muestras que se utilizaron como datos basales, mientras que los 30 animales restantes se distribuyeron al azar en dos tratamientos (un control y un experimental). El día 5, 14 y 21 posdestete se tomaron al azar 5 animales de cada tratamiento y se sacrificaron, siguiendo los lineamientos para el trato humanitario de los animales establecidos por la F.M.V.Z. de la U. N. A. M.²⁰⁷

Previo a su sacrificio, se obtuvo sangre de la vena yugular que fue recolectada con tubos vacutainer sin anticoagulante para la separación de suero; y se congelaron a -20° C para su posterior análisis.

Para sacrificar a los lechones, se les aplicó de forma intracardiaca una sobredosis de Pentobarbital sódico. Al momento de estar en la fase de anestesia total, la cual se verificó al observar el nulo reflejo mediante la aplicación de presión con una pinza Kelly en el cojinete plantar, se procedió al desangramiento del animal por el corte de las yugulares y la carótida.

Una vez desangrado el animal, se realizó la exposición de las vísceras de la cavidad abdominal y la identificación del intestino delgado para la toma de muestras de sus tres porciones (duodeno, yeyuno e íleon). De la porción duodenal se tomó un fragmento de 10 cm. que inicia a partir del final del esfínter pilórico. Para la porción del yeyuno, se tomó la misma cantidad a la mitad del intestino delgado y del íleon. De esta última porción, la toma de muestra se realizó 10 cm antes de llegar a la válvula ileocecal. La conservación de las muestras se realizó al colocar una parte de cada una de las porciones de intestino en viales previamente identificados, embebido el tejido con un protector criogénico (tissuetec) y colocadas en nitrógeno líquido. Otra de las porciones se colocó dentro de cápsulas para embeber tejidos en parafina, también previamente identificadas y fijadas durante 24 horas a 4° C en PLP, para posteriormente deshidratar en alcohol (70, 90, 100%), clarificar en xileno y montar en parafina y ser seccionadas y teñidas con hematoxilina – eosina.

También se tomó una porción de aproximadamente 20 cm, de la porción media del yeyuno, que se mantuvo en congelación a -20° C para intentar el aislamiento viral.

Las muestras de sueros sanguíneos, previamente identificados, fueron colocadas en congelación para su conservación y posterior aplicación de pruebas de diagnóstico de la presencia del virus.

Variables de respuesta.

Parámetros productivos.

Se llevó a cabo el registro de los principales parámetros productivos a lo largo de todo el periodo experimental, como son: Peso, Ganancia diaria de peso (GDP), Consumo diario de alimento (CDA) y Conversión Alimenticia (C. A.).

El registro de los pesos se realizó al inicio del periodo experimental, al día 5, 14 y 21 postdestete, en ambos grupos experimentales. Con ello se calculó la GDP entre los periodos mencionados. El CDA se registró diariamente, ya que de ello dependió el consumo de glutamina de los cerdos asignados a dicho tratamiento. Para tal efecto, se obtuvo el valor de CDA mediante la resta del alimento no consumido o sobrante, al alimento colocado el día anterior. La C. A. se calculará a partir de la división del CDA entre la GDP, para cada periodo.

Histología.

En los cortes histológicos las variables de respuesta fueron la altura de 10 vellosidades con mejor integridad; así como la profundidad de las criptas adyacentes a éstas para cada segmento. La altura de las vellosidades, se midieron desde la abertura de la cripta hasta la punta de la vellosidad. La profundidad de las criptas se midió desde su base hasta donde comienza la abertura de la cripta. Para ello se utilizó un microscopio óptico binocular con luz integrada y un ocular graduado (1mm / 100).

Aislamiento viral.

Cada una de las porciones de 20 cm de yeyuno, se maceró por separado en una licuadora, a este se le adicionó 20 ml de medio de cultivo MEM sin suero. Como siguiente paso, se centrifugó a 2000 rpm por 10 min y se pasó el sobrenadante por un papel filtro convencional para separar partículas grandes; después por un prefiltro de poro 1 μm , seguido el filtrado de una serie de membranas con un diámetro de poro de 0.60, 0.45 y 0.22 μm , respectivamente y de forma séptica.

Nuevamente, se pasó el filtrado por una membrana de 0.20 μm en una campana de flujo laminar para obtenerlo de manera estéril, posteriormente se colocó cada filtrado en botellas estériles y se congeló.

Se prepararon placas de 96 pozos de cultivo celular con células ST para ser inoculadas con los filtrados de yeyuno de cada cerdo y así observar el efecto citopático provocado por el virus. En cada pozo de la placa se colocaron 100 μl de células ST más 50 μl de medio de cultivo celular MEM sin suero. Después se colocó a cada pozo de la parte superior, 50 μl del filtrado seguido de diluciones dobles del primer pozo hasta inocular los 7 pozos inferiores restantes obteniendo un volumen final por pozo de 150 μl ; se incubaron durante 48 h a 36° C en una

estufa de cultivo; la inoculación de la placa se realizó en forma estéril. Se utilizaron como control positivo el aislamiento de virus de GET de un caso severo, diagnosticado por el laboratorio de diagnóstico del Departamento de Producción Animal: Cerdos.

Pasado el periodo de incubación se retiró el sobrenadante de forma cuidadosa para evitar dañar el monoestrato celular. Esto se logra al inclinar un poco la placa y aspirar el sobrenadante con las puntillas desde la pared del pozo.

Del sobrenadante obtenido se transfirieron 70 μ l de este a otra placa con 200 μ l de células ST a su pozo correspondiente, dejándose incubar nuevamente por 48 h a 36° C; la transferencia de sobrenadante a una nueva placa se realizó una vez más con el fin de obtener un purificado del virus, ya que en el primer aislamiento, el efecto citopático puede ser provocado por otras sustancias del tejido y/o contenido intestinal y no únicamente por el virus.

Una vez retirado el sobrenadante de las placas, estas se fijaron con alcohol etílico por 5 minutos y se tiñeron con cristal violeta para posteriormente observarse al microscopio para realizar su lectura. Los pozos que presentan espacios vacíos de la monocapa celular, a causa del efecto citopático del virus, se toman como positivos.

Técnica de Prueba de Microtitulación para Gastroenteritis Transmisible.

Cultivo celular.

La línea celular de testículo de cerdo, es la línea de elección para el virus del GET.

Propagación del virus.

Botellas confluentes de cultivo fueron inoculadas con 10 ml del stock de virus que contenían 100 – 1000 TCID₅₀ por ml. Al inoculo se le permitió ser absorbido por una hora a 37° C con ocasional movimiento. Treinta ml de medio MEM (de las siglas en inglés, Medio Mínimo Esencial) suplementado con 5 % de suero fetal bovino, se adicionó al frasco después de que el inoculo de virus es decantado. Los cultivos fueron observados diariamente para revisar el efecto citopático desarrollado. Cuando hubo un 75 a 95 % del monoestrato con efecto citopático, los frascos se congelaron a - 80° C.

El contenido de los frascos fue descongelado y centrifugado a 2500 rpm por 10 min, posteriormente el sobrenadante de la botella fue colocado en alícuotas.

Para determinar la concentración de virus, se diluyó un volumen del stock de virus en una proporción de 1:10, utilizando tubos de prueba y medio MEM. Ocho pozos fueron utilizados para cada dilución del virus. Normalmente un logaritmo de 8, base 10 es un esquema satisfactorio (e.g., 10⁻¹ hasta 10⁻⁸), 50 μ l de medio MEM

se colocó en cada uno de los pozos. El mismo volumen de cada una de las respectivas diluciones de virus se adicionó a los pozos adecuados. Las células fueron preparadas como previamente se describió y 0.15 ml de cada suspensión de células fue adicionado a cada pozo.

Después de 6 días de incubación las diluciones del virus se leyeron para determinar el efecto citopático, en el caso de gastroenteritis generalmente se requiere de 4 a 6 días antes de obtener una lectura final. El número de pozos infectados se expresó en proporción al número de pozos inoculados por dilución de virus (e.g., 4/8: 4 pozos infectados de 8 inoculados). El método Karber fue utilizado para aproximar el 50% del punto final

$$\Sigma T_{50} = t^* + \Delta t$$

Donde t^* es la mayor dilución del virus demostrando el 100% de infectividad en el número de pozos inoculados.

Donde Δt es el número de pozos infectados en t^* y dividido sobre el número de pozos inoculados, mínimo $\frac{1}{2}$ (50%).

Técnica de micro sueroneutralización para Gastroenteritis Transmisible.

Especímenes.

Se colectaron en tubos comerciales para sangre, en el caso de GET. Después de tomar la sangre se dejó liberar el suero y posteriormente se congeló. Un mínimo de tres mililitros fue tomado para la prueba.

Tratamiento del suero.

Los sueros fueron inactivados con calor a 56° C por 30 minutos y diluidos 1:2 usando medio MEM.

Diluyente.

Medio MEM con antibiótico es usado como diluyente de suero y virus. El diluyente es adicionado en un volumen de 50 μ l.

Configuración de la dilución de suero.

Las muestras son probadas utilizando pozos pareados para cada dilución. Pozos pareados en los pozos de las primeras filas sirven como suero control. Los pozos controles consisten de 50µl de una dilución de suero 1:2 y 50 µl de medio.

Cincuenta µl de una dilución de suero 1:2 son adicionados a cada uno de los sueros pareados con dilución 1:4. La titulación del suero es iniciada en la segunda fila de pozos. La titulación del suero resulta en un esquema de dilución final de 1:4 hasta 1:256.

Controles: Para determinar el TCID aproximado de virus usado en el test, una titulación reversa es realizada. Diluciones de titulaciones virales de 10^{-1} , 10^{-2} , y 10^{-3} son inoculadas dentro de 8 pozos por dilución como se describió anteriormente (propagación del virus).

En adición a la titulación reversa y a los previos sueros control, sueros positivos y negativos son usados en cada prueba.

Prueba: El inventario de virus es diluido a una concentración de 300 TCID₅₀ por 50µl de inóculo una titulación de virus previo.

La placa es inoculada con 50µl de virus por pozo, se mezcla el virus y la dilución de suero y se permite neutralizar por una hora a 37° C. El cultivo celular es sembrado en una proporción de 0.15 ml por pozo.

Se coloca papel celofan en la placa para cubrirla y se hace una pequeña perforación en cada pozo y se deja incubar esta a 37° C y se observa para efecto citopático después de 3 a 6 días de incubación.

Interpretación.

La titulación reversa del virus es leída y la prueba de la dosis del virus es calculada como se describió anteriormente. Para gastroenteritis transmisible una dosis de virus de 100 a 1000 TCID₅₀ es aceptable.

La lectura de la prueba se realiza primero por los sueros controles, para asegurarse de que no fueron tóxicos y/o contaminados. La actual dilución de suero se lee si los controles son normales y se registran como el número de infectados sobre el número de inoculados. La mayor dilución de suero que demuestre 100% protección en contra de la infectividad viral de las células en los pozos pareados es designada como el punto final del título de anticuerpos. Si la citotoxicidad y o contaminación ocurre en la dilución 1:4, los resultados se registran como no probados.

Técnica de ELISA.

En el presente trabajo, se analizaron los sueros obtenidos de los cerdos mediante una prueba de ELISA con un Kit comercial (SVANOVIR®, Transmissible Gastroenteritis Virus/Porcine Respiratory Coronavirus EIA Differentiating Test Kit, Lab. SVANOVA Biotech, Num. Cat. 10-7500-02).²⁰⁸

Procedimiento.

Para correr la prueba en la placa del Kit, se necesitan 2 x 50µl de suero o plasma sin diluir de cada muestra, y cada muestra requiere de dos pozos de la placa. Las muestras pueden ser frescas, refrigeradas o previamente congeladas.

Antes de utilizar los reactivos del kit, se permitió equilibrar a temperatura ambiente (18 – 25° C). Se lava la placa 3 veces con la solución buffer PBS-Tween, llenando y vaciando completamente los pozos en cada lavado. El vaciado, se voltea la placa y se sacude con fuerza para eliminar todo el líquido que pueda quedar.

En el pozo 1-A y 2-A se colocó 100µl del suero control positivo a virus GET, que incluía el kit. En el pozo 1-B y 2-B el suero control negativo (100µl) y en el pozo 3-A y 3-B se colocó suero control positivo (100µl), al virus de coronavirus respiratorio porcino (CVRP).

Se adicionó 50µl de PBS-Tween a todos los pozos donde se colocaron las muestras. Se adicionó entonces 50µl del suero sin diluir a cada pozo en duplicado. Se tapó la placa y se dejó reposar por 2 h a 37° C. Al término del tiempo se volvió a lavar la placa como previamente se hizo.

Se adicionó entonces 100µl de la solución anti – GET a cada uno de los pozos que contenía cada muestra, mientras al otro (duplicado) se le colocó 100µl de Anti – CVRP/GET.

Se incubó por 30min a temperatura ambiente.

Nuevamente se lavó la placa 3 veces con la solución PBS-Tween. Entonces se le adicionó 100 µl de la solución conjugada de IgG's de caballo antirátón rábano peroxidasa (HRP), se dejan incubar por 30 min a temperatura ambiente.

Se volvió a lavar la placa 3 veces con PBS-Tween.

Se colocó 100µl de la solución substrato (Tetrametilbenzidina en un substrato buffer que contiene H₂O₂). Se incubó por 10 min a temperatura ambiente. El inicio del tiempo se tomó al terminar de llenar el primer pozo.

Se paró la reacción, adicionando 50µl de la solución para interrumpir la reacción que contiene el Kit. Esto en el mismo orden en que se habían llenado los pozos con la anterior solución.

Se sacude entonces la placa para eliminar el contenido de los pozos. La medición de la densidad óptica se realiza en un fotómetro de microplacas con un filtro de 450nm. Esta medición se realizó seguida de la aplicación de la solución para interrumpir la reacción.

Cálculos.

Se calculan dos puntos de corte:

Valor de corte A = 0.5 x la media de la densidad óptica a 450nm del suero control negativo con el suero control positivo anti – GET.

Valor de corte B = 0.5 x la media de la densidad óptica a 450nm del suero control negativo con el suero control positivo anti – CVRP/GET.

Se deben de realizar los cálculos por separado para cada suero control positivo.

Interpretación de resultados.

De los valores arrojados por el fotómetro, se compararon con los valores de corte correspondiente. En donde se colocó el Anti – GET contra el valor de corte A, y donde se colocó el Anti – CVPR/GET con el valor de corte B.

Se diagnostican como muestras positivas aquellas cuyos valores son menores al punto de corte correspondiente, y como negativas las que son mayores al punto de corte.

Diseño Experimental.

Se utilizó un diseño completamente al azar. La unidad experimental fueron las criptas y vellosidades para la morfología intestinal. Así como lo fue el lechón para la prueba de suero – neutralización, ELISA y aislamiento viral, mientras que para los parámetros productivos fue el corral.

Para las diferentes variables ha analizar se utilizó un análisis de varianza y una prueba estándar de Tukey para la separación de medias. Los tratamientos y los resultados se analizaron utilizando el procedimiento GLM del paquete estadístico SPSS V. 10.

El modelo estadístico:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + E(ij)$$

μ = media poblacional

τ_i = efecto del i ésimo tratamiento $1 < i < 3$

$E(ij)$ = error experimental

Resultados.

Parámetros productivos.

Pesos y Ganancia Diaria de Pesos.

Los pesos y las ganancias diarias de pesos (GDP) se muestran en el cuadro 1 y la gráfica 1 y 2.

El peso inicial fue de 4.64 ± 0.32 y 4.69 ± 0.22 Kg. ($P < 0.79$) para los grupos experimentales con 0% y 1% de inclusión de L – Glutamina en la dieta, este peso corresponde al inicio del periodo experimental a los 14 días de edad de los cerdos, momento en el cual se realizó el destete de los mismos. A los 5 días posteriores al destete ambos grupos experimentales alcanzaron pesos similares (5.08 y 5.13 0.35 Kg. para 0% y 1% de glutamina, respectivamente). Durante la segunda semana posterior al destete los cerdos del grupo 1% fueron 8.9% más pesados ($P < 0.01$) que los del 0% (8.01 vs. 7.29 Kg. para 1% y 0% respectivamente). Los cerdos del grupo experimental 1% mostraron una tendencia a ser más pesados ($P < 0.09$) al obtener 1.1 Kg. más peso que su contraparte que consumió 0% de L- Glutamina (12.0 vs. 10.9 Kg. para 1 y 0% de L-Glutamina, respectivamente).

En el periodo que corresponde de 0 a 5 días posteriores al destete ambos grupos experimentales obtuvieron GDP similares (88 ± 16 vs. 88 ± 18.79 grs. para 0% y 1% de L-Glutamina, respectivamente). Durante el periodo de 5 a 14 días posteriores al destete los cerdos que fueron asignados al grupo de 1% de L- Glutamina mostraron una tendencia ($P < 0.13$) a obtener una mayor GDP, siendo esta 13.3% superior a la obtenida en los cerdos del grupo 0% (292.16 vs. 253.26 grs., respectivamente). Los cerdos del tratamiento 1% de L-Glutamina mostraron una GDP 12.4 % superior ($P < 0.04$) que sus contrapartes en 0%, durante el periodo de 14 a 21 días posteriores al destete (517 vs. 453 grs. para 1% y 0% de L-Glutamina, respectivamente).

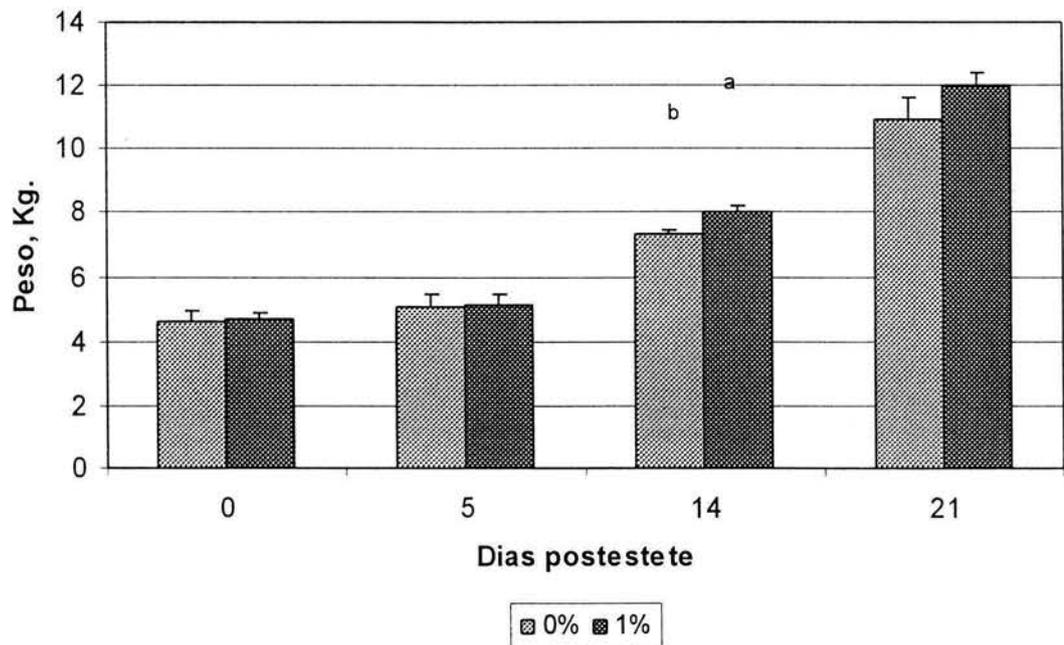
Durante el total del periodo experimental (0 – 21 días postdestete) los cerdos asignados al grupo de 1% de L-Glutamina obtuvieron una GDP de 13%, mayor ($P < 0.03$) que aquellos asignados al grupo 0% de L-Glutamina (347 vs. 301 grs. para 1% y 0% de L-Glutamina, respectivamente).

Cuadro 1. Efecto de la adición en la dieta de L-Glutamina sobre los Pesos y Ganancia diaria de peso de lechones destetados precozmente e inoculados con el virus de gastroenteritis transmisible a los 4 días posteriores al destete.

Variables	Tratamientos		P _R <
	Glutamina		
	0 %	1%	
Peso, Kg.			
Días postdestete			
0	4.64 ± 0.32	4.69 ± 0.22	.79
5	5.08 ± 0.36	5.13 ± 0.35	.86
14	7.29 ± 0.18 _b	8.01 ± 0.23 _a	.01
21	10.9 ± 0.70	12.0 ± 0.40	.09
Ganancia diaria de peso, g			
0 – 5	88.00 ± 32.88	88.00 ± 32.83	1.00
5 – 14	253.26 ± 14.97	292.16 ± 14.95	0.13
14 – 21	453.33 ± 17.90 _b	517.61 ± 17.87 _a	0.04
Total	301.23 ± 10.71 _b	347.90 ± 10.69 _a	0.03

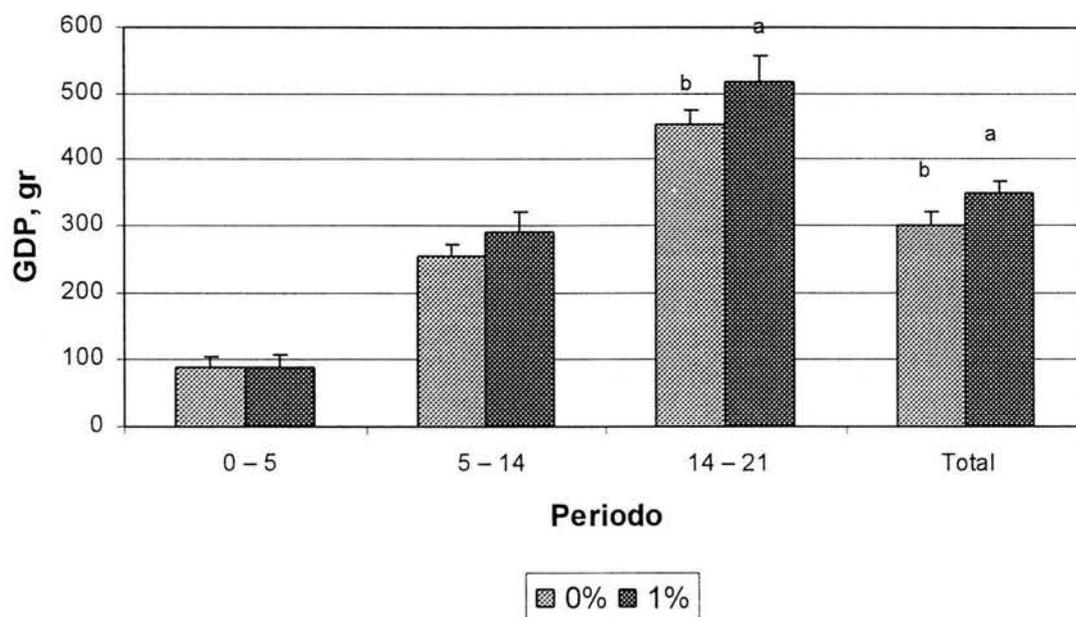
a, b = Letras distintas en la misma fila indican diferencia estadística P < 0.05

Figura 1. Efecto de la adición de L - Glutamina en la dieta sobre el peso de cerdos destetados precozmente e inoculados con el virus de gastroenteritis transmisible a los 4 días posteriores al destete.



a, b = Letras distintas indican diferencia estadística P < 0.05

Figura 2. Efecto de la adición en la dieta de L- Glutamina sobre la ganancia diaria de peso (GDP), en cerdos destetados precozmente e inoculados con el virus de gastroenteritis transmisible a los 4 días posteriores al destete.



a, b = Letras distintas indican diferencia estadística $P < 0.05$

Consumo diario de alimento.

Los datos de consumo diario de alimento (CDA) se muestran en la cuadro 2 y en la gráfica 3.

Durante los primeros cinco días posteriores al destete, los cerdos asignados al grupo de 1% y 0% de L-Glutamina no mostraron diferencias estadísticas en su CDA, pero fue 6% superior el primero (121.1 vs. 113 grs. para 1% y 0% de L-Glutamina, respectivamente). Mientras que en el periodo que corresponde de los 5 a 14 días posdestete, el grupo asignado a 1% fue superior 15.8% en su CDA de forma significativa ($P < 0.05$) con respecto a los de 0% de L-Glutamina (325 vs. 273 grs. para 1% y 0% de L-Glutamina, respectivamente). El CDA entre los 14 y los 21 días posdestete se observó una tendencia a mayor ($P < 0.13$) consumo en el grupo de cerdos que fueron adicionados con 1% de L-Glutamina en comparación con aquellos que no la recibieron (692 vs. 619 grs. para 1% y 0% de L-Glutamina, respectivamente).

No se observó diferencia estadística significativa ($P < 0.32$) en el CDA entre grupos durante el total del periodo experimental (0 -21 días posdestete), aunque existió un 12.8% de mayor CDA en los cerdos con 1% de adición de L-Glutamina comparada con los de 0% en el mismo periodo (304 vs. 265 grs., respectivamente).

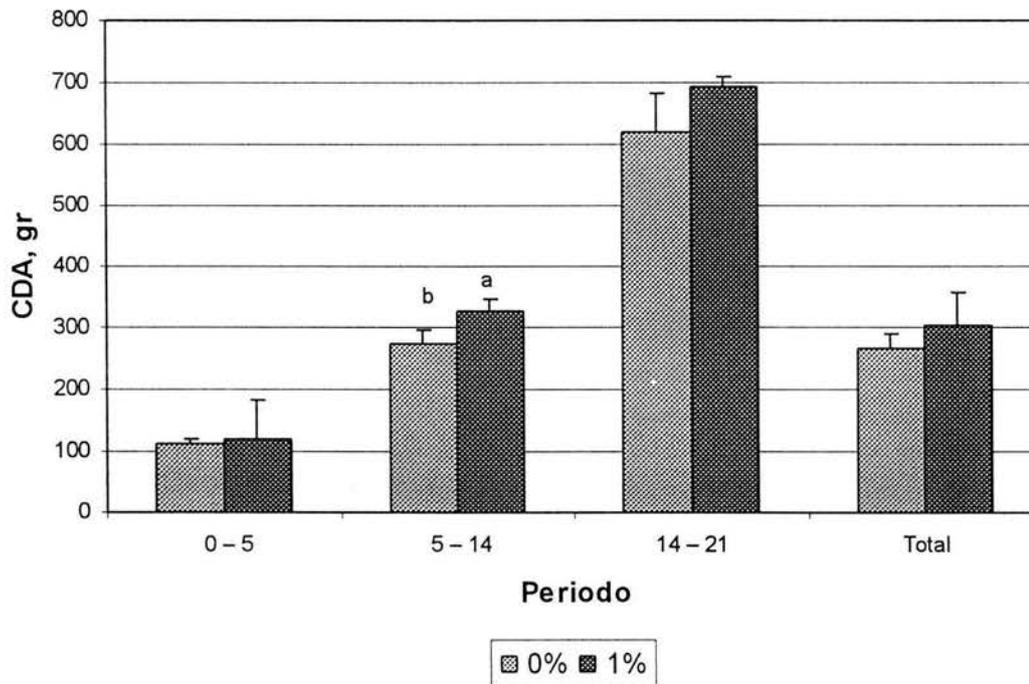
Cuadro 2. Efecto de la adición en la dieta de L-Glutamina sobre el consumo diario de alimento (CDA) de cerdos destetados precozmente e inoculados con el virus de gastroenteritis transmisible a los 4 días posteriores al destete.

Variables	Tratamientos		P _R <
	Glutamina		
	0%	1%	
Periodo, días	C D A ¹ , gr.		
0 – 5	113.89 ± 25.43	121.11 ± 25.39	0.85
5 – 14	273.62 ± 13.24 _b	325.05 ± 13.22 _a	0.05
14 – 21	619.04 ± 27.18	692.85 ± 27.14	0.13
Total	265.66 ± 25.60	304.37 ± 25.40	0.32

a, b = Letras distintas en la misma fila indican diferencia estadística P < 0.05

¹CDA Consumo diario de alimento.

Figura 3. Efectos de la suplementación de L-Glutamina sobre el consumo diario de alimento (CDA), en cerdos destetados precozmente e inoculados con el virus de gastroenteritis transmisible a los 4 días posteriores al destete.



a, b = Letras distintas indican diferencia estadística P < 0.05

Conversión alimenticia.

Los datos de la conversión alimenticia (C. A.) se muestran en el cuadro 3 y la gráfica 4.

En ninguno de los periodos registrados durante el periodo experimental se encontraron diferencias estadísticamente significativas. La mayor diferencia numérica se observó durante los primeros cinco días posdestete, donde los cerdos a cuya dieta se adicionó con 1% de L-Glutamina registraron una C. A. 14.8% menor que los del grupo 0% (1.15 vs. 1.35 de C. A. para 1% y 0% de L-Glutamina). En el periodo comprendido entre 5 a 14 posdestete no se observó diferencia entre grupos, por ser muy similar la C. A. (1.10 vs. 1.11 para 0% y 1% de L-Glutamina, respectivamente).

En el periodo comprendido entre los 14 a 21 días la diferencia entre ambos grupos fue de 3% (1.36 vs. 1.31 C. A. para 0% y 1% de L-Glutamina, respectivamente) y entre los 0 a 21 días posdestete la diferencia entre grupos fue de 2.5% (1.22 vs. 1.19 C. A. para 0% y 1% de L-Glutamina, respectivamente).

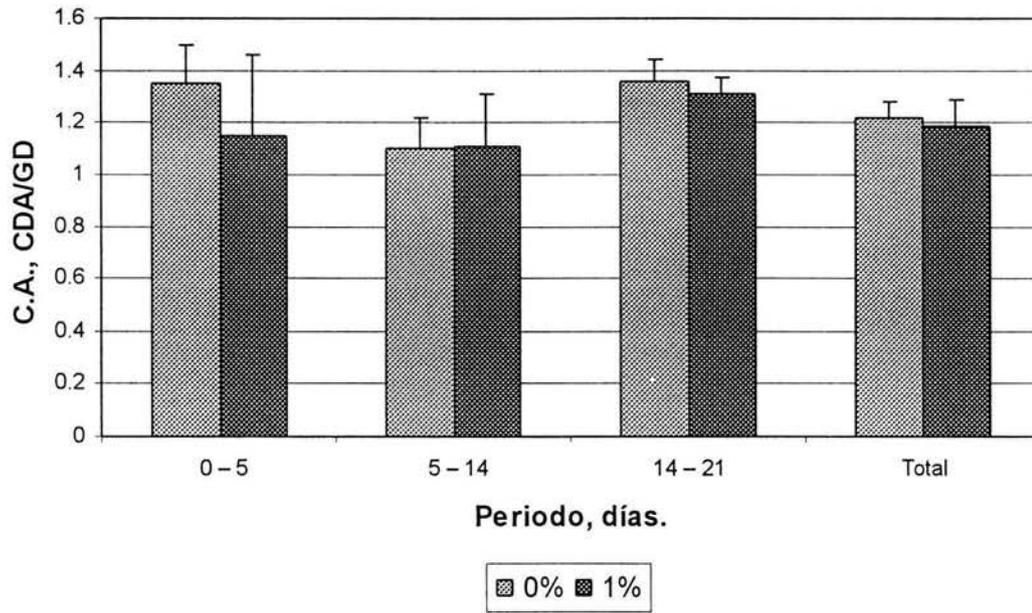
Cuadro 3. Efecto de la adición de L-Glutamina en la dieta sobre conversión alimenticia (C. A.) de cerdos destetados precozmente e inoculados con el virus de gastroenteritis transmisible a los 4 días posteriores al destete.

Variables	Tratamientos		P _R <
	Glutamina		
	0 %	1 %	
Periodo, días.	C. A. ¹		
0 – 5	1.35 ± 0.29	1.15 ± 0.29	0.40
5 – 14	1.10 ± 0.10	1.11 ± 0.10	0.95
14 – 21	1.36 ± 0.04	1.31 ± 0.04	0.49
Total	1.22 ± 0.05	1.19 ± 0.05	0.71

a, b = Letras distintas en la misma fila indican diferencia estadística P < 0.05

¹C.A = Conversión Alimenticia

Figura 4. Efecto de la adición en la dieta de L- Glutamina sobre la Conversión alimenticia (C.A.) de cerdos destetados precozmente e inoculados con el virus de gastroenteritis transmisible a los 4 días posteriores al destete.



Mediciones histológicas.

Comparación entre los diferentes días de observación para los tratamientos y las diferentes porciones intestinales.

Profundidad de las criptas.

Se realizó la comparación de la profundidad de las criptas en cerdos sacrificados al día 0 (controles) 5, 14 y 21 posdestete por porción intestinal y para cada tratamiento, con el fin de observar el comportamiento de las criptas en cada tratamiento durante el periodo experimental.

La profundidad de la cripta en los cerdos asignados a la dieta con 0% y 1% de L-Glutamina se muestra en el cuadro 4 y la gráfica 5.

Duodeno.

Los cerdos con 0% de inclusión de L – Glutamina en su porción duodenal mostraron una disminución en la profundidad de las criptas con respecto a los controles (0 días posdestete), en los tres periodos de evaluación de esta variable (5, 14 y 21 días posteriores al destete. La profundidad de las criptas de los animales controles fueron 13.8%, 1.2% y 2.8% mayores ($P < 0.11$) que la registrada en los cerdos con 0% de L – Glutamina a los 5, 14, 21 días posteriores al destete (169.4 vs. 146.0, 167.2 y 164.6 μm para 0 d, 5 d, 14 d y 21 d posteriores al destete).

El grupo de animales asignados al tratamiento 1% de adición de L – Glutamina registraron un aumento significativo ($P < 0.05$) en la profundidad de las criptas, principalmente a los 14 y 21 días posteriores al destete en un 7% y 17% en promedio al compararlas al día 0 (control) y 5 días posdestete respectivamente (182 y 181 vs. 150 y 169 μm para 21 d, 14 d, 5 d y 0 d posdestete, respectivamente).

Yeyuno.

En la porción yeyunal del intestino delgado, se observó que los cerdos asignados al tratamiento 0% L – Glutamina tuvieron una profundidad de cripta 13.3%, 6.4% y 9.3% menor ($P > 0.05$) para el día 5, 14 y 21 posdestete, respectivamente al compararla con los cerdos al día 0 (160.4 vs. 139, 150 y 145.4 μm para el día 0, 5, 14 y 21 posterior al destete).

Los cerdos del tratamiento 1% de L-Glutamina al día 21 posdestete mostraron una profundidad de la cripta 6.1%, 17.2% y 1.7% mayor ($P < 0.05$) que las registradas al día 14, 5 y 0 posdestete, respectivamente (163 vs. 153, 135 y 160 μm para 21 d, 14 d, 5 d y 0 d posdestete, respectivamente).

Ileon.

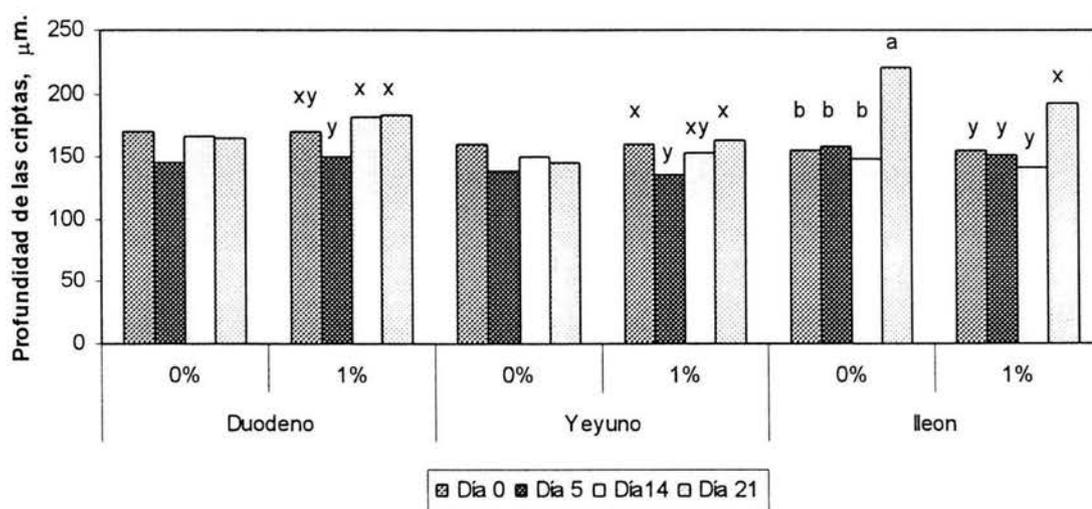
En esta porción intestinal, la profundidad de las criptas incremento con el tiempo posterior al destete en los cerdos sin la adición de L-Glutamina, a los 21 d esta fue 32.6%, 27.8% y 29.2% más profundas ($P < 0.05$) que en los días 14, 5 y 0, respectivamente (219 vs. 148, 158 y 155 μm para el día 21, 14, 5 y 0 posdestete, respectivamente). Los cerdos con la inclusión de 1% de L-Glutamina mostraron una mayor profundidad en las criptas al día 21 posdestete, siendo 25.9% 21.3 y 19.2% más profundas ($P < 0.05$) que las registradas al día 14, 5 y 0 posdestete (192 vs. 142, 151 y 155 μm para 21, 14, 5 y 0 días posdestete).

Cuadro 4. Efecto de la adición en la dieta de L-Glutamina en la dieta sobre la profundidad de las criptas de cerdos destetados precozmente e inoculados con el virus de gastroenteritis transmisible a los 4 días posteriores al destete; comparación entre los valores basales (día 0) y los diferentes periodos de registro.

Variables		Profundidad de la cripta, μm				$P_R <$
		Días posdestete				
Porción	Glutamina	0	5	14	21	
Duodeno	0 %	169.4 \pm 52.8	146.0 \pm 52.2	167.2 \pm 49.2	164.6 \pm 57.0	0.11
	1 %	169.4 \pm 52.8 _{ab}	150.0 \pm 52.2 _b	181.2 \pm 65.6 _a	182.8 \pm 61.8 _a	0.02
Yeyuno	0 %	160.4 \pm 49.6	139.0 \pm 50.7	150.0 \pm 50.5	145.4 \pm 46.2	0.17
	1 %	160.4 \pm 49.6 _a	135.0 \pm 35.0 _b	153.2 \pm 50.7 _{ab}	163.2 \pm 47.3 _a	0.01
Ileon	0 %	155.4 \pm 67.3 _b	158.6 \pm 49.9 _b	148.0 \pm 41.3 _b	219.8 \pm 63.3 _a	0.001
	1 %	155.4 \pm 67.3 _b	151.4 \pm 71.4 _b	142.5 \pm 41.3 _b	192.4 \pm 74.5 _a	0.002

a, b = Letras distintas en la misma fila indican diferencia estadística $P < 0.05$.

Figura 5. Efecto de la adición en la dieta de L-Glutamina sobre la profundidad de las criptas en diferentes días posteriores al destete (14 días) e inoculados con el virus de GET a los 4 días posdestete.



a, b, c = Letras distintas indican diferencia estadística $P < 0.05$

Altura de las Vellosidades.

Se realizó la comparación de la altura de las vellosidades en cerdos sacrificados al día 0 (controles) 5, 14 y 21 posdestete por porción intestinal y para cada tratamiento, y así observar su comportamiento durante el periodo experimental.

La altura de las vellosidades de la dieta con 0% y 1% de L-Glutamina se muestra en el cuadro 5 y la gráfica 6.

Duodeno.

La altura de las vellosidades en el destete (día 0) fue superior ($P < 0.05$) en 33.3%, 41.3% y 3.8% a la observada en los cerdos sin adición de L-Glutamina a los días 5, 14 y 21 posteriores al destete (420 vs. 280, 245 y 406 μm para 0 d, 5 d, 14 d y 21 d posdestete, respectivamente).

Los cerdos que fueron asignados al tratamiento de 1% de adición de L-Glutamina también registraron una disminución en la altura de las vellosidades en todos los periodos observados (5, 14 y 21 días posdestete) con respecto a los cerdos control, estos últimos tuvieron una altura 38.4%, 7.3% y 2.5% mayor ($P < 0.05$) comparadas con los días 5, 14 y 21 posdestete de los en experimentales (420 vs. 258, 389 y 409 μm para el día 0, 5, 14 y 21 posdestete, respectivamente).

Yeyuno.

El grupo de animales con 0% de L-Glutamina adicionada mostraron un aumento en la altura de las vellosidades a los 21 días de destetados los animales, esta altura fue 49.8%, 54.7% y 13.4% mayor que la registrada a los 14, 5 y 0 días posdestete (527 vs. 287, 288 y 456 μm para los días 21, 14, 5 y 0 posteriores al destete, respectivamente).

En aquellos cerdos que recibieron el 1% de L-Glutamina la altura fue menor ($P < 0.05$) en 61%, 33% y 2.6% a los días 5, 14 y 21 posteriores al destete, al compararla con los cerdos controles (456 vs. 177, 303 y 445 μm para los días 0, 5, 14 y 21 posteriores al destete, respectivamente).

Ileon.

La altura de las vellosidades en los cerdos asignados al tratamiento 0% L-Glutamina mostraron una altura 30.2%, 16.1% y 1.1% menor ($P < 0.05$) a los días 5, 14 y 21 posteriores al destete, que la registrada al día 0 (268 vs. 187, 225 y 265 μm para el día 0, 5, 14 y 21 posterior al destete).

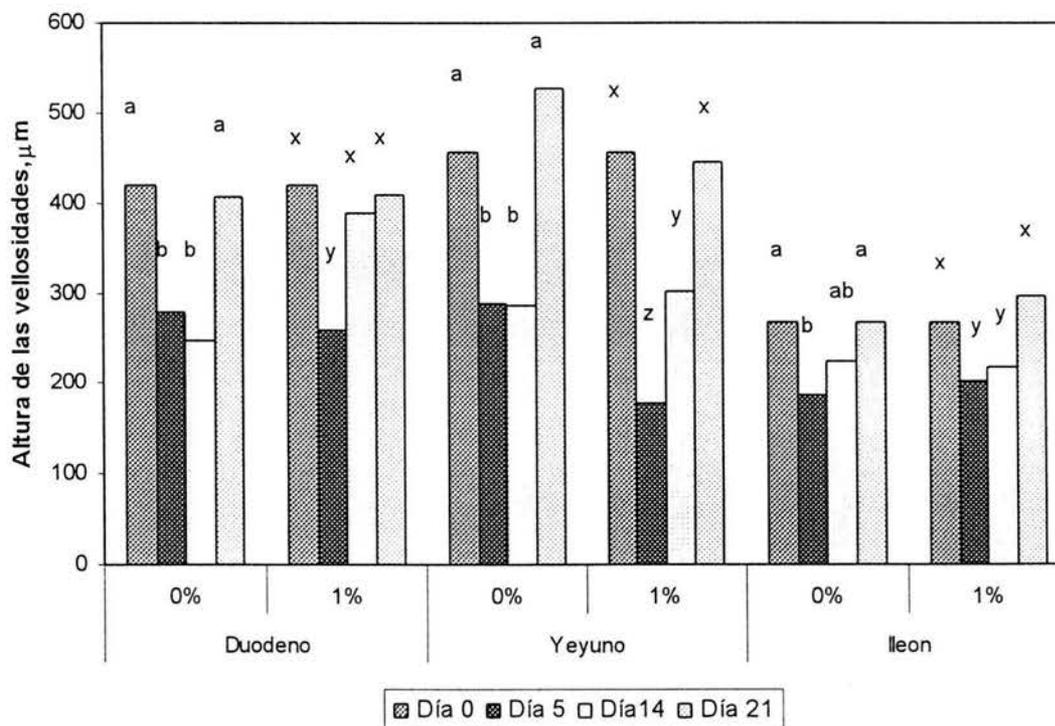
En el caso de los cerdos con 1% de L-Glutamina, la altura promedio de las vellosidades a los 21 días posteriores al destete fue 9.6%, 31.9% y 26.2% superior ($P < 0.05$) al compararla con los días 0, 5, 14 posdestete (297.2 vs. 268, 202 y 219 μm para los días 21, 0, 5 y 14 posdestete, respectivamente).

Cuadro 5. Efecto de la adición en la dieta de L-Glutamina sobre la altura de las vellosidades de cerdos destetados precozmente e inoculados con el virus de gastroenteritis transmisible a los 4 días posteriores al destete; comparación entre los valores basales (día 0) y los diferentes periodos de registro.

		Altura de la vellosidades, μm				
Variables	Glutamina	Días posdestete				$P_R <$
		0	5	14	21	
Duodeno	0 %	420.4 \pm 176 _a	280.0 \pm 100 _b	247.5 \pm 68.8 _b	406.6 \pm 116 _a	0.001
	1 %	420.4 \pm 176 _a	258.6 \pm 82.6 _b	389.5 \pm 142 _a	409.6 \pm 108 _a	0.001
Yeyuno	0 %	456.2 \pm 225 _a	288.8 \pm 107 _b	287.0 \pm 82.9 _b	527.2 \pm 157 _a	0.001
	1 %	456.2 \pm 225 _a	177.6 \pm 66.1 _c	303.0 \pm 58.7 _b	445.0 \pm 125 _a	0.001
Ileon	0 %	268.4 \pm 85.1 _a	187.2 \pm 90.3 _b	225.0 \pm 75.6 _{ab}	265.4 \pm 76.8 _a	0.001
	1 %	268.4 \pm 85.1 _a	202.2 \pm 49.6 _b	219.2 \pm 54.1 _b	297.2 \pm 91.8 _a	0.001

a, b = Letras distintas en la misma fila indican diferencia estadística $P < 0.05$

Figura 6. Efecto de la adición en la dieta de L-Glutamina sobre la altura de las vellosidades en diferentes días posteriores al destete (14 días) e inoculados con el virus de GET a los 4 días posdestete.



a, b, c = Letras distintas indican diferencia estadística $P < 0.05$

Proporción Velloidad : Cripta.

Se realizó la comparación de las proporciones de velloidad : cripta (v : c) en cerdos sacrificados al día 0 (controles) 5, 14 y 21 posdestete por porción intestinal y para cada tratamiento.

La proporción v:c de los cerdos que consumieron la dieta con 0% y 1% de L-Glutamina se muestra en el cuadro 6 y la gráfica 7.

Duodeno.

La proporción velloidad : cripta (v:c) en los animales con 0% de L-Glutamina fue mayor ($P < 0.05$) a los 21 días en 43.4%, 22.7% y 1.42% al compararla con los 14, 5 y 0 días posdestete (2.81 vs. 1.59, 2.17 y 2.77 de radio velloidad : cripta para los 21, 14, 5 y 0 días posdestete).

En los animales asignados al tratamiento de 1% de L-Glutamina, la relación velloidad cripta fue 29.9%, 11.9% y 7.9% mayor ($P < 0.05$) al día 0 posdestete al compararse con los días 5, 14 y 21 (2.77 vs. 1.94 y 2.44 de radio v:c para los 0, 5, 14 y 21 días posdestete).

Yeyuno.

En la porción del yeyuno, en los cerdos con 0% de L-Glutamina, la proporción entre cripta y velloidad fue mayor ($P < 0.05$) a los 21 días posdestete a la registrada a los 0, 5 y 14 días, en 25.3% 38.0% y 46.4% respectivamente (3.94 vs. 2.94, 2.44 y 2.11 radio v:c, para 21, 0, 5, 14 días posteriores al destete, respectivamente).

En el tratamiento con 1% de L-Glutamina la relación v:c fue mayor ($P < 0.05$) a los 21 días en 4.5%, 54.2% y 28.2% en comparación con los días 0, 5 y 14 posdestete (3.08 vs. 2.94, 1.41 y 2.21 radio v:c a los 21, 0, 5 y 14 días posdestete, respectivamente).

Ileon.

La relación entre la altura de las velloidades y la altura de las criptas fue mayor ($P < 0.05$) al día 0 al compararla contra los días 5, 14 y 21 posterior al destete en 34.8%, 18.6% y 35.2%, respectivamente (2.04 vs. 1.33, 1.66 y 1.32 radio v:c a los 0, 5, 14 y 21 días posteriores al destete, respectivamente).

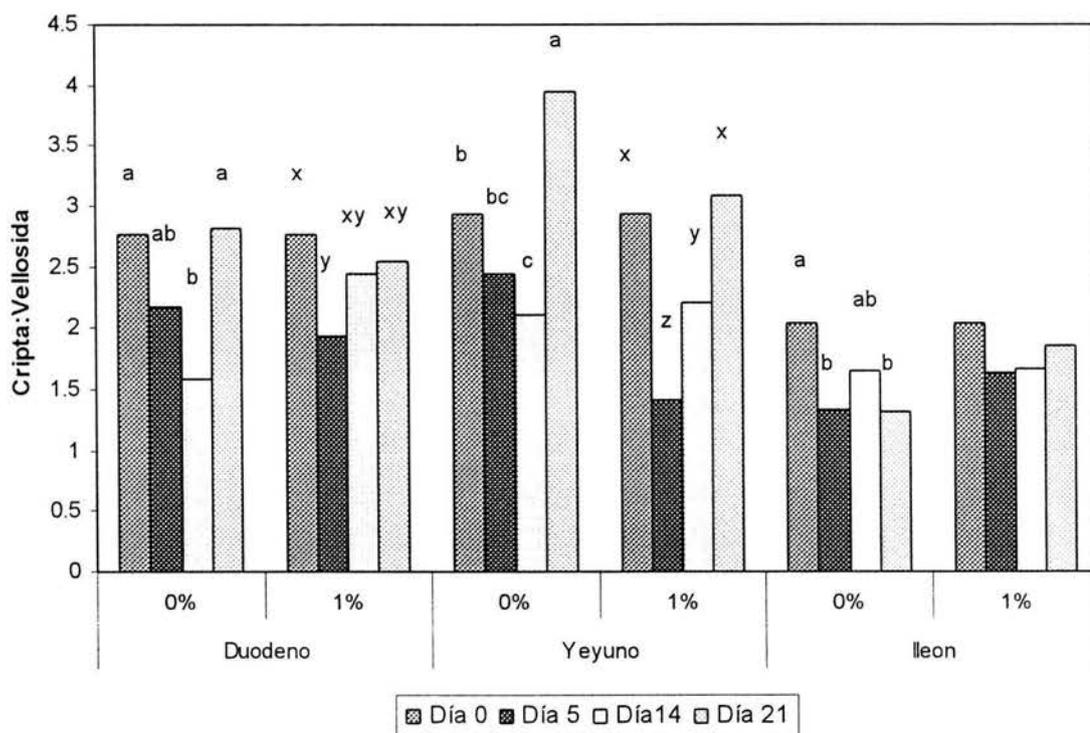
En los cerdos asignados al tratamiento con 1% de L-Glutamina la relación v:c fue 20.0%, 18.1% y 9.3% mayor ($P > 0.05$) al día 0, al compararla con la registrada al día 5, 14 y 21 posdestete (2.04 vs. 1.63, 1.67 y 1.85 radio v:c al día 0, 5, 14 y 21 posterior al destete, respectivamente).

Cuadro 6. Efecto de la adición en la dieta de L-Glutamina sobre el radio vellosidad : cripta de cerdos destetados precozmente e inoculados con el virus de gastroenteritis transmisible a los 4 días posteriores al destete; comparación entre los valores basales (día 0) y los diferentes periodos de registro.

Radio cripta : vellosidad						
Variables	Glutamina	Días posdestete				P _R <
		0	5	14	21	
Duodeno	0 %	2.77 _a	2.17 _{ab}	1.59 _b	2.81 _a	0.0001
	1 %	2.77 _a	1.94 _b	2.44 _{ab}	2.55 _{ab}	0.02
Yeyuno	0 %	2.94 _b	2.44 _{bc}	2.11 _c	3.94 _a	0.0001
	1 %	2.94 _a	1.41 _c	2.21 _b	3.08 _a	0.0001
Ileon	0 %	2.04 _a	1.33 _b	1.66 _{ab}	1.32 _b	0.0001
	1 %	2.04	1.63	1.67	1.85	0.18

a, b = Letras distintas en la misma fila indican diferencia estadística P < 0.05

Figura 7. Gráfica 7. Efecto de la adición en la dieta de L-Glutamina sobre el radio vellosidad : cripta, en diferentes días posteriores al destete (14 días) e inoculados con el virus de GET a los 4 días posdestete



a, b, c = Letras distintas indican diferencia estadística P < 0.05

Comparación entre los diferentes tratamientos para las diferentes porciones intestinales.

Profundidad de las criptas.

Se midió la profundidad de las criptas intestinales y se compararon entre tratamientos, para cada día de toma de muestra (día 5, 14 y 21 posterior al destete) y por porción intestinal.

Los resultados sobre la profundidad de las criptas se muestran en el cuadro 7 y la gráfica 8.

Duodeno.

Los cerdos asignados al tratamiento con 1% de L-Glutamina registraron una mayor ($P>0.05$) profundidad de las criptas al día 5 del periodo experimental, esta fue 2.6% superior a la registrada en los cerdos sin la adición del aminoácido (150 vs. 146 μm para 1% y 0% de L-Glutamina, respectivamente). Al día 14 del periodo experimental los cerdos con 1% de L-Glutamina tuvieron una profundidad 12.4% mayor ($P<0.06$) que la observada en los cerdos con 0% L-Glutamina (181 vs. 158 μm , respectivamente). El día 21 posterior al destete los cerdos asignado al tratamiento con 1% de L-Glutamina registraron una mayor ($P<0.12$)

Yeyuno.

La profundidad de las criptas, al día 5 posterior al destete en los cerdos con 0% de L-Glutamina fueron 2.9% más profundas ($P>0.05$) que en aquellos animales con 1% de L-Glutamina (139 vs. 135 μm , respectivamente). El grupo de cerdos con 1% de L-Glutamina a los 14 días posteriores al destete tuvieron una profundidad en las criptas 6.3% mayor ($P>0.05$) a la de los cerdos en el tratamiento 0% de L-Glutamina (160 vs. 150 μm , respectivamente). La profundidad de las criptas fue 10.9% mayor en los cerdos con 1% de L-Glutamina (163.2 μm), comparada con los cerdos con 0% de L-Glutamina (145.4 μm).

Ileon.

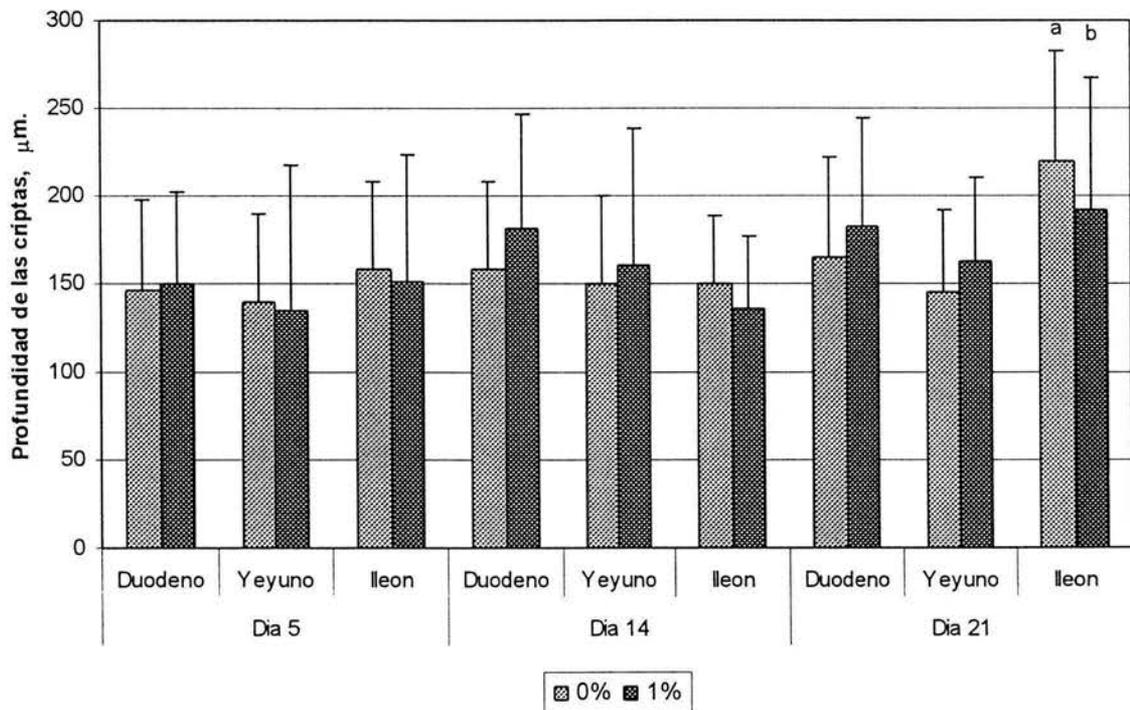
Los cerdos que consumieron el tratamiento con 0% de L-Glutamina mostraron una profundidad 4.5% superior ($P>0.05$) a la observada en los cerdos con 1% de L-Glutamina (158 vs. 151 μm). A los 14 días posteriores al destete los cerdos con 0% de L-Glutamina mostraron una profundidad de la cripta 6.3% mayor ($P<0.07$) que aquellos sin L-Glutamina (150 vs. 135 μm). De manera similar, a los 21 días posdestete, las criptas en los cerdos asignados al tratamiento con 0% de L-Glutamina fueron 12.4% más profundas que las registradas en los cerdos con 1% de L-Glutamina (219 vs. 192 μm).

Cuadro 7. Efecto de la adición en la dieta de L-Glutamina sobre la profundidad de las criptas de cerdos destetados precozmente e inoculados con el virus de gastroenteritis transmisible a los 4 días posteriores al destete; comparación entre tratamientos.

		Profundidad de la cripta, μm		
Variables		Glutamina		$P_R <$
Días Posdestete	Porción	0 %	1 %	
5	Duodeno	146.0 \pm 52.2	150.0 \pm 52.2	0.70
	Yeyuno	139.0 \pm 50.7	135.0 \pm 35.0	0.64
	Ileon	158.6 \pm 49.9	151.4 \pm 71.4	0.56
14	Duodeno	158.6 \pm 49.8	181.2 \pm 65.6	0.06
	Yeyuno	150.0 \pm 50.5	160.2 \pm 78.2	0.47
	Ileon	150.2 \pm 38.3	135.6 \pm 41.2	0.07
21	Duodeno	164.6 \pm 57.0	182.8 \pm 61.8	0.12
	Yeyuno	145.4 \pm 46.2	163.2 \pm 47.3	0.06
	Ileon	219.8 \pm 63.3 _a	192.4 \pm 74.5 _b	0.05

a, b = Letras distintas en la misma fila indican diferencia estadística $P < 0.05$

Figura 8. Efecto de la adición en la dieta de L-Glutamina sobre la profundidad de las criptas intestinales en cerdos destetados precozmente e inoculados con virus de GET al día 4 posterior al destete.



a, b, c = Letras distintas indican diferencia estadística $P < 0.05$

Altura de las vellosidades.

Se midió la altura de las vellosidades intestinales y se compararon entre tratamientos, para cada día de toma de muestra (día 5, 14 y 21 posterior al destete) y por porción intestinal.

Los resultados sobre la profundidad de las criptas se muestran en el cuadro 8 y la gráfica 9.

Duodeno.

La altura de las vellosidades en los primeros 5 días posteriores al destete fue mayor ($P>0.05$) en los cerdos asignados al tratamiento con 0% de L-Glutamina, esta fue 7.6% superior a la observada en los animales con 1% de L-Glutamina (280 vs. 258 μm , respectivamente). Mientras que a los 14 días la altura fue superior ($P<0.05$) en aquellos con 1% de L-Glutamina (389.5 vs. 252 μm , respectivamente). A los 21 días posteriores al destete la altura de las vellosidades en ambos grupos fue similar ($P>0.05$) (409 vs. 406 μm para 1% y 0% de L-Glutamina, respectivamente).

Yeyuno.

Durante los primeros 5 días posteriores al destete se observó en los cerdos del tratamiento 0% una altura de 288 μm que fue 38.5% superior al grupo con 1% de L-Glutamina con 177 μm . A los 14 días posteriores al destete la altura de las vellosidades fue mayor ($P>0.05$) en los cerdos asignados al tratamiento con 1% de L-Glutamina en 7.1% al compararse con aquellos que no la recibieron (309 vs. 287 μm , para 1% y 0% de L-Glutamina, respectivamente). En el final del periodo experimental (21 días posdestete), el grupo de animales con 0% de L-Glutamina registró una altura 15.5% superior a la observada en los cerdos del grupo 1% de L-Glutamina (527 vs. 445 μm , respectivamente).

Ileon.

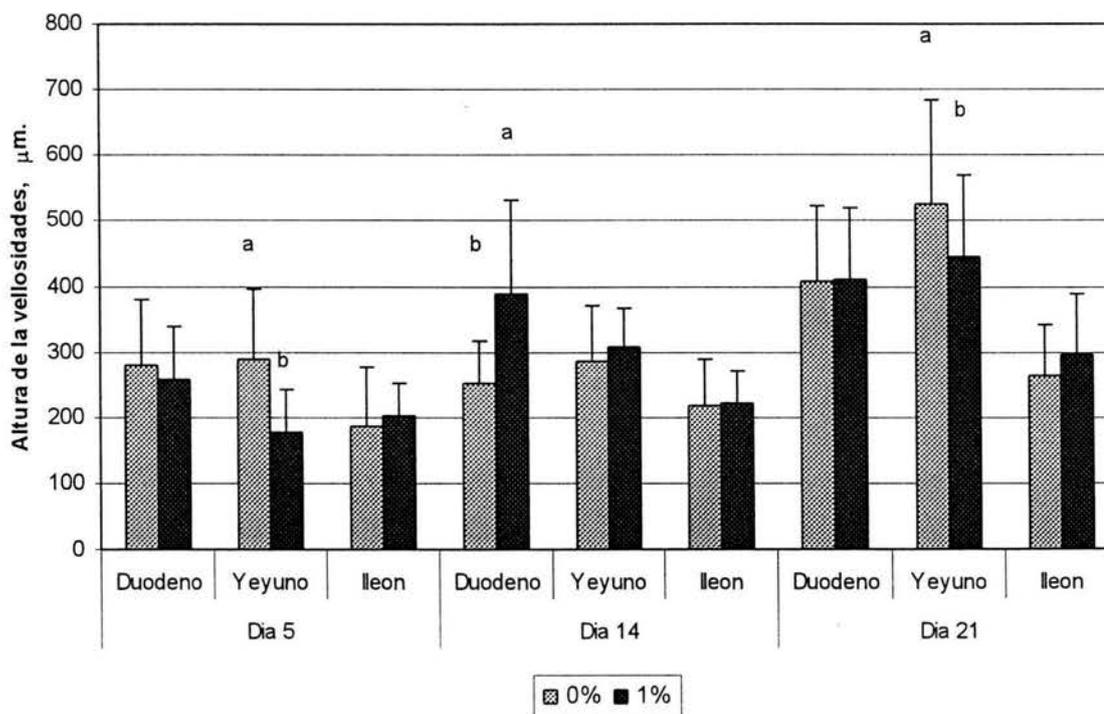
El grupo con el tratamiento de 1% de L-Glutamina, fue 7.4% superior ($P>0.05$) a los animales del tratamiento 0% de L-Glutamina en la altura de las vellosidades al día 5 posterior al destete (202 vs. 187 μm , respectivamente). A los 14 días la altura fue similar ($P>0.05$) en ambos grupos (221 vs. 217 μm para 1% y 0% de L-Glutamina). Mientras que a los 21 días posdestete la mayor ($P>0.05$) altura de las vellosidades en los cerdos se observó en el grupo con 1% de L-Glutamina, comparada con la observada en el grupo de 0% de L-Glutamina, los primeros fueron 10.6% superiores (297 vs. 265 μm , para 1% y 0% de L-Glutamina).

Cuadro 8. Efecto de la adición en la dieta de L-Glutamina sobre la altura de vellosidades en cerdos destetados precozmente e inoculados con el virus de gastroenteritis transmisible a los 4 días posteriores al destete; comparación entre tratamientos.

		Altura de la vellosidad, μm		
Variables		Glutamina		$P_R <$
Días Posdestete	Porción	0 %	1 %	
5	Duodeno	280.0 \pm 14.2	258.6 \pm 11.6	0.24
	Yeyuno	288.8 \pm 15.2 ^a	177.6 \pm 9.36 ^b	0.0001
	Ileon	187.2 \pm 12.7	202.2 \pm 7.00	0.30
14	Duodeno	252.6 \pm 9.33 ^b	389.5 \pm 2.25 ^a	0.0001
	Yeyuno	287.0 \pm 13.1	309.2 \pm 8.41	0.14
	Ileon	217.9 \pm 10.0	221.2 \pm 7.05	0.79
21	Duodeno	406.6 \pm 16.4	409.6 \pm 15.3	0.89
	Yeyuno	527.2 \pm 22.3 ^a	445.0 \pm 17.6 ^b	0.005
	Ileon	265.4 \pm 10.8	297.2 \pm 12.9	0.063

a, b = Letras distintas en la misma fila indican diferencia estadística $P < 0.05$

Figura 9. Efecto de la adición en la dieta de L-Glutamina sobre la altura de las vellosidades intestinales en cerdos destetados precozmente e inoculados con virus de GET al día 4 posterior al destete.



a, b, c = Letras distintas indican diferencia estadística $P < 0.05$

Radio Velloalidad : Cripta.

Se midió la proporción velloalidad : cripta (v:c) y se compararon entre tratamientos, para cada día de toma de muestra (día 5, 14 y 21 posterior al destete) y por porción intestinal.

Los resultados sobre la profundidad de las criptas se muestran en el cuadro 9 y la gráfica 10.

Duodeno.

El mayor radio v:c observado a los 5 días posteriores al destete, fue en el grupo de animales con el tratamiento 0%, siendo 10.5% superior ($P>0.05$) al registrado en los animales con 1% de L-Glutamina (2.17 vs. 1.94 v:c, respectivamente). En las mediciones realizadas al día 14 posdestete, el mayor ($P<0.05$) radio v:c se observó en los cerdos que consumieron el 1% de L-Glutamina, este radio fue 27.4% al del grupo con 0% de L-Glutamina (2.44 vs. 1.77 μm , respectivamente). A los 21 días posteriores al destete, el mayor ($P>0.05$) radio se observó en los cerdos del tratamiento 0% de L-Glutamina (2.81 v:c), siendo 9.2% superior al registrado en los animales con 1% de L-Glutamina (2.55 v:c).

Yeyuno.

En el día 5 posterior al destete, los cerdos del grupo 0% de L-Glutamina mostraron la mayor ($P<0.05$) proporción v:c, esta fue 42.2% superior a la observada en los animales con 1% de L-Glutamina (2.44 vs. 1.41 v:c, respectivamente). A los 14 días posteriores al destete esta relación v:c fue similar ($P>0.05$) en ambos grupos experimentales (2.22 vs. 2.21 v:c, respectivamente). Al final del periodo experimental (21 días posdestete), la mayor proporción fue observada en los cerdos con 0% de L-Glutamina (3.93 v:c), siendo 21.6% superior ($P<0.05$) a la de los cerdos con 1% de L-Glutamina (3.08 v:c).

Ileon.

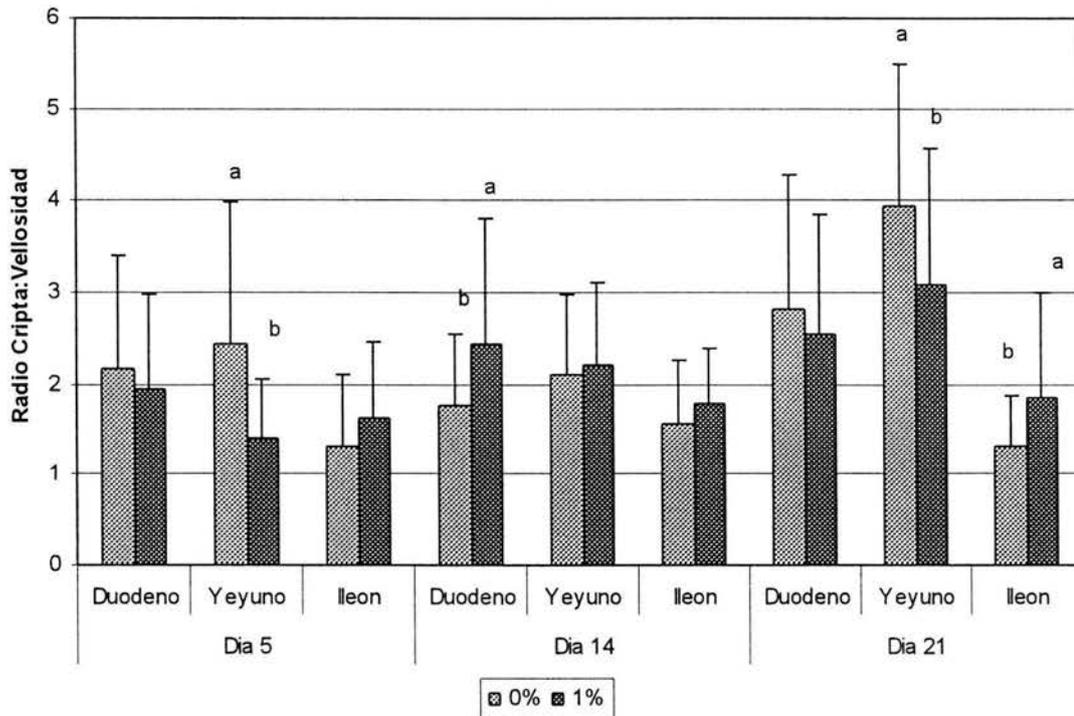
En la última porción del intestino delgado, la mayor proporción v:c a los 5 días posteriores al destete, se observó en los animales con 1% de L-Glutamina siendo 18.4% superior, comparado con los animales de 0% de L-Glutamina (1.63 vs. 1.33 v:c, respectivamente). Al día 14 esta mayor proporción por parte de los cerdos con 1% de L-Glutamina se observó nuevamente; siendo 11.7% superior ($p>0.05$) a la registrada en los animales con 0% de L-Glutamina (1.78 vs. 1.57 v:c, respectivamente). Los animales asignados al tratamiento con 1% de L-Glutamina mostraron una relación v:c 28.6% superior ($P<0.05$) en le día 21 del periodo experimental, a la observada en los cerdos con 0% de L-Glutamina, en el mismo periodo (1.85 vs. 1.32 v:c, respectivamente).

Cuadro 9. Efecto de la adición en la dieta de L-Glutamina sobre el radio vellosidad : cripta en cerdos destetados precozmente e inoculados con el virus de gastroenteritis transmisible a los 4 días posteriores al destete; comparación entre tratamientos.

		Radio vellosidad : cripta		
Variables		Glutamina		P _R <
Días Postdestete	Porción	0 %	1 %	
5	Duodeno	2.17	1.94	0.39
	Yeyuno	2.44 ^a	1.41 ^b	0.0001
	Ileon	1.33	1.63	0.07
14	Duodeno	1.77 ^b	2.44 ^a	0.004
	Yeyuno	2.1	2.22	0.53
	Ileon	1.57	1.78	0.11
21	Duodeno	2.81	2.55	0.36
	Yeyuno	3.93 ^a	3.08 ^b	0.006
	Ileon	1.32 ^b	1.85 ^a	0.004

a, b = Letras distintas en la misma fila indican diferencia estadística P < 0.05

Figura 10. Efecto de la adición en la dieta de L-Glutamina sobre el radio vellosidad : cripta en cerdos destetados precozmente e inoculados con virus de GET al día 4 posterior al destete.



a, b, c = Letras distintas indican diferencia estadística P < 0.05

Serologías mediante la prueba de ELISA.

Los resultados de la prueba de ELISA practicada a los sueros de los animales de ambos tratamientos se muestran en el cuadró 10.

Se realizó una prueba de ELISA con un kit comercial, para detectar anticuerpos en contra del virus de gastroenteritis y el virus de coronavirus respiratorio porcino, los sueros de los 35 lechones resultaron negativos a la prueba de ELISA. Los resultados aquí mostrados corresponden solo a los valores del virus de gastroenteritis porcina. Las densidades ópticas donde se diagnosticó GET/CVPR, no se muestran, aunque todos los sueros también fueron negativos.

Prueba de Suero Neutralización.

Los resultados de la prueba de suero neutralización de los cerdos de ambos tratamientos se muestran en el cuadro 11.

Los cerdos sacrificados al día 0, no registraron anticuerpos ya que la granja de donde se obtuvieron es negativa a esta enfermedad, lo cual ya había sido confirmado anteriormente con la misma prueba. Al día 5 posterior al destete, los cerdos de ambos grupos se diagnosticaron como negativos, estos animales habían sido inoculados 24 h antes de la toma de muestra. Al día 14 posterior al destete, ambos grupos tuvieron dos animales positivos, con similar título de anticuerpos (1:32 y 1:64, en ambos grupos). Al día 21 posterior al destete, el grupo que recibió la dieta control mostró un 80% de animales positivos (4/5), con similar título de anticuerpos (1:64). Mientras tanto el total de animales del grupo que recibió el tratamiento 1% de glutamina, y muestreados al día 21, resulto positivo al virus, aunque sus títulos fueron muy irregulares.

Cuadro 10. Efecto de la adición en la dieta de L-Glutamina, sobre la seroconversión de cerdos destetados precozmente y desafiados al virus de la gastroenteritis transmisible.

	Densidad Óptica	Punto de corte 0.521
Control positivo	0.444	Valores > 0.521 son negativos
Control negativo	1.642	Valores < 0.521 son positivos

0% de Glutamina			1% de Glutamina		
No de cerdo	Densidad Óptica	Anticuerpos	No de cerdo	Densidad Óptica	Anticuerpos
Día 0 Control					
1	1.686	Neg.			
2	1.565	Neg.			
3	1.579	Neg.			
4	1.569	Neg.			
5	1.602	Neg.			
Día 5 posdestete					
6	1.537	Neg.	11	1.417	Neg.
7	1.431	Neg.	12	1.394	Neg.
8	1.478	Neg.	13	1.561	Neg.
9	1.322	Neg.	14	1.515	Neg.
10	1.373	Neg.	15	1.445	Neg.
Día 14 posdestete					
16	1.463	Neg.	21	1.537	Neg.
17	1.455	Neg.	22	1.535	Neg.
18	1.418	Neg.	23	1.501	Neg.
19	1.508	Neg.	24	1.707	Neg.
20	1.449	Neg.	25	1.427	Neg.
Día 21 posdestete					
26	1.378	Neg.	31	1.531	Neg.
27	1.416	Neg.	32	1.488	Neg.
28	1.359	Neg.	33	1.439	Neg.
29	1.521	Neg.	34	1.307	Neg.
30	1.595	Neg.	35	1.411	Neg.

Cuadro 11. Efecto de la adición en la dieta de L-Glutamina, sobre la seroconversión de cerdos destetados precozmente y desafiados al virus de la gastroenteritis transmisible.

0% de Glutamina			1% de Glutamina		
No de cerdo	Título	Diagnóstico	No de cerdo	Título	Diagnóstico
Día 0 control					
1	(-)	Neg.			
2	(-)	Neg.			
3	(-)	Neg.			
4	(-)	Neg.			
5		Sin suero			
Día 5 posdestete					
6	(-)	Neg.	11	(-)	Neg.
7	(-)	Neg.	12	1:2	Neg.
8	(-)	Neg.	13	(-)	Neg.
9	(-)	Neg.	14	(-)	Neg.
10	(-)	Neg.	15	(-)	Neg.
Día 14 posdestete					
16	1:16	Neg.	21	1:64	Pos.
17	1:16	Neg.	22	1:32	Pos.
18	1:32	Pos.	23	(-)	Neg.
19	1:16	Neg.	24	1:16	Neg.
20	1:64	Pos.	25	1:8	Neg.
Día 21 posdestete					
26	1:64	Pos.	31	1:64	Pos.
27	1:64	Pos.	32	1:64	Pos.
28	1:64	Pos.	33	1:256	Pos.
29	1:64	Pos.	34	1:32	Pos.
30	1:16	Neg.	35	1:32	Pos.

Títulos superiores a 1:16 son considerados positivos

Aislamiento Viral.

Se realizó el aislamiento viral de la porción yeyunal de cada uno de los 35 lechones sacrificados a los días 0 (14 días de edad), 5, 14 y 21 días posteriores al destete. El aislamiento viral se realizó mediante macerado de los órganos, filtración del mismo e inoculación de células ST y Vero con el filtrado, observándose efecto citopático en todos los filtrados de cerdos inoculados con el virus de GET. Estos corresponden a los cerdos sacrificados del día 5 al 21 posterior al destete. Las células inoculadas pertenecientes a los lechones sacrificados el día de su arribo (día 14 de edad, día 0 del periodo experimental) fueron negativas con respecto al efecto citopático. Se inocularon células con un caso de campo diagnosticado positivo a GET, a manera de control positivo, y las células presentaron daño celular.

Discusión.

En trabajos previos se ha demostrado que el destete tiene severos efectos sobre el cerdos, ^{2, 18} que se hacen más evidentes conforme el periodo de lactancia se acorta, ⁴⁷ observándose una caída en los parámetros productivos, ^{40, 41} así como sobre la morfología del intestino delgado principalmente. ⁴⁹ Este trabajo no fue la excepción, pues se observa una muy baja tasa de crecimiento durante los primeros días posteriores al destete, así como la atrofia de las vellosidades intestinales e incremento en la profundidad de las criptas.

Wu , et al. ²⁰⁹ demostró que en cerdos destetados a 21 días de edad, podían evitar la atrofia de las vellosidades si se incluía 1% de L-glutamina. Este efecto se observó a partir de la primera semana posterior al destete, además se registró una mejora de la eficiencia alimenticia en la segunda semana posterior al destete. De manera similar De la Cruz ²¹⁰ observó en cerdos destetados a 14 días y suplementados con glutamina utilizando como vehículo suero de leche, mantenían la morfología del intestino delgado, de manera similar a los cerdos sin destetar. En el presente trabajo no se detectó efecto benéfico de la glutamina sobre la morfología intestinal. Los datos muestran que el grupo de cerdos que consumieron 1% de glutamina, tuvieron una altura de las vellosidades en la porción del yeyuno 61% menor a los cerdos del día 0, mientras que los del grupo control solo fueron 49% menores a los datos basales.

Esta diferencia de efecto entre los trabajos antes mencionados y el actual se puede explicar mediante la ausencia de desafío antigénico, que a diferencia de este trabajo si se realizó en presencia del virus de la gastroenteritis transmisible, donde el virus tiene especial afinidad, sobre los enterocitos principalmente los de la punta de la vellosidad, causándole graves daños a esta. Wu obtuvo alturas de vellosidades basales (454 y 339 μ para duodeno y yeyuno, respectivamente) muy similares a las reportadas en este trabajo (420 y 456 μ , duodeno y yeyuno, respectivamente), mientras que al día 7 posdestete, la altura de las vellosidades fue mucho mayor en el trabajo de Wu, como se mencionó anteriormente por efecto del daño a los tejidos por parte del virus de la gastroenteritis.

La cantidad de glutamina ingerida en el grupo experimental durante los primeros cinco días, fue insuficiente para evitar la atrofia de las vellosidades observada por efecto del destete que se ha reportado ser mas evidente a los 5 días posteriores a este manejo. ⁵¹ También fue insuficiente para tener un efecto protector en la mucosa intestinal en contra del virus de la gastroenteritis transmisible.

Durante estos primeros cinco días no se observó ninguno de los efectos que se le atribuyen a la glutamina como ser combustible de enterocitos, o el efecto anabólico al ser precursor de prolina, arginina o de precursores de nitrógeno.^{176, 177}, muy probablemente debido a la alta demanda que se tiene de este aminoácido en estos estados hipercatabólicos o de estrés prolongado.^{150, 151, 158}, por lo que la proporción de células dañadas y células recuperadas no fue proporcional, registrándose la atrofia durante este periodo.

A diferencia de los primeros cinco días posteriores al destete, en el día 14, sí se observó un efecto positivo en la inclusión de glutamina, registrándose una recuperación de la altura de las vellosidades de forma mas marcada, no así en los cerdos control (0%Gln). Observándose una diferencia de 7 y 33% en el duodeno y yeyuno, en comparación con las vellosidades de los cerdos con 0 días de destete, mientras que los cerdos del grupo 0%Gln registraron una recuperación mas lenta en el mismo periodo, donde las diferencias con las medidas basales fueron de 41 y 54 % para duodeno y yeyuno respectivamente.

La recuperación más evidente en el grupo experimental al día 14 en comparación al día 5 dentro del grupo experimental, puede estar muy relacionada con el incremento en el consumo de alimento. De tal manera que durante los primeros cinco días de edad ambos grupos, experimental y control, registraron consumos similares (121 vs 113 gr CDA, respectivamente), y donde la morfología intestinal no favoreció al grupo experimental. Mientras que en el periodo de 5 a 14 días posdestete el incremento significativo de 15% en el CDA registrado a favor del grupo control (324 vs 273 g CDA, para 1%Gln y 0%Gln respectivamente), fue acompañado de una mayor altura de las vellosidades en todas las porciones intestinales, comparadas contra el grupo con 0% de inclusión de glutamina.

A mayor consumo de alimento, también hubo mayor consumo de glutamina, que muy probablemente impacto en la mejoría de la morfología intestinal. Al aportar cadenas carbonadas como fuente combustible para la proliferación de los enterocitos en las criptas así como donar nitrógenos para la formación de nucleótidos que formen parte de las cadenas de RNA y DNA¹⁴¹, además del propio efecto proliferativo que tiene la glutamina,^{181, 185} como se observó en este mismo periodo, en donde las criptas de los cerdos que consumieron la dieta con la inclusión de 1% de Glutamina fueron mas profundas que las del grupo 0% gln. Lipking,²⁰⁹ explica que la mayor profundidad de la lamina propia también representa una mayor cantidad de células inmaduras. En este estudio, los animales que consumieron glutamina, tuvieron las criptas más profundas al día 14 y 21, en prácticamente todas las porciones del intestino, y esto también puede representar que se generaron mayor cantidad de enterocitos que mas tarde poblaron de manera mas rápida las vellosidades intestinales.⁵¹

Panigrahi¹⁷⁹ concluye en su trabajo, que la glutamina influye en la síntesis de componentes de la matriz extracelular, siendo este un factor de mantenimiento de

la estructura mucosa, especialmente en el mantenimiento de las uniones estrechas (tight junctions), por su parte Khan ¹⁸⁰ propone que la glutamina es un precursor de N – acetilglucosamida, que aumenta la síntesis de mucina, formando una barrera física y protección de la mucosa.

Esto puede explicar el por que los cerdos que consumieron la dieta con la inclusión de glutamina, mostraron una mejor estructura de la mucosa intestinal, y esta mejor estructura también provoca una menor estimulación del sistema inmune digestivo, que a su vez resulta en una menor inflamación intestinal que puede interferir en el consumo de alimento.

El incremento del consumo de materia seca, es una estimulación muy importante para el desarrollo y maduración del intestino delgado, por lo que el incremento y mejor consumo de alimento del grupo experimental, apoyo la recuperación de las estructuras del epitelio intestinal.⁶⁷

El mayor consumo de materia seca en el grupo 1%Glu , también resultó en incremento de la ganancia diaria de peso. La recuperación mas pronta de los cerdos del grupo experimental, permitió tener mayor superficie de absorción de la mucosa intestinal y una mayor eficiencia de aprovechamiento de los nutrientes a partir de la dieta.^{52, 53}

La proporción vellosidad : cripta fue mayor en el grupo 1%Gln al día 14 posterior al destete, lo que representa una mayor altura y desarrollo de las vellosidades intestinales en comparación a las criptas. En estos datos se observa que el grupo 0% Gln se recuperó hasta la tercera semana posterior al destete, en donde las relaciones entre estas dos estructuras fueron mucho mayores, que en el día 14 posterior al destete.

A pesar de que el grupo 0%Gln incrementó la altura de las vellosidades, el consumo de alimento y la ganancia diaria de peso, en la tercera semana posterior al destete, no alcanzó durante el periodo experimental los parámetros productivos alcanzados por el grupo que recibió la inclusión de la glutamina.

La glutamina también juega un importante papel en las células del sistema inmunológico, principalmente en células como los macrófagos, monocitos, neutrófilos y linfocitos. Todas estas células presentan una alta cantidad y actividad de la enzima glutaminasa, lo que refleja su importancia en el metabolismo de estas células de rápida división.²¹⁰ Los resultados obtenidos mediante seroneutralización, con el fin de detectar anticuerpos en contra del virus de gastroenteritis muestran un patrón clásico de desarrollo de inmunidad humoral, pues es hasta la segunda semana posterior al desafío inmune que se encuentran títulos de anticuerpos muy similares en ambos tratamientos, sin encontrar cambios en la tercera semana, lo cual indica que la concentración incluida en el grupo experimental, no fue suficiente para estimular o mejorar la respuesta inmunológica humoral en contra del virus.

El efecto estresante ejercido por el destete y por el desafío antigénico, pudieron ser demasiado demandantes en glutamina, como para reflejar un efecto sobre el funcionamiento del sistema inmune, así como evitar la atrofia del intestino.

Conclusiones.

La inclusión de 1% de L – Glutamina en la dieta de cerdos destetados a 14 días de edad y desafiados con el virus de Gastroenteritis Transmisible, no evita la atrofia de las vellosidades intestinales, ni los daños al epitelio provocados por el agente viral durante la primera semana posterior al destete.

Sin embargo acelera la recuperación del epitelio intestinal y ayuda a recuperar el crecimiento de los cerdos a partir de la segunda semana, reflejando en un incremento de los parámetros productivos.

La inclusión de 1% de glutamina, no fue suficiente para mostrar efectos sobre los niveles de anticuerpos en contra del virus de la gastroenteritis transmisible.

Bibliografía.

- ¹ SAGARPA. Situación actual y perspectivas de la producción de carne de porcino en México 2002. México 2002.
- ² Pluske JR, Williams IH, Aherene FX. Nutrition of the Neonatal Pig. En: Varley MA editor. The neonatal pig: Development and survival. UK Cab International. 1995; 187-235
- ³ Clark LK. SEW: development, concept, expect performance, rules and problems. Seminario sobre actualidades del destete temprano; 1997 Julio 25 – 26; La piedad Mich. 1997; 8-23
- ⁴ Council Directive 91/630/EEC of 19 November 1991 laying down minimum standards for the protection of pigs Official Journal L 340 , 11/12/1991 p. 0033 – 0038. Disponible desde: URL: http://europa.eu.int/comm/food/fs/aw/aw_legislation/pigs/91-630-eec_es.pdf
- ⁵ Thacker PA. Nutritional requeriments of early weaned pigs: A review. Pig News and Infor. 1999; 20 (1) 13n-24n.
- ⁶ Fangman JT, Tubbs CR. Segregated early weaning. Swine Health and Production 1997; 5(5):195-198
- ⁷ Clark LK. New rearing technologies: Influence on health, growth and production economic of swine. Proceedings of the 15th IPVS congress; 1998 Julio 5-9; Birmingham, Inglaterra 1998; 281-288.
- ⁸ King LV, Koketsu Y, Reeves D, Xue J, Gary D, Dial DG Management factors associated with swine breeding-herd productivity in the United States. Prev Vet Med. 1998; 35 255 – 264.
- ⁹ FIRA. Oportunidades de desarrollo de la porcicultura en México. FIRA . 1997; 296 (39) 42.
- ¹⁰ Clark LK, Hill MA, Kniffen TS, et al. An evaluation of the components of medicated early weaning. Swine health and production. 1994;2(4):5-11.
- ¹¹ Pradal RP. Impacto del destete temprano en las enfermedades entéricas. Seminario sobre actualidades del destete temprano; 1997 Julio 25 – 26; La piedad Mich. 1997; 70-77.
- ¹² Ciprian CA. Impacto del destete temprano en las enfermedades respiratorias. Seminario sobre actualidades del destete temprano; 1997 Julio 25 – 26; La piedad Mich. 1997; 51-68.
- ¹³ Pijoan C. Disease eradication: Should we go there? 2001 Allen D. Leman Swine Conference. Minnesota U.S.A. 2001; 7-9.
- ¹⁴ Britt JH, Almond GW, Flowers WL. Diseases of the reproductive system. In: Taylor J D, Barbara E. Straw E B, D'Allaire S, William L. Mengeling L W, Editors. Diseases of swine. 8th AMES, IOWA U.S.A. IOWA STATE UNIVERSITY PRESS 2000; 883-912.
- ¹⁵ Batista L. Evaluación de la productividad de un sistema de destete temprano a través de la informática. Seminario sobre actualidades del destete temprano; 1997 Julio 25 – 26; La piedad Mich. 1997; 3-7.
- ¹⁶ Kim SW, Osaka I, Hurley WL, Easter RA. Mammary gland growth as influenced by litter size in lactating sows: Impact on lysine requirement. J. Anim. Sci. 1999; 77:3316–3321.
- ¹⁷ Kim SW, Easter RA. Nutrient mobilization from body tissues as influenced by litter size in lactating sows. J. Anim. Sci. 2000; 79:2179–2186.
- ¹⁸ Cranwell PD. Development of the neonatal gut and enzyme systems. En: Varley MA editor. The neonatal pig: Development and survival. UK Cab International. 1995; 99 -145.

-
- ¹⁹ Wu G. Synthesis of citrulline and arginine from proline in enterocytes of postnatal pigs. *Am. J. Physiol.* 1997; 272: G1382–G1390.
- ²⁰ Zijlstra TR, Whang K, Easter AR, Odle J. Effect of feeding a milk replacer to early-weaned pigs on growth, body composition, and small intestinal morphology, compared with suckled littermates. *J. Anim. Sci.* 1996; 74:2948–2959
- ²¹ Mahan DC. Effect of weight, split-weaning, and nursery feeding programs on performance responses of pigs to 105 kilograms body weight and subsequent effect on sow rebreeding interval. *J. Anim. Sci.* 1993; 71:1991–1995
- ²² Drum SD, Walker RD, Marsh WE, et al. Growth performance of segregated early-weaned versus conventionally weaned pigs through finishing. *Swine Health and Production.* 1998;6(5):203–210.
- ²³ Whang KY, McKeith FK, Kim SW, Easter R A. Effect of starter feeding program on growth performance and gains of body components from weaning to market weight in swine. *J. Anim. Sci.* 2000; 78:2885–2895
- ²⁴ Chiba LI, Ivey HW, Cummins KA, Gamble BE. Growth performance and carcass traits of pigs subjected to marginal dietary restrictions during the grower phase. *J. Anim. Sci.* 1999 ; 77:1769–1776
- ²⁵ Dritz SS, Owen KQ, Nelssen JL, Goodband RD, Tokach MD. Influence of weaning age and nursery diet complexity on growth performance and carcass characteristics and composition of high-health status pigs from weaning to 109 kilograms. *J. Anim. Sci.* 1996; 74:2975–2984.
- ²⁶ Tokach MD, Pettigrew JE, Johnston LJ, Øverland M, Rust JW, Cornelius SG. Effect of adding fat and(or) milk products to the weanling pig diet on performance in the nursery and subsequent grow-finish stages. *J. Anim. Sci.* 1995; 73:3358–3368.
- ²⁷ Bergstrom JR, Nelssen JL, Tokach MD, Goodband RD, Dritz SS, Owen KQ, Nessmith WB . Evaluation of spray-dried animal plasma and select menhaden fish meal in transition diets of pigs weaned at 12 to 14 days of age and reared in different production systems. *Anim. Sci.* 1997; 75:3004–3009.
- ²⁸ Fangman TJ, Tubbs CR, Becker BA, Allee LG, Misfeldt LM, Henningsen-Dyer K. Evaluation of segregated early weaning investigating performance, immunologic indicators (CD4, CD8), and herd health status. *Swine Health and Production.* 1996 ; 4(5) 217 – 222.
- ²⁹ Williams NH, Stahly TS, Zimmerman DR. Effect of chronic immune system activation on the rate, efficiency, and composition of growth and lysine needs of pigs fed from 6 to 27 kg. *J. Anim. Sci.* 1997; 75:2463–2471
- ³⁰ Williams N H, Stahly TS Zimmerman DR. Effect of chronic immune system activation on body nitrogen retention, partial efficiency of lysine utilization, and lysine needs of pigs. *J. Anim. Sci.* 1997; 75:2472–2480
- ³¹ Williams N H, Stahly TS, Zimmerman DR. Effect of level of chronic immune system activation on the growth and dietary lysine needs of pigs fed from 6 to 112 kg. *J. Anim. Sci.* 1997; 75:2481–2496
- ³² Schinckel PA, Kirk CL, Greg S, Knox EK, Nielsen J, Grant LA, et al. Effects of antigenic challenge on growth and composition of segregated early-weaned pigs. *Swine Health and Production.* 1995
- ³³ Dritz SS, Owen KQ, Goodband RD, Nelssen JL, Tokach MD, Chengappa MM, Blecha F. Influence of lipopolysaccharide-induced immune challenge and diet complexity on growth performance and acute-phase protein production in segregated early-weaned pigs. *J. Anim. Sci.* 1996; 74:1620–628
- ³⁴ Van Heugten E, Coffey MT, Spears JW. Effects of immune challenge, dietary energy density, and source of energy on performance and immunity in weanling pigs. *J. Anim. Sci.* 1996; 74:2431–2440

- ³⁵ Baker HD, et al. Disease stress, cytokines and amino acid needs of pigs. *Pig News and Infor.* 1999;20(4):123N -124N.
- ³⁶ Spurlock EM. How disease challenge down-regulates growth potential: a cellular perspective. 1999 American Association of Swine Practitioners Conference Proceedings. 1999; 473-476
- ³⁷ Johnson R W. Inhibition of growth by pro-inflammatory cytokines: an integrated view. *J. Anim. Sci.* 1997; 75:1244–1255
- ³⁸ Ayo JO, Oladele SB, Fayomi A. Stress and adverse effects on modern swine production. *Pig News Inf.* 1998;19 (2): 31N-36N.
- ³⁹ Worobeck EK, Duncan IJH, Widowski TM. The effect of weaning at 7, 14 and 28 days on piglet behavior. *Applied animal beh.* 1999; 62:173-182.
- ⁴⁰ Hay M, Orgeur P, Lévy F, Le Dividich J, Concordet D, Nowak R. et al. Neuroendocrine consequences of very early weaning in swine. *Physiology & Behavior.* 2001;72: 263 - 269.
- ⁴¹ Hammereberg C, Schuring GG, Ochs DL. Immunodeficiency in young pigs. *Am J Vet Res.* 1989; 50(6): 868-874.
- ⁴² Stokes CR, Bourne FJ. Mucosal immunity. *Vet Clin Immunol.* Ed. R. E. W. Halliwell and N. T. Gorman. Philadelphia: W. B. Saunders, 1989:164–192.
- ⁴³ Blecha F, Pollmann DS, Nichols DA. Weaning pigs at an early age decreases cellular immunity. *J Anim Sci* 1983; 56:396–400.
- ⁴⁴ Blecha F, Kelley KW. Effects of cold and weaning stressors on the antibody-mediated immune response of pigs. *J Anim Sci* 1981; 53:439–447.
- ⁴⁵ Roth JA. The Immune System In: Taylor JD, Barbara E. Straw EB, D'Allaire S, William L. Mengeling L W, Editors. *DISEASES OF SWINE.* 8th AMES, Iowa U.S.A. Iowa State University Press 2000; 799-820.
- ⁴⁶ Wim J.A. Boersma, Bianchi ATJ, Scholten JW, Leusen M B, Wim J.A. Boersma Development of the natural response of immunoglobulin secreting cells in the pig as a function of organ, age and housing. *Develop Compar Immuno.* 1999; 23: 511-520.
- ⁴⁷ Pluske JR, Williams IH, Aherne FX. Maintenance of villous height and crypt depth in piglet by providing continuous nutrition after weaning. *Anim. Sci.* 1996; 62: 131-144
- ⁴⁸ Nabuurs MJA, Hoogendoorn A, Molen EJ, Osta ALM. Villous height and crypt depth in weaned and unweaned pigs, reared under various circumstances in the Netherlands. *Res. Vet. Sci.* 1993; 55: 78-84
- ⁴⁹ Cera KR, Mahan DC, Cross RF, Reinhart GA, Whitmoyer RE. Effect of age, weaning and postweaning diet on small intestinal growth and jejunal morphology in young swine. *J. Anim. Sci.* 1988; 66: 574 - 584
- ⁵⁰ Hall GA, Byrne TF. Effect of age and diet on small intestinal structure and function in gnotobiotic piglets. *Res. Vet. Sci.* 1989; 47: 387-392.
- ⁵¹ Hampson DJ. Alterations in piglet small intestine structure after weaning. *Res. Vet. Sci.* 1986; 40: 3131 – 317.
- ⁵² McCracken BA, Spurlock ME, Roos MA, Zuckermann FA, Gaskins HR. Weaning anorexia may contribute to local inflammation in the piglet small intestine. *J. Nutr.* 1999; 71: 615 -625
- ⁵³ Hampson DJ. Postweaning *Escherichia coli* diarrhea in pigs. In Gyles CL. (Ed) *Escherichia coli* in domestic animals and humans. CAB international. Wallingford. Oxon UK. 1994: 171 - 191

-
- ⁵⁴ Nabuur MJA. Microbiological, structural and functional changes of the small intestine of pigs at weaning. *Pig New and Inf.* 1995; 16(3): 93N - 97N.
- ⁵⁵ Deprez P, Deroose P, Van den Hende C, Muylle E, Oyaert W. Liquid versus dry feeding in weaned piglets: The influence on small morphology. *J. Vet. Med. Biol.* 1987; 34: 254 - 259
- ⁵⁶ Li DF, Nelssen JL, Reddy PG, Blecha F, Hancock JD, Alle GL, Goodband RD, *et al.* Transient hypersensitivity to soybean meal in early - weaned pig. *J. Anim. Sci.* 1990; 60: 1790 - 1799.
- ⁵⁷ Li DF, Nelssen JL, Reddy PG, Blecha F, Hancock JD, Alle GL, Goodband RD, *et al.* Interrelationship between hypersensitivity to soybean proteins and growth performance in early-weaned pigs. *J. Anim. Sci.* 1991a; 69: 4062 - 4069.
- ⁵⁸ Li DF, Nelssen JL, Reddy PG, Blecha F, Hancock JD, Alle GL, Goodband RD, *et al.* Measuring suitability of soybean protein products for early weaned pigs with immunological criteria. *J. Anim. Sci.* 1991b; 69: 3299 - 3307.
- ⁵⁹ Makkink AC, Negulescu PG, Guixin Q, Vertegen MWA. Effect of dietary protein source on feed intake, growth, pancreatic enzyme activities and jejunal morphology in newly - weaned piglets. *Bri. J. Nutr.* 1994; 72: 353 -368.
- ⁶⁰ Fowler VR, Gill BP. Voluntary food intake in the young pig. In Forbes JM, Varley MA, Lawrence TLJ. (Ed). *The voluntary food intake of pigs.* Occasional Publication No. 13. British Society of Animal Production, Edinburgh. 1989: 51 - 60.
- ⁶¹ Le Divich J, Sève B. Effects of underfeeding during the weaning period on growth, metabolism, and hormonal adjustments in the piglet. *Domest. Anim. Endocriol.* 2000;19:63-74.
- ⁶² Diamond JM, Karasov WH. Trophic control of the intestinal mucosa. *Nature.* 1983; 304: 18
- ⁶³ Sangild PT. Transition in the life of the gut at birth. In: Linddberg JE, Ogle, editors. *Digestive physiology of pigs.* Oxon UK. CABI publishing, 2001:3 - 16.
- ⁶⁴ Pekas JC. Digestion and absorption capacity and their development. In Miller ER, Ullrey DE, Lewis AJ (Ed). *Swine nutrition.* Butterworth-Heinemann, Boston. 1991; 37-73
- ⁶⁵ Burrin DG, Stoll B, Jiang R, Chang X, Hartman B, Holst JJ, *Et al.* Minimal enteral nutrients requirements for neonatal intestinal growth in piglets: how much enough?. *Am. J. Clin. Nut.* 2000; 71: 1603 - 1610.
- ⁶⁶ Pluske JR, Williams IH, Aherne FX. Villous height and crypt depth in piglets in response to increase in the intake of cows' milk after weaning. *Anim Sci.* 1996; 62: 145 -158.
- ⁶⁷ Burrin GD, Stoll B, Chang X, Fan MZ, Reeds PJ. Enteral nutrient intake level determines intestinal protein synthesis and accretion rates in neonatal pigs. *Am J Physiol Gast.*, 2000; 279: G288 - G294.
- ⁶⁸ Neutra RM, Eric Pringault E, Kraehenbuhl JP. Antigen sampling across epithelial barriers and induction of mucosal immune responses. *Annu. Rev. Immunol.* 1996. 14:275-300
- ⁶⁹ Dekaney CM, Bazer FW, Jaeger LA. Mucosal morphogenesis and cytodifferentiation in fetal porcine small intestine. *Anatomical Record.* 1997; 249: 517 - 523.
- ⁷⁰ Pácha J. Development of intestinal transport functions in mammals. *Physiological Reviews.* 2000; 80 (4): 1633 - 1667.
- ⁷¹ Wilson JM, Whitney JA, Neutra MR. Biogenesis of the apical endosome - lysosome complex during differentiation of absorptive epithelial cells in rat ileum. *J Cell Sci.* 1991; 100, 133 - 143.

- ⁷² Sangild PT, Foltman B, Cranwell PD. Development of gastric proteases in fetal pigs and pigs from birth to thirty six days of age. The effect of adrenocorticotropin (ACTH). *J. Developm. Phys.* 1991; 16: 229 – 238.
- ⁷³ Buddington RK, Elnif J, Puchal – Gardiener AA, Sangild PT. Intestinal apical amino acid absorption during development of the pig. *AM. J. Phys.* 2001; 280: R241 – R 247.
- ⁷⁴ Cohen IT, Nelson SD, Moxley RA, Hirsh MP, Counihan TC, Martin RF. Necrotizing enterocolitis in neonatal piglet model. *J. Pediatr. Surg.* 1991; 26: 598 – 601.
- ⁷⁵ Sangild PT, Silver M, Fowdwn AL, Turvey A, Foltman B. Adrenocortical stimulation of stomach development in the prenatal pig. *Biol. Neonat.* 1994; 65: 378 – 389.
- ⁷⁶ Sangild PT, Cranwell PD, Hilsted L. Ontogeny of gastric function in the pig: acid secretion and the synthesis and secretion of gastrin. *Biol. Neonat.* 1992; 62: 363 – 372.
- ⁷⁷ Sangild PT, Hilsted L, Nexø E, Fowden, Silver AL. Secretion of acid, gastrin and cobalamin-binding proteins by fetal pig stomach: development regulation by cortisol. *Exp. Phys.* 1994; 79: 135 – 146.
- ⁷⁸ Sangild PT., Fowden AL, Trahair JF. How does the foetal gastrointestinal tract develop in preparation for enteral nutrition after birth?. *Livest. Prod. Sci.* 2000; 66: 141–150.
- ⁷⁹ Britton JR, Koldovsky O. Development of luminal digestion: implication for biologically active dietary polypeptides. *J. Pediatr. Gastroenter. Nutr.* 1989; 9: 144 – 162.
- ⁸⁰ Sangild PT, Hilsted L, Nexø E, Fowden, Silver AL. Vaginal birth versus elective cesarean section: effects on gastric function in the neonate. *Exp. Physiol.* 1995; 80: 147 -157.
- ⁸¹ Danielsen EM, Hansen GH, Nielschisteiansen LL. Localization and biosynthesis of aminopeptidase-N in pig fetal small intestine. *Gastroenterology.* 1995; 109: 1039 -1050.
- ⁸² Perozzi G, Barila D, Murgia C, Nelly D, Begbie R, King TP. Expression of differentiated functions in the developing porcine small intestine. *J. Nutr. Biochem.* 1993; 4: 699 – 705.
- ⁸³ BuddingtonRK, Diamond JM. Ontogenic development of intestinal nutrient transporters. *Ann. Rev. Phys.* 1989; 59: 601 – 619.
- ⁸⁴ Mulvihill SJ, Stone MM, Debas HT, Fonkalsrud EW. The role of amniotic fluid in fetal nutrition. *J. Pediatr. Surg.* 1985; 20: 668 – 672.
- ⁸⁵ Buddington RK, Elnif J, Puchal-Gardiner AA, Sangild PT. Intestinal apical amino acid absorption during development of the pig. 2001; 280: R241 – R247.
- ⁸⁶ Reeds PJ, Burrin DG, Davis TA, Fiorotto ML. Postnatal growth of gut and muscle: competitor or collaborators. *Proceedings of nutrition society* 1993; 52: 57 – 67.
- ⁸⁷ Sangild PT, Petersen YM, Elnif J, Schmidt M, Buddington RK, Burrin DG. Premature and term newborn pigs differ in their intestinal response to parenteral and enteral nutrition. *Gastroenterology.* 2000; 119, A76.
- ⁸⁸ Koletzko B, Aggett PJ, Bindels JG, Bung P, Ferre P, Gil A, et al., Growth, development and differentiation: a functional food science approach. *Brit. J. Nut.* 1998; 80: S5-S45.
- ⁸⁹ Trahair JF, Sangild PT. Systemic luminal influences on the development gut. *Equin. Vet. J. Suppl.* 1997; 24: 40 – 50.
- ⁹⁰ Wang T, Xu RJ.. Effects of colostrum feeding on intestinal development in newborn pigs. *Biol Neonate.* 1996;70:339 – 348.

-
- ⁹¹ Zhang H, Malo C, Buddington RK. Suckling induces rapid intestinal growth and changes in brush border digestive functions of newborn pigs. *J. Nutr.* 1997; 127: 418 – 426.
- ⁹² Burrin DG. Colostrum enhance the nutritional stimulation of vital organ protein synthesis. *J. Nutr.* 1997;127:1284-1289.
- ⁹³ Wu G, Knabe DA, Free and protein-bound amino acids in sow's colostrum and milk. *J. Nutr.* 1994; 124: 415 – 424.
- ⁹⁴ Bluma JW, Baumrucker CR. Colostral and milk insulin-like growth factors and related substances: Mammary gland and neonatal (intestinal and systemic) targets. *Domes. Anim. Endoc.* 2002;23: 101–110.
- ⁹⁵ Xu RJ, Wang F, Zhang SH. Postnatal adaptation of the gastrointestinal tract in neonatal pigs: a possible role of milk-borne growth factors. *Livest. Prod. Sci.* 2000; 66: 95– 107.
- ⁹⁶ Nelly D, McFadyen M, King TP, Morgan TP. Characterization and autoradiographical localization of the epidermal growth factor receptor in the jejunum of neonatal pig. *Repr. Fert. Develop.* 1992; 4: 183 – 191.
- ⁹⁷ Burrin DG, GLP-2 stimulates intestinal growth in premature TPN-fed pigs by suppressing proteolysis and apoptosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2000; 279: G1249 – G1256.
- ⁹⁸ Vega-Lopez MA. Desarrollo del sistema inmune intestinal porcino. *Tec. Pecu. Mex.* 1994;32(1).30 – 38.
- ⁹⁹ Komuves LG, Heath JP. Uptake of maternal immunoglobulins in the enterocytes of suckling piglets: improve detection with streptavidin-biotin bridge gold technique. *J Histochem Cytochem.* 1992; 40: 1637 – 1646.
- ¹⁰⁰ Murata H, Namioka S. The duration of calostrual immunoglobulins uptake epithelium of small intestine of neonatal piglets. *J Comparative Pathol* 1997; 87: 431 – 439.
- ¹⁰¹ Holland RE. Some infectious causes of diarrhea in young farm animals. *Clin Microb Rev.* 1990; 3: 345 – 375.
- ¹⁰² Lindenberg T. Protease inhibitors in human milk. *Pedia Res.* 1982; 16: 479 – 483.
- ¹⁰³ Weström BR, Ohlsson BG, Svendensen J, Tagesson
- ¹⁰⁴ Ekstrom GM, Westrom BR Cathepsin B and D activities in intestinal mucosa during postnatal development in pigs. Relation to intestinal uptake and transmission of macromolecules. *Biol. Neonat.* 1991; 59: 314 – 321.
- ¹⁰⁵ Sangild PT, Sjöström H, Nprén O, Fowden AL, Silver M. The prenatal development and glucocorticoids control of brush border hydrolases in the pig small intestine. *Pediatr. Res.* 1995; 37: 207 – 212.
- ¹⁰⁶ Bate LA, Ireland W, Connell BJ, Grimmelt B. Development of the small intestine in piglets in response to prenatal elevation of glucocorticoids. *Histol Histopath.* 1991; 6: 206 -216.
- ¹⁰⁷ Kidder DE, Manners MJ. The level of distribution of carbohydrases in the small intestine mucosa of pigs from 3 week of age to maturity. *Brit J Nutr.* 1980; 43: 141-153
- ¹⁰⁸ Hampson DJ, Kidder DE. Influence of creep feeding and weaning on brush border enzyme activities in the piglet small intestine. *Res. Vet. Sci.* 1986; 40: 24 - 31
- ¹⁰⁹ Smith MW. Expression of digestive and absorptive unction in differentiating enterocytes. *Ann Rev Phys.* 1985; 47: 247 – 260.

- ¹¹⁰ Burrin DG, Ferrell CL, Eisemann JH, Britton RA, Nienaber JA. Effect of level of nutrition on splanchnic blood flow and oxygen consumption in sheep. *Br J Nutr* 1989;62(1):23-34.
- ¹¹¹ Yen JT, Nienaber JA, Hill DA, Pond WG. Oxygen consumption by portal vein-drained organs and by whole animal in conscious growing swine. *Proc Soc Exp Biol Med* 1989 Apr;190(4):393-8.
- ¹¹² Reeds PJ, Cadenhead A, Fuller MF, Lobley GE, McDonald JD. Protein turnover in growing pigs. Effects of age and food intake. *Br J Nutr* 1980 May;43(3):445-55
- ¹¹³ Attaix D, Manghebati A, Grizard J, Arnal M. Assessment of in vivo protein synthesis in lamb tissues with [3H]valine flooding doses. *Biochim Biophys Acta* 1986; 882(3):389-97
- ¹¹⁴ Burrin DG, Shulman RJ, Reeds PJ, Davis TA, Gravitt KR. Porcine colostrum and milk stimulate visceral organ and skeletal muscle protein synthesis in neonatal piglets. *J Nutr* 1992;122(6):1205-13
- ¹¹⁵ Deutz NE, Bruins MJ, Soeters PB. Infusion of soy and casein protein meals affects interorgan amino acid metabolism and urea kinetics differently in pigs. *J Nutr* 1998 Dec;128(12):2435-45.
- ¹¹⁶ Tome D, Bos C. Dietary Protein and Nitrogen Utilization. *J. Nutr.* 2000,130: 1868S—1873S.
- ¹¹⁷ Stoll B, Burrin DG, Henry J, Jahoor F, Reeds PJ. Substrate oxidation by portal drained viscera of the piglets. *Am J Phys* 1999; 277: E168 – E175.
- ¹¹⁸ Wu G. Intestinal mucosal amino acid catabolism. *Nutr.* 1998;128:1249-1252
- ¹¹⁹ Stoll B, Henry J, Reeds PJ, Yu H, Jahoor FR, Burrin DG. Catabolism dominates the first-pass intestinal metabolism of dietary essential amino acids in milk protein-fed piglets. *J. Nutr.* 1998; 128: 606 – 614.
- ¹²⁰ Yu YM, Burke JF, Vogt JA, Chambers L, Young VR. Splanchnic and whole body L-[1-13C, 15N] leucine kinetics in relation to enteral and parenteral amino acid supply. *Am J Physiol* 1992 May;262(5 Pt 1):E687-94.
- ¹²¹ van der Meulen J, Bakker JG, Smits B, de Visser H. Effects of source of starch on net portal flux of glucose, lactate, volatile fatty acids and amino acids in the pig. *Br J Nutr* 1997; 78(4):533-44.
- ¹²² Reeds PJ, Burrin DG. Glutamine and the Bowel. *J. Nutr.* 2001; 131: 2505S–2508S.
- ¹²³ Shortt C. Host-Microflora interface in health and disease. *Trends Food Sci Tech.* 1999; 10: 182 – 185.
- ¹²⁴ Michael E. Lamm. Interaction of antigens and antibodies at mucosal surfaces. *Annu. Rev. Microbiol.* 1997. 51:311– 340.
- ¹²⁵ Stollmach A, Strober W, MacDonald TT, Loch H, Zeitz M. Induction and modulation of gastrointestinal inflammation. *Immunology today.* 1998; 19 (10): 438 – 441.
- ¹²⁶ MacDonald TT, Bajaj-Elliott M, Pender FS. T cells orchestrate intestinal mucosal shape and integrity. 1999; 20 (11): 505 – 510.
- ¹²⁷ Strobel S, Mowat MA. Immune responses to dietary antigens: oral tolerance. *Immunol today.* 1998; 19 (4): 173 – 181.
- ¹²⁸ Lamm EM. Current concepts in mucosal immunity IV. How epithelial transport of IgA antibodies relates to host defense. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 1998; 274 (37) G614–G617.
- ¹²⁹ Saalmüller A, Pauly T, Höhlich B-H, Pfaff E. Characterization of porcine T lymphocytes and their immune response against viral antigens. *J Biotechnol.* 1999; 73: 223–233.
- ¹³⁰ Rothkotter HJ, Pabst R. Lymphocyte subsets in jejunal and ileal Peyer's patches of normal and gnotobiotic minipigs. *Immunology* 1989 May;67(1):103-8

-
- ¹³¹ Vega-Lopez MA, Telemo E, Bailey M, Stevens K, Stokes CR. Immune cell distribution in the small intestine of the pig: immunohistological evidence for an organized compartmentalization in the lamina propria. *Vet Immunol Immunopathol.* 1993; 37(1): 49-60
- ¹³² Pabst R, Rothkötter HJ. Postnatal development of lymphocyte subsets in different compartments of the small intestine of piglets. *Vet Immunol Immunopathol.* 1999; 72:167-173.
- ¹³³ Brown PJ, Bourne FJ. Development of immunoglobulin-containing cell populations in intestine, spleen and mesenteric lymph node of the young pigs as demonstrated by peroxidase-conjugated antisera. *Am J Vet Res.* 1976; 37: 1309 -1314.
- ¹³⁴ Vega-Lopez MA, Bailey M, Telemo E, Stokes CR. Effect of early weaning on the development of immune cells in the pig small intestine. *Vet Immunol Immunopathol* 1995; 44 (3-4):319-27.
- ¹³⁵ Wilson AD, Stokes CR, Bourne FJ. Effect of age of absorption and immune responses to weaning or introduction of novel dietary antigens in pig. *Res Vet Sci.* 1989; 46: 180 – 186.
- ¹³⁶ Welch SK, Saif LJ, Ram S. Cell-mediated immune responses of suckling pigs inoculated with attenuated or virulent transmissible gastroenteritis virus. *Am J Vet Res.* 1988, 1228 – 1234.
- ¹³⁷ Vega-Lopez MA, Arenas-Contreras G, Bailey M, Gonzalez-Pozos S, Stokes CR, Ortega MG, *et al.* Development of intraepithelial cells in the porcine small intestine. *Dev Immunol* 2001;8(2):147-58.
- ¹³⁸ Wilson AD, Stokes CR, Bourne FJ. Intraepithelial lymphocytes and T-cell mitogens a comparison of murine and porcine responses. *Immunol.* 1986; 58: 651 – 625.
- ¹³⁹ Taylor DJ. *Pig Diseases.* 7th Ed. St Edmundsbury Press. 1999: 31-37.
- ¹⁴⁰ Saif LJ, Wesley RD. Transmissible Gastroenteritis and Porcine Respiratory Coronavirus In: Taylor J D, Barbara E. Straw E B, D'Allaire S, William L. Mengeling L W, Editors. *Diseases of swine.* 8th Ames, Iowa U.S.A. Iowa state university press 2000; 883-912.
- ¹⁴¹ Young RV, Ajami MA. Glutamine: The Emperor or His Clothes?. *J. Nutr.* 2001; 131: 2449S–2459S.
- ¹⁴² Wagner PJ. Charge density and topological analysis of L-glutamine. *Mol Struct.* 2001; 595: 39 – 46.
- ¹⁴³ Bode PB. Recent molecular advances in mammalian glutamine transport. *J Nutr.* 2001; 131: 2475S – 2485S.
- ¹⁴⁴ Souba WW. Interorgan ammonia metabolism in health and disease: a surgeon's view. *J Parenter Enteral Nutr.* 1987;11(6):569-79.
- ¹⁴⁵ Welbourne T, Routh R, Yudkoff M, Nissim I. The glutamine/glutamate couplet and cellular function. *News Physiol Sci* 2001;16:157-60.
- ¹⁴⁶ Neu J, Shenoy V, Chakrabarti R. Glutamine nutrition and metabolism: Where do we go from here?. *FASEB J.* 1996; 10: 829 – 837.
- ¹⁴⁷ Eagle H, Oyama VI, Levy M, Horton CL, Fleischman R. The growth response of mammalian cells in tissue culture to L-glutamine and L-glutamic acid. *J. Biol. Chem.* 1956: 218:607-616.
- ¹⁴⁸ Krebs H. Special lecture: glutamine metabolism in the animal body. Mora J. Palacios R. eds. *Glutamine Metabolism Enzymology and Regulation* Academic Press New York, NY.1980:319-329.
- ¹⁴⁹ Jackson NC, Carroll PV, Russell-Jones DL, Sönksen PH, Treacher DF, Umpfey AM. Effects of glutamine supplementation, GH, and IGF-I on glutamine metabolism in critically ill patients. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000; 278: E226–E233.

-
- ¹⁵⁰ Buchman LA, Glutamine: commercially essential or conditionally essential? A critical appraisal of the human data. *Am J Clin Nutr.* 2001; 74: 25–32.
- ¹⁵¹ Wesley AJ, Nutritional pharmacology in surgical patients. *Am J Surg* 2002; 183: 349–352
- ¹⁵² Jackson NC, Carroll PV, Russell-Jones DL, Sönksen PH, Treacher DF, Umpieby AM. The metabolic consequences of critical illness: acute effects on glutamine and protein metabolism. *Am. J. Physiol Endocrinol. Metab.* 1999; 276 (39) E163–E170.
- ¹⁵³ Windmuller HG. Glutamina utilization by the small intestine. *Adv Enzymol* 1982; 53: 202-
- ¹⁵⁴ Windmuller HG, Spaeth AE. Respiratory fuels and nitrogen metabolism in vivo in small intestine of fed rats. *J Biol Chem.* 1980; 255: 107.
- ¹⁵⁵ Rooyackers OE, Nair KS. Hormonal regulation of human muscle proteinmetabolism *Annu. Rev. Nutr.* 1997. 17:457–85..
- ¹⁵⁶ Plumley DA, Austgen TR, Salloum RM, Souba WW. The role of the lungs in maintaining amino acid homeostasis. *J. Parenter Enter Nutr.* 1990; 14(6) 569-573.
- ¹⁵⁷ Elia M, Lunn PG. The use of glutamine in the treatment of gastrointestinal disorders in man. *Nutrition.* 1997 Jul-Aug;13(7-8):743-7.
- ¹⁵⁸ Worsaae H, Schmidt M. Plasma cortisol and behavior in early weaned piglets. *Act Vet Scand.* 1980; 255(1):107 -112.
- ¹⁵⁹ Souba WW, Smith RJ, Wilmore DW. Effects of glucocorticoides on glutamine metabolism in visceral organs. *Metabolism.* 1985; 34: 450 – 456.
- ¹⁶⁰ Li YS, Li JS, Jiang JW, Liu FN, Li N, Qin WS, Zhu H. Glycyl-glutamine-enriched long-term total parenteral nutrition attenuates bacterial translocation following small bowel transplantation in the pig. *J Surg Res* 1999;82(1):106-11.
- ¹⁶¹ Den Hond E, Hiele M, Peeters M, Ghoois Y, Rutgeerts P. Effect of long-term oral glutamine supplements on small intestinal permeability in patients with Crohn's disease. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 1999;23(1):7-11.
- ¹⁶² Shenoy V., Roig J. C., Chakrabarti R., Kubilis P. & Neu J. Ontogeny of glutamine synthetase in rat small intestine. *Pediatr. Res.* 1996; 39:643-648.
- ¹⁶³ James L. A., Lunn P. G. & Eli M. Glutamine metabolism in the gastrointestinal tract of the rat assessed by the relative activities of glutaminase (EC 3.5.1.2) and glutamine synthetase (EC 6.3.1.2). *Br. J. Nutr* 1998 79:365-372
- ¹⁶⁴ Reeds PJ, Burrin GD, Jahoor FR, Wykes L, Henry J, Frazer EM. Enteral glutamate is almost completely metabolized in the first pass by the gastrointestinal tract of infant pigs. *Am J Phys Endocrin Metab* 1996; 270: E413 – E 418.
- ¹⁶⁵ Reeds PJ, Burrin GD, Stoll B, Jahoor FR, Wykes L, Henry J, Frazer EM. Enteral glutamate is the preferential source for mucosal glutathione synthesis in the fed piglets. *Am J Phys.* 1997; 273: E480 – E418.
- ¹⁶⁶ Reeds PJ, Burrin GD, Stoll B, Jahoor FR. Intestinal Glutamate Metabolism. *J. Nutr.*2000; 130: 978S–982S.
- ¹⁶⁷ Horvath K., Jami M., Hill I. D., Papadimitriou J. C., Magder L. S. & Chanasongcram S. Isocaloric glutamine-free diet and the morphology and function of rat small intestine. *J. Parenter. Enteral Nutr.* 1996; 20:128-134

- ¹⁶⁸ Hasebe M., Suzuki H., Mori E., Furukawa J., Kobayashi K. & Ueda Y. Glutamate in enteral nutrition: can glutamate replace glutamine in supplementation to enteral nutrition in burned rats?. *J. Parenter. Enteral Nutr.* 1999; 23:78S-82S.
- ¹⁶⁹ McCauley R, Kong S, Heel HK, Hal JC. Review: The role of glutaminase in the small intestine. *Int J Biochem Cell Biol.* 1999; 31: 405-413.
- ¹⁷⁰ Wu G, Knabe DA, Flynn NE. Synthesis of citrulline from glutamine in pig enterocytes. *Biochem J* 1994 1;299 (Pt 1):115-121.
- ¹⁷¹ Darcy-Vrillon B, Posho L, Morel MT, Bernard F, Blachier F, Meslin JC, Duee PH. Glucose, galactose, and glutamine metabolism in pig isolated enterocytes during development. *Pediatr Res* 1994; 36(2):175-81.
- ¹⁷² Posho L, Darcy-Vrillon B, Morel MT, Cherbuy C, Blachier F, Duee PH. Control of glucose metabolism in newborn pig enterocytes: evidence for the role of hexokinase. *Biochim Biophys Acta* 1994 10;1224(2):213-20.
- ¹⁷³ Watford M, Lund P, Krebs HA. Isolation and metabolic characteristics of rat and chicken enterocytes. *Biochem J.* 1979;178(3):589-96.
- ¹⁷⁴ Ko TC, Beauchamp RD, Townsend CM Jr, Thompson JC. Glutamine is essential for epidermal growth factor-stimulated intestinal cell proliferation. *Surgery.* 1993;114(2):147-154
- ¹⁷⁵ Plauth M, Raible A, Vieillard-Baron D, Bauder-Gross D, Hartmann F. Is glutamine essential for the maintenance of intestinal function? A study in the isolated perfused rat small intestine. *Int J Colorectal Dis* 1999 Apr;14(2):86-94.
- ¹⁷⁶ Blachier F., M'Rabet-Touil H., Posho L., Darcy-Vrillon B. & Duee P. H. Intestinal arginine metabolism during development: evidence for de novo synthesis of L-arginine in newborn pig enterocytes. *Eur. J. Biochem.* 1993; 216:109-117
- ¹⁷⁷ Wu G., Borbolla A. G. & Knabe D. A. The uptake of glutamine and release of arginine, citrulline and proline by the small intestine of developing pigs. *J. Nutr.* 1994; 124:2437-2444.
- ¹⁷⁸ Curthoys N. P. & Watford M. Regulation of glutaminase activity and glutamine metabolism. *Annu. Rev. Nutr.* 1995; 15:133-159.
- ¹⁷⁹ Panigrahi P, Gewolb IH, Bamford P, Horvath K. Role of glutamine in bacterial transcytosis and epithelial cell injury. *J. Parenter. Enteral Nutr.* 1997; 21: 75-80.
- ¹⁸⁰ Khan J., liboshi Y., Cui L., Wasa M., Sando K., Takagi Y. & Okada A. Alanyl-glutamine-supplemented parenteral nutrition increases luminal mucus gel and decreases permeability in the rat small intestine. *J. Parenter. Enteral Nutr.* 1999; 23:24-31
- ¹⁸¹ Blikslager A. T., Rhoads J. M., Bristol D. G., Roberts M. C. & Argenzio R. A. (1999) Glutamine and transforming growth factor-alpha stimulate extracellular regulated kinases and enhance recovery of villous surface area in porcine ischemic-injured intestine. *Surgery* 125:186-194
- ¹⁸² Rhoads J. M., Argenzio R. A., Chen W., Rippe R. A., Westwick J. K., Cox A. D., Berschneider H. M. & Brenner D. A. (1997) L-Glutamine stimulates intestinal cell proliferation and activates mitogen-activated protein kinases. *Am. J. Physiol.* 272:G943-G953
- ¹⁸³ Rhoads J. M., Argenzio R. A., Chen W., Graves L. M., Licato L. L., Blikslager A. T., Smith J., Gatz J. & Brenner D. A. (2000) Glutamine metabolism stimulates intestinal cell MAPKs by a cAMP-inhibitable, Raf-independent mechanism. *Gastroenterology* 118:90-100.
- ¹⁸⁴ Mandir N, Goodladb RA. The effects of glutamine on intestinal epithelial cell proliferation in parenterally fed rats. *Gut* 1999;44:608-614.

-
- ¹⁸⁵ McCauley R, Kong SE, Hall J. Glutamine and nucleotide metabolism within enterocytes. *J Parenter Enteral Nutr* 1998;22(2):105-11.
- ¹⁸⁶ Nissim I. Newer aspects of glutamine/glutamate metabolism: role of acute pH changes. *Am J Physiol Renal Physiol* 1999; 277: F493–F497.
- ¹⁸⁷ Welbourne T. C., Childress D. & Givens G. Renal regulation of interorgan glutamine flow in metabolic acidosis. *Am. J. Physiol.* 1986; 226:R858-R866
- ¹⁸⁸ Rhoads JM, Keku EO, Quinn J, Woosely J, Lecce JG L-glutamine stimulates jejunal sodium and chloride absorption in pig rotavirus enteritis. *Gastroenterology* 1991 Mar;100(3):683-91.
- ¹⁸⁹ Brooks H. W., White D. G. & Wagstaff A. J. Evaluation of a glutamine-containing oral rehydration solution for the treatment of calf diarrhea using an *Escherichia coli* model. *Br. Vet. J.* 1997; 153:163-170.
- ¹⁹⁰ Wu G, Meier SA, Knabe DA. Dietary glutamine supplementation prevents jejunal atrophy in weaned pigs. *J Nutr* 1996;126(10):2578-84.
- ¹⁹¹ Odle J. & Harrell R. J. Enhancing neonatal intestinal growth, development and repair following injury. *J. Dairy Sci.* 2001 (in press).
- ¹⁹² Van Acker AC, Hulsewé WE, Wagenmakers JM, von Meyenfeldt F, Soeter BP. Response of glutamine metabolism to glutamine-supplemented parenteral nutrition. *Am J Clin Nutr.* 2000; 72: 790–795.
- ¹⁹³ Alverdy JC. Effects of glutamine – supplemented diets on immunology of the gut. *J Parenter Enter Nut.* 1990; 14: 109S – 113S.
- ¹⁹⁴ Newsholme P, Curi R, Pithon Curi TC, Murphy CJ, Garcia C, Pires de Melo M. Glutamine metabolism by lymphocytes, macrophages, and neutrophils: Its importance in health and disease. *J. Nutr. Biochem.* 1999;10: 316-324.
- ¹⁹⁵ : Ardawi MS, Newsholme EA. Glutamine metabolism in lymphocytes of the rat. *Biochem J* 1983 Jun 15;212(3):835-42
- ¹⁹⁶ Alverdy JC, Aoye E, Moss GS. Total parenteral nutrition promotes bacterial translocation from the gut. *Surgery* 1988 Aug;104(2):185-90.
- ¹⁹⁷ Abely M, Dallet P, Boisset M, Desjeux JF. Effect of cholera toxin on glutamine metabolism and transport in rabbit ileum. *Am J Physiol Gastr.* 2000; 278: G789-G796.
- ¹⁹⁸ Van Acker AC, Hulsewé WE, Wagenmakers JM, von Meyenfeldt F, Soeter BP. Response of glutamine metabolism to glutamine-supplemented parenteral nutrition. *Am J Clin Nutr.* 2000; 72: 790–795.
- ¹⁹⁹ Souba WW, Klimberg VS, Hautamaki RD, Mendenhall WH, Bova FC, Howard RJ, et al. Oral glutamine reduces bacterial translocation following abdominal radiation. *J Surg Res* 1990 Jan;48(1):1-5.
- ²⁰⁰ Kew S, Wells MS, Yaqoob P, Wallace AF, Miles AE, Calder CP. Dietary Glutamine Enhances Murine T-Lymphocyte Responsiveness. *J. Nutr.* 1999; 129: 1524–1531.
- ²⁰¹ Burrin DG, Shulman RJ, Langston C, Store MC. Supplemental alanylglutamine, organ growth and nitrogen metabolism in neonatal pigs fed by total parenteral nutrition. *J Parent Enter Nutr.* 1994; 18: 313 – 319.
- ²⁰² Austgen TR, Chakrabarti R, Chen MK, Souba WW. Adaptive regulation in skeletal muscle glutamine metabolism in endotoxin-treated rats.

-
- ²⁰³ Max S. R., Mill J., Mearow K., Konagaya H., Konagaya Y, Thomas J. W., Banner C. & Vitkavic L. Dexamethasone regulates glutamine synthetase expression in rat skeletal muscles. *Am. J. Physiol.* 1988; 255:E397-E403
- ²⁰⁴ Cooney RN, Kimball SR, Vary TC Regulation of skeletal muscle protein turnover during sepsis: mechanisms and mediators. *Shock* 1997; 7(1):1-16
- ²⁰⁵ Roth E, Funovics J, Muhlbacher F, Schemper M, Mauritz W. Metabolic disorders in severe abdominal sepsis: glutamine deficiency in skeletal muscle. *Clin. Nutr.* 1982;1:25-41.
- ²⁰⁶ Boelens GP, Nijveldt JR, Houdijk JAP, Meijer S, van Leeuwen PAM. Glutamine Alimentation in Catabolic State. *J Nutr.* 2001;131: 2569S-2577S.
- ²⁰⁷ Reglamento para el cuidado de los animales en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Publicada en el diario oficial de la Federación el día 16 de julio de 1996; 25-80. NOM 033-ZOO-1995.
- ²⁰⁸ Manual número 19-7500-00/02 del kit de ELISA SVANOVIR®, Transmissible Gastroenteritis Virus/Porcine Respiratory Coronavirus EIA Differentiating Test Kit, Lab. SVANOVA Biotech, Num. Cat. 10-7500-02
- ²⁰⁹ Lipkin, M. Growth and development of gastrointestinal cells. *Annu. Rev. Phys* 1995 (48) 297 - 309
- ²¹⁰ Sarantos P, Ockert K and Souba WW. Endotoxin stimulates lymphocyte glutaminase expression. *Arch Sur* 1993; 61: 132 - 138