



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA**  
**CENTRO DE CIÊNCIA AGRÁRIAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**L-ARGININA EM DIETAS CONTENDO OU NÃO PRODUTO LÁCTEO PARA  
LEITÕES DESMAMADOS**

Francisco Aldevan Miranda Bem

AREIA – PB  
SETEMBRO DE 2018

# **L-ARGININA EM DIETAS CONTENDO OU NÃO PRODUTO LÁCTEO PARA LEITÕES DESMAMADOS**

Francisco Aldevan Miranda Bem  
Lic. Em Ciências Agrárias

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

## **Comitê de orientação:**

Prof. Dr. Leonardo Augusto Fonseca Pascoal – Orientador Principal

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Terezinha Domiciano Dantas Martins

Prof. Dr. José Humberto Vilar da Silva

AREIA – PB  
SETEMBRO DE 2018

**Catálogo na publicação**  
**Seção de Catalogação e Classificação**

B455l Bem, Francisco Aldevan Miranda.

L-ARGININA EM DIETAS CONTENDO OU NÃO PRODUTO LÁCTEO  
PARA LEITÕES DESMAMADOS / Francisco Aldevan Miranda

Bem. - João Pessoa, 2018.

0 f.

Orientação: Leonardo Augusto Fonseca Pascoal Pascoal.  
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCA.

1. Integridade intestinal, energia, desmame, IgA e Ig.  
I. Pascoal, Leonardo Augusto Fonseca Pascoal. II.  
Título.

UFPB/CCA-AREIA



## CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "L-ARGININA EM DIETAS CONTENDO OU NÃO PRODUTO LÁCTEO PARA LEITÕES DESMAMADOS", protocolada sob o CEUA nº 7991180418 (ID 000131), sob a responsabilidade de **Leonardo Augusto Fonseca Pascoal e equipe; Francisco Aldevan Miranda Bem; José Humberto Vilar da Silva; Ricardo Romão Guerra** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA/UFPB) na reunião de 11/05/2018.

We certify that the proposal "L-ARGININE ON DIETS CONTAINING OR NOT DAIRY PRODUCT FOR WEANED PIGLETS", utilizing 32 Swines (males and females), protocol number CEUA 7991180418 (ID 000131), under the responsibility of **Leonardo Augusto Fonseca Pascoal and team; Francisco Aldevan Miranda Bem; José Humberto Vilar da Silva; Ricardo Romão Guerra** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Paraíba (CEUA/UFPB) in the meeting of 05/11/2018.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **08/2018** a **10/2018**

Área: **Zootecnia**

Origem: **Animais de proprietários**

Espécie: **Suínos**

sexo: **Machos e Fêmeas**

idade: **21 a 21 dias**

N: **32**

Linhagem: **Linhagem comercial**

Peso: **5 a 6 kg**

Local do experimento: Laboratório de Suinocultura do Centro de Ciências Humanas Sociais/CCHSA/UFPB

João Pessoa, 12 de maio de 2018

Prof. Dra. Islania Gisela Albuquerque Gonçalves  
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal da Paraíba

Prof. Dr. Ricardo Romão Guerra  
Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal da Paraíba



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**  
**PARECER DE DEFESA DO TRABALHO DE DISSERTAÇÃO**

**TÍTULO:** "L- ARGININA EM DIETAS CONTENDO OU NÃO PRODUTO LÁCTEO PARA LEITÕES DESMAMADOS"

**AUTOR:** Francisco Aldevan Miranda Bem

**ORIENTADOR:** Leonardo Augusto Fonseca Pascoal

**JULGAMENTO**

**CONCEITO: APROVADO**

**EXAMINADORES:**

Prof. Dr. Leonardo Augusto Fonseca Pascoal  
Presidente  
Universidade Federal da Paraíba

Prof. Dr. Ricardo Romão Guerra  
Examinador  
Universidade Federal da Paraíba

Prof. Dr. Faviano Ricelli da Costa e Moreira  
Examinador  
Instituto Federal do Rio Grande do Norte

Areia, 06 de Setembro de 2018

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Universidade Estadual da Paraíba, que ao praticar a política de capacitação e valorização de seu corpo Técnico Administrativo me deu as condições necessárias para o desenvolvimento das atividades acadêmicas no programa de Pós-Graduação Zootecnia (PPGZ), resultando no desenvolvimento desse trabalho. Com isso cresce a minha responsabilidade e dever de retribuição, sobre a forma de prestação de serviços públicos a essa instituição e a todo o público que dele se serve, a oportunidade que me foi dado de crescimento profissional, intelectual e pessoal.

Agradeço ao Professor Dr. Leonardo Augusto Fonseca Pascoal, por sua disponibilidade de orientar-me, assim como todo o comitê de orientação e a todos que vieram a colaborar na construção desse trabalho.

## SUMÁRIO

|                                                                                              |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| LISTA DE TABELAS .....                                                                       | 8  |
| LISTA DE FIGURA .....                                                                        | 10 |
| RESUMO .....                                                                                 | 11 |
| ABSTRACT .....                                                                               | 12 |
| INTRODUÇÃO .....                                                                             | 10 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA .....                                                               | 11 |
| 2.1. Saúde intestinal e desafios na nutrição de leitões desmamados .....                     | 11 |
| 2.2. Imunonutrição vs produtividade .....                                                    | 13 |
| 2.3. Suplementação aminoacídica para leitões desmamados com nova abordagem. ....             | 15 |
| 2.4. Arginina e seus aspectos funcionais e nutricionais em dietas de leitões .....           | 16 |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS .....                                                                  | 20 |
| 3.1. Animais, local e desenho experimental .....                                             | 20 |
| 3.2. Dietas experimentais .....                                                              | 21 |
| 3.3. Desempenho Zootécnico .....                                                             | 24 |
| 3.4. Incidência de diarreia .....                                                            | 24 |
| 3.5. Curva glicêmica .....                                                                   | 24 |
| 3.6. Abate dos Animais .....                                                                 | 24 |
| 3.7. Avaliação do glicogênio hepático .....                                                  | 25 |
| 3.8. Morfometria intestinal .....                                                            | 26 |
| 3.9. Imunohistoquímica para anti-Caspase-3 e anti-PCNA .....                                 | 25 |
| 3.10. Análise de sangue sanguínea .....                                                      | 27 |
| 3.11. Viabilidade econômica .....                                                            | 28 |
| 3.12. Análise Estatística .....                                                              | 29 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....                                                              | 29 |
| 4.1. Desempenho Zootécnico .....                                                             | 29 |
| 4.2. Incidência de diarreia .....                                                            | 32 |
| 4.3. Peso de órgãos .....                                                                    | 34 |
| 4.4. Curva glicêmica .....                                                                   | 35 |
| 4.5. Avaliação do glicogênio hepático .....                                                  | 39 |
| 4.6. Morfometria Intestinal .....                                                            | 42 |
| 4.7. Taxa de mitose (anti-PCNA) e apoptose (anti+Caspase-3) das células<br>intestinais ..... | 37 |
| 4.8. Parâmetros séricos sanguíneo .....                                                      | 44 |
| 4.9. Viabilidade Econômica e percentagem de leitões entregues .....                          | 46 |
| 5. CONCLUSÃO .....                                                                           | 47 |
| 6. REFERÊNCIAS .....                                                                         | 49 |

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 1</b> – Composição calculada das dietas experimentais na fase I, dos 21 aos 32 dias ....                                                                                                                                                                                                                                                    | 22 |
| <b>Tabela 2</b> – Composição calculada das dietas experimentais na fase II, dos 32 aos 43 dias ...                                                                                                                                                                                                                                                    | 23 |
| <b>Tabela 3</b> – Preços dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais .....                                                                                                                                                                                                                                                                   | 28 |
| <b>Tabela 4</b> - Efeito da suplementação de L-arginina em dietas contendo ou não produto lácteo para leitões desmamados sobre o consumo diário de ração (CDR) ganho diário peso (GDP), conversão alimentar (CA) e Peso aos períodos 32, 42 e 63 dias de idade .....                                                                                  | 30 |
| <b>Tabela 5</b> – Efeito da suplementação de L-arginina em dietas contendo ou não produto lácteo para leitões desmamados sobre o peso relativo de intestino, fígado, baço e pâncreas .                                                                                                                                                                | 34 |
| <b>Tabela 6</b> – Efeito da suplementação de L-arginina em dietas contendo ou não produto lácteo para leitões desmamados sobre a concentração de glicose no sangue (mg/dl) em relação aos tempos de coleta .....                                                                                                                                      | 35 |
| <b>Tabela 7</b> – Índice de estoque de glicogênio hepático de leitões suplementados com L-Arginina em dietas contendo ou não produto lácteo .....                                                                                                                                                                                                     | 38 |
| <b>Tabela 8</b> – Efeito da suplementação de 0,6% de L-arginina em dietas contendo ou não produto lácteo para leitões desmamados sobre altura das vilosidades (AV), profundidade das criptas (PC) relação vilo:cripta (AV/PC), espessura de mucosa (EM), largura de vilo (LV), área absortiva (AA) e contagem de células caliciformes no duodeno..... | 39 |
| <b>Tabela 9</b> – Efeito da suplementação de 0,6% de L-arginina em dietas contendo ou não produto lácteo para leitões desmamados sobre altura das vilosidades (AV), profundidade das criptas (PC) relação vilo:cripta (AV/PC), espessura de mucosa (EM), largura de vilo (LV), área absortiva (AA) e contagem de células caliciformes no jejuno ..... | 40 |
| <b>Tabela 10</b> – Taxa de mitose celular com anti-PCNA e de apoptose celular com                                                                                                                                                                                                                                                                     | 43 |

anti+Caspase-3 (segundo score adaptado de Ishak et al., 1995), no duodeno e jejuno de leitões suplementados com L-Arginina em dietas contendo ou não produto lácteo .....

**Tabela 11** – Concentração séricos de IgA, IgG, GGT (gama-glutamyltransferase), AST (aspartato aminotransferase), creatinina, ureia e proteínas totais em leitões suplementados com L-Arginina em dietas contendo ou não produto lácteo..... 44

**Tabela 12** – Efeito da suplementação de L-arginina em dietas contendo ou não produto lácteo para leitões desmamados sobre Viabilidade Econômica e percentagem de leitões entregues..... 47

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                    |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1</b> – Incidência de diarreia de leitões alimentados com dietas suplementadas com L-arginina contendo ou não produto Lácteo .....       | 32 |
| <b>Figura 2</b> – Concentração de glicose sanguínea em leitões de acordo com as diferentes dietas experimentais em função do tempo de coleta. .... | 36 |

## RESUMO

Objetivou-se avaliar a suplementação de L-arginina em dietas contendo ou não produto lácteo para leitões desmamados. Para tanto, utilizou-se 32 leitões desmamados aos 21 dias de mesma linhagem comercial, com peso médio inicial  $5,159 \text{ kg} \pm 1,919$ , distribuídos em um delineamento em blocos ao acaso para controlar as diferenças iniciais de peso. As dietas experimentais consistiram em: DS – Dieta composta principalmente por milho, farelo de soja sem produto lácteo; DSA - Dieta composta principalmente por milho, farelo de soja sem produto lácteo com suplementação de 0,6% de L-arginina; DL – Dieta composta principalmente por milho, farelo de soja com produto lácteo; DLA - Dieta composta principalmente por milho, farelo de soja com produto lácteo e suplementação de 0,6% de L-arginina. Quando os animais atingiram 43 dias de idade, um animal de cada parcela experimental foi abatido. Foram avaliados o desempenho produtivo, incidência de diarreia, curva glicêmica, morfometria intestinal, imunohistoquímica, peso relativo de órgãos, glicogênio hepático, parâmetro séricos sanguíneos e viabilidade econômica. A suplementação de 0,6 % de L-arginina em dietas sem ou com produto lácteo aumentou ( $P<0,05$ ) o ganho de peso diário e o peso final dos leitões dos 21 aos 32 dias. Verificou-se redução da incidência de diarreia nos leitões que receberam dietas com 0,6% de L-arginina contendo ou não produto lácteo. Em relação a morfometria intestinal dos animais verificou-se que nas dietas contendo produto lácteo e 0,6% de L-arginina apresentou ( $P<0,05$ ) maior relação vilo:cripta. Também foi observado na imunohistoquímica, menor taxa de mitose e de apoptose no jejuno de animais que receberam dietas lácteas. Já a dieta sem produto lácteo, quando suplementado de 0,6% de arginina elevou as concentrações séricas de IgA e IgG em relação a não suplementada. ( $P<0,05$ ). Conclui-se que a suplementação dietética de 0,6% de L-arginina promoveu aumento da atividade imunológico de leitões desmamados aos 21 dias, melhorou a integridade intestinal e consequentemente reduziu a diarreia na fase de creche. A arginina pode atenuar o efeito deletério de dietas totalmente vegetais para leitões desmamados.

**Palavras Chaves:** Integridade intestinal, energia, desmame, IgA e IgG.

## ABSTRACT

The objective was to evaluate the supplementation of L-arginine in diets containing or not milk product for weaned piglets. For this purpose, we used 32 piglets weaned at 21 days of same commercial line, with average weight of  $1.919 \pm 5.159$  kg, distributed in a random block design to control the initial weight differences. The experimental diets were: DS - Diet mainly composed of corn soybean meal without dairy product; DSA - Diet consisting mainly of corn soybean meal without dairy product with supplementation of 0.6% of L-arginine; DL - Diet composed mainly of corn soybean meal with dairy product; DLA - Diet consisting mainly of corn soybean meal with dairy product and supplementation of 0.6% of L-arginine. When the animals reached 43 days of age, one animal from each experimental plot was slaughtered. The productive performance, incidence of diarrhea, glycemic curve, intestinal morphometry, immunohistochemistry, relative organ weight, hepatic glycogen, serum parameters and economic viability were evaluated. The supplementation of 0.6% of L-arginine in diets without or with dairy product increased ( $P < 0.05$ ) the daily weight gain and the final weight of piglets from 21 to 32 days. There was a reduction in the incidence of diarrhea in piglets fed diets with 0.6% of L-arginine, whether or not containing dairy products. In relation to the intestinal morphometry of the animals, it was verified that in the diets containing milk product and 0.6% of L-arginine presented higher ( $v < 0.05$ ) relation villus: crypt. It was also observed in immunohistochemistry, lower rate of mitosis and apoptosis in the jejunum of animals that received dairy diets. On the other hand, the non-dairy diet, when supplemented with 0.6% arginine, increased the serum concentrations of IgA and IgG compared to the non-supplemented. ( $P < 0.05$ ). It is concluded that dietary supplementation of 0.6% of L-arginine promoted an increase in immune activity of weaned piglets at 21 days, improved intestinal integrity and consequently reduced daytime diarrhea. Arginine may mitigate the deleterious effect of whole-plant diets for weaned piglets.

**Key words:** Intestinal integrity, energy, weaning, IgA and IgG.

## 1. INTRODUÇÃO

O desmame é um momento crucial na produção de suínos em consequência do acúmulo de fatores que podem prejudicar o desenvolvimento dos animais. Nessa fase, o metabolismo dos leitões e seu comportamento ingestivo, são caracterizados pela síndrome de adaptação geral (SAG) provocada pela quebra do ambiente social, com a ausência materna e mistura de diferentes leitegadas, além de mudança do consumo de leite para uma dieta balanceada de base vegetal e água, causando muitas vezes falta de apetite, alterações metabólicas e fisiológicas da mucosa intestinal (LALLÈS et al., 2007). Todos esses fatores somam-se a uma redução na capacidade de resposta imunológica do animal e resultam em consequências práticas como mau desenvolvimento do trato gastrointestinal causando a ocorrência de diarreias severas, redução no consumo de alimentos, e queda nos índices de produtividade dos animais refletindo negativamente no desempenho econômico da atividade. Nesse contexto, a manutenção e potencialização do status imunológico desses animais é um importante instrumento para minimizar ou prevenir o baixo desempenho, a morbidade e a mortalidade dos leitões na creche

A utilização de dietas complexas utilizando variedades de ingredientes que permita melhor digestibilidade para o período pós-desmame é comum em sistemas de criações de nível tecnológico mais elevados e que buscam a máxima produtividade. O sistema digestório dos leitões, do nascimento ao desmame, é adaptado para secretar as enzimas que digerem os componentes do leite materno, principalmente lactose, e é no período pós-desmame que vai ocorrer modificações fisiológicas que proporcionaram a digestão de dietas vegetais a partir da exposição a estas. Com isso a utilização do leite em pó ou derivados lácteos pode amenizar o impacto nesse período de transição, melhorando a digestibilidade da dieta e minimizando a má absorção e consequente proliferação microbiana proveniente de resíduos não digeridos no trato gastrointestinal do leitão. No entanto, o uso de alguns ingredientes especiais como o leite em pó, eleva consideravelmente o custo das rações.

Ao longo de muitos anos, no intuito de prevenir distúrbios digestivos e aumentar a eficiência na utilização de alimentos, o uso de antibióticos como aditivo alimentar em dietas para leitões tem sido largamente empregado. Porém, a concepção de que o uso de antimicrobianos nas rações animais possa impactar a saúde humana, devido ao possível

risco de resistência microbiana, levou os consumidores da comunidade europeia a condenarem essa prática e a proibição. O Brasil, seguindo recomendações de organizações internacionais técnico-científicas, vem continuamente adequando-se a essa realidade por meio de proibições sucessivas de substâncias antimicrobianas (antibióticos) como aditivos em rações animais. Para tanto, é preciso buscar alternativas a essa nova realidade.

Nesse âmbito, pesquisas vêm indicando funções adicionais de alguns aminoácidos na manutenção da integridade intestinal, melhorando a digestão e absorção de nutrientes e nas resposta imunitárias de leitões desmamados (ROTH, 2008; WANG et al., 2008; WU et al., 2010; SILVA, 2015; YI et al. 2018), sugerindo o conceito de aminoácido funcional, definidos como aqueles que regulam vias metabólicas importantes para melhorar a saúde, a sobrevivência, o crescimento, a lactação e a reprodução (WU, 2013).

A arginina, aminoácido não essencial, porém classificado como condicionalmente essencial para leitões, vêm comprovando funcionalidade quando adicionados à dieta de leitões recém-desmamados. Propõe-se que muitos tipos celulares utilizam a arginina como precursor de óxido nítrico, metabólito este, que assume importância em vários processos, incluindo a vasodilatação, resposta imune, neurotransmissor e adesão de plaquetas e leucócitos (MATEO et al., 2007, 2008). A arginina é verdadeiramente um aminoácido funcional em nutrição e saúde animal (WU, 2013; WU et al., 2015).

A suplementação de arginina pode trazer respostas tanto no desenvolvimento do trato digestivo de leitões, mas principalmente na sua imunidade e consequentemente no desempenho produtivo.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Saúde intestinal e desafios na nutrição de leitões desmamados**

O bom desempenho dos leitões na fase de creche é fundamental para o sucesso nas fases seguintes, porém, o desmame é um momento desafiador na vida destes, por proporcionar alterações abruptas em sua fisiologia, especialmente nos processos digestivos, metabólicos e imunológicos. O desmame é caracterizado por disfunções

gastrointestinais além de redução na capacidade de resposta imunológica, sendo a diarreia no pós-desmame um dos eventos mais vivenciados em granjas de produção de leitões.

A parede intestinal é constituída por uma monocamada celular altamente polarizada e unida que limitam os espaços luminais dos espaços intracelulares e tem em sua forma arquitetônica vilosidades e criptas. Na base das criptas existe uma população de células-tronco responsáveis por promover a constante renovação da população celular do epitélio intestinal e as diferentes linhagens de células, sendo essa renovação de forma sistemática (RODRIGUES et al., 2016). Essa taxa de renovação, em suínos recém-nascidos, ocorre aproximadamente de sete a dez dias e em leitões de três semanas de idade ocorre de dois a quatro dias (CERA et al., 2007).

Conforme as células migram das criptas, movendo-se na direção apical das vilosidades, vão diferenciando-se em enterócitos absorptivos ou em qualquer um dos três tipos de células secretórias: células caliciformes, células de Paneth ou células enteroendócrinas (RODRIGUES et al., 2016). A barreira intestinal constitui-se de barreiras físicas, fisiológicas, enzimáticas e imunológicas, as quais estão sob o controle neuro-hormonal tendo ainda como defesa importante a secreção de fluído e mucina, juntamente com IgA secretória, para dentro do lúmen, tendo como função básica a neutralização de substâncias nocivas ao epitélio e a saúde do indivíduo (SODERHOLM, 2001).

O sistema digestório dos leitões, do nascimento ao desmame, é adaptado para secretar as enzimas que digerem os componentes do leite materno e é no período pós-desmame que vai ocorrer modificações fisiológicas marcantes que proporcionaram a digestão de dietas vegetais a partir da exposição a estas. A atividade da lactase e aminopeptidases, é reduzida de dois a quinze dias pós-desmame em dietas comuns para leitões, enquanto a maltase diminuí nos dois primeiros dias e aumenta depois de oito a quinze dias pós-desmame, além disso, há uma significativa redução na fosfatase alcalina, responsável pelo importante papel na desintoxicação de endotoxinas e alterações no metabolismo de aminoácidos, conforme relatado por Lalles et al. (2004) e Montagne et al. (2007).

As alterações nas estruturas intestinais, vilus e criptas, e no perfil de secreção enzimática vivenciado pelos animais ao desmame, em função principalmente da alteração da dieta, pode resultar em retardo ou má absorção e consequente proliferação

microbiana proveniente de resíduos não digeridos no trato gastrointestinal, constitui-se em importante mecanismo para o aparecimento de diarreias nos leitões. A proliferação exacerbada de microrganismos, em consequência de resíduos não digeridos da nova dieta no trato intestinal dos leitões, produz enterotoxinas que desencadeiam vias de sinalização intracelular, induzindo secreção maciça responsável pela diarreia (MCLAMB et al., 2013). Para Cambell et al. (2013), as infecções entéricas que resultam em diarreia são uma das principais causas de morbidade de leitões.

Aditivos zootécnicos de natureza antimicrobiano tem sido empregado a mais de 50 anos para atenuar os danos no pós-desmame em leitões. Os principais efeitos benéficos atribuídos ao uso de antibióticos como aditivos alimentares são a maior eficiência na utilização dos nutrientes, menor acúmulo de substratos para proliferação de microrganismos patogênicos e prevenção dos distúrbios digestivos por melhoria da saúde intestinal. Segundo Looft et al. (2012), suínos que receberam dietas contendo antibiótico, mostraram um acréscimo na expressão de genes funcionais relacionados à produção de energia e conversão alimentar na microbiota intestinal, após análise de metagenômica. Porém, a concepção de que múltiplos antimicrobianos usados em ração animal estejam correlacionados a multirresistência bacteriana, levou a União Europeia a proibição desta prática em janeiro de 2006 e aos EUA efetivar novos regulamentos de uso de antibiótico na produção animal (GAGGIA, et al., 2010).

Para Yi et al. (2018), a crescente escala de produção nas granjas suínolas e a pressão global cada vez maior pela restrição no uso de antimicrobianos, tem sido um grande obstáculo na manutenção da saúde intestinal, afetando o bom desempenho dos leitões na fase de creche. Com isso, dedicar-se ao estudo de nutrientes funcionais que possa modular respostas do sistema imunológico em alternativa ao uso de antibióticos é atualmente um grande desafio na nutrição de leitões ao desmame.

## **2.2 Imunonutrição vs produtividade**

A suinocultura moderna apesar de tantos desenvolvimentos tecnológicos, ainda apresenta entraves que limitam o seu avanço na produção de proteína de origem animal, dentre estes, pode ser mencionado a nutrição de leitões durante o pós-desmame. A importância da nutrição de leitões não se dá unicamente por satisfazer suas exigências orgânicas de nutrientes, mas também aspectos atrelados à saúde do mesmo. Com isso,

muito ainda há de se estudar em busca de definir nutrientes com características funcionais e em que níveis de inclusão destes serão capazes de promover imunocompetências e mais vigor ao indivíduo.

Muitas são as complexidades das interações que podem ser firmadas entre os nutrientes e as células imunitárias. O sistema imunológico é compreendido como conjunto integrado de células e molécula mediadoras que interagem de maneira complexa e a sua modulação em condições de estresse imunológico é realizada por proteínas chamadas citocinas. As citocinas em sua complexa rede de interação, produzem efeitos fisiológicos diferentes conforme distinto for os desafios antigênicos, atuando em inflamações agudas e crônicas conjuntamente com o sistema endócrino e nervoso (WARRINGTON et al., 2008; TIZARD et al., 2014).

O estado nutricional do organismo está intimamente ligado as respostas imunes a contar de alguns nutrientes que tem a capacidade regulatória direto sobre os leucócitos, alterando os índices de proliferação, padrão de produção de citocinas e diferenciação de populações leucocitárias específicas, interferindo na resposta imune. Conceitualmente, Grimble (2001) definiu imunonutrição como a capacidade de modular resistência a infecções e doença em animais através de nutrientes e/ou alimentos específicos em quantidades adequadas.

A exemplo de aminoácidos, esses podem ser classificados como os que se diferenciam em proteínas teciduais e aquelas ligadas ao sistema imune e suas exigências irão mudar conforme diferente for o grau de desafio imunológico. Estudos já evidenciaram que os efeitos negativos sobre a deposição de proteína no músculo, decorrentes da ativação do sistema imune, são consequência de maior alteração no metabolismo proteico do que da redução do consumo e por consequência, um mau desenvolvimento inicial da imunidade pode ter custos significativos ao longo do ciclo de produção, expressado em performance produtiva do animal (TOLEDO et al., 2017). O desencadeamento de uma resposta imunológica proporciona custos adicionais por aumento na taxa metabólica basal e altera a partição de nutrientes. Nessas condições, os nutrientes que em ambientes não desafiados, que estariam disponíveis para crescimento muscular e ganho de peso, são desviados da função pela maior demanda do sistema imunológico (PLUSKE et al., 2018). Portanto, já se é conclusivo que o sistema imunológico é dependente de aporte proteico para a produção dos seus componentes como imunoglobulinas, proteínas de fase aguda, citocinas, etc.

O entendimento do funcionamento do sistema imune tem sido bastante ampliado a partir do uso de tecnologias que permite maior conhecimento sobre o papel gênico e alterações epigenéticas, propondo elucidações para respostas inflamatórias (SMALE et al., 2014). Com isso, estudos sobre as interações entre nutrição, fisiologia, imunologia e suas relevâncias são importantes para a solução de problemas de desempenho pós-desmame melhorando a produtividade na atividade.

Visto a importância da nutrição para obtenção de desenvolvimento do animal e os aspectos atrelados a saúde do mesmo, e como o intestino delgado é responsável por várias respostas imunológicas e digestivas, é crescente a demanda por estudos visando ingredientes chave que possam minimizar os efeitos inerentes ao processo de desmame.

### **2.3 Suplementação aminoacídica para leitões desmamados com nova abordagem**

As pesquisas realizadas para determinar as necessidades de proteína e aminoácidos assumiram grande papel para avanços na nutrição de suínos (BISINOTO et al., 2007). Os aminoácidos têm grande importância na nutrição suína, pois, são exigidos para o crescimento, reprodução e produção de leite. Em leitões, o processo metabólico mais importante é a retenção de nitrogênio, representada principalmente pela deposição de carne na carcaça, essa taxa de deposição é de grande importância para o estabelecimento das necessidades nutricionais de aminoácidos (ABREU et al., 2014). Por outro lado, em condições de estresse patológico verifica-se perda de nitrogênio endógeno como consequência da predominância do catabolismo sobre o anabolismo que pode levar a um balanço negativo de nitrogênio em leitões (TOLEDO et al., 2017).

A inclusão de aminoácidos sintéticos tem permitido reduzir os níveis de proteína bruta nas rações de suínos e otimizar o valor biológico das proteínas a partir da suplementação de aminoácidos essenciais, com base no conceito de proteína ideal, além de que, o excesso de proteína implica em um gasto extra de energia na sua metabolização. A qualidade da proteína refere-se à sua capacidade de satisfazer os requerimentos nutricionais do animal em quantidades e proporções de aminoácidos (PIRES et al., 2006).

Alguns aminoácidos são classificados como condicionalmente essenciais em circunstâncias em que a sua síntese endógena se torna limitada. Essa condição se dá

porque certos aminoácidos possuem importantes funções fisiológicas e podem em determinadas situações, serem necessários em maior quantidade (YI et al., 2005; WATFORD, 2011). Situações de estresse como desmame, desafios microbianos ou infecções, presença de endotoxina em animais jovens ou em desenvolvimento, são condições que aminoácidos não essenciais se tornam essenciais para o metabolismo.

As modificações no metabolismo proteico induzidas pela resposta inflamatórias ou imunes, ou ambas, podem provocar alterações nas exigências de aminoácidos, visto que a maioria dos mediadores pró-inflamatórios e da resposta imune são de natureza proteica. A suplementação de alguns aminoácidos específicos pode influenciar a imunocompetência dos animais, sugerindo o conceito de aminoácido funcional, sendo sua deficiência em dadas circunstâncias prejudicial à homeostase do organismo (PLUSKE et al., 2018; YI et al., 2018).

É crescente o reconhecimento de que, além de seu papel como blocos de construção das proteínas e polipeptídios, alguns aminoácidos regulam vias metabólicas importantes, expressão de genes e cascatas de reações, atribuindo-se a estes o conceito de aminoácido funcional. Pelo fato de possuir funções paralelas ao de constituição tecidual, alguns ainda pode ser classificada como um aminoácido funcional, por possui importante função na barreira intestinal, atuação nos mecanismos imunológicos e não imunológicos responsáveis pela manutenção da integridade desta barreira (CHOI et al., 2009).

A proibição da suplementação de dose subterapêuticas (como promotores de crescimento) e profiláticas de antibióticos nas rações animais remetem a buscas por alternativas como o uso de ferramentas nutricionais. Diante do exposto verifica-se que os aminoácidos não possuem só aspectos nutricionais mas também de regulação em vias importantes de defesas corpóreas do animal. Assim, é cada vez mais pertinente o estudo de aminoácidos com características funcionais buscando trazer novas informações na nutrição ao desmame e cada vez mais maximizar a produção, visto que esta fase é um desafio constante para os nutricionistas.

## **2.4 Arginina e seus aspectos funcionais e nutricionais em dietas de leitões**

A arginina é um aminoácido básico, possuindo quatro átomos de nitrogênio por molécula e por isso sendo o maior carregador de nitrogênio em humanos e animais. É

um dos aminoácidos mais versáteis nas células, apresentando importante função na síntese proteica e no metabolismo intermediário de nitrogênio, servindo como precursor também da síntese de moléculas de grande valor biológico como o óxido nítrico, ureia, poliaminas, prolina, glutamato, creatina e agmatina (CHIARLA et al., 2006; WILMORE, 2004; WU e MORRIS, 1998).

Entre as funções da arginina destaca-se a participação na secreção de insulina pelas células  $\beta$  do pâncreas e do hormônio de crescimento (GH), além de atuar como modulador imunológico devido ao seu papel como um substrato para o sistema imune assim como na manutenção das células de defesa presentes na mucosa do intestino, impedindo a proliferação de patógenos (HAN et al., 2009; WU et al., 2009). A arginina por sua vez é importante na maturação dos linfócitos T, na expressão de RNA mensageiro para a produção de citocinas Th1 e citocinas Th2, produção de óxido nítrico pelos macrófagos e estimula o crescimento e mantém a integridade do timo (RUBIN et al., 2007; SHANG et al., 2005).

A bioquímica da arginina é complexa e envolve diversas vias metabólicas e sistemas orgânicos e o seu nível plasmático é mantido a partir de fontes exógenas (dieta) e endógenas (catabolismo proteico corporal e síntese de novo a partir da citrulina). A síntese endógena de arginina varia de acordo com a espécie, estado nutricional e estágio de desenvolvimento (WU et al., 2009; WU e MORRIS, 1998).

Por via da síntese endógena, as proteínas corporais e dietéticas geram arginina, que pode então seguir duas vias: ciclo da uréia ou degradação intestinal (CREEN e CYNOBER, 2010).

A arginina proveniente de proteína endógena sintetizada no tecido hepático a partir do ciclo da ureia é rapidamente hidrolisada a ureia e ornitina, devido à alta atividade da enzima arginase (WU et al., 2009). Já a arginina derivada da degradação de proteínas corporais que sofre degradação intestinal é convertida no epitélio intestinal em citrulina, sintetizada a partir do glutamato, glutamina e ornitina em processo que ocorre nas mitocôndrias dos enterócitos e é dependente das enzimas ornitina aminotransferase e ornitina transcarbamilase (TAPIERO et al., 2002). A citrulina circulante no plasma, proveniente dos enterócitos é então captada pelos rins e convertida em arginina, no eixo intestino-renal, sendo também convertidos em outras células como dos adipócitos, células endoteliais, enterócitos, macrófagos, neurônios e

miócitos (CREEN e CYNOBER, 2010). A síntese de novo contribui para aproximadamente 10% do fluxo plasmático.

A arginina, aminoácido glicogênico, apresenta vias metabólicas em diferentes órgãos com funções altamente especializada, sendo que na maioria dos animais, a via metabólica completa de sua síntese é encontrada somente no intestino delgado de neonatos, entretanto, a via completa também está presente em leitões ao desmame. Por via exógena, a arginina proveniente da dieta é absorvida no jejuno e íleo, onde estudos mostram que é predominantemente transportada através da membrana intestinal por meio de transportadores de aminoácidos catiônicos (CAT), independentes do Na<sup>+</sup>, incluindo as isoformas CAT-1, CAT-2 e CAT-3 (CLOSS et al., 2004; PAN et al., 2004).

A arginina como intermediário do ciclo da ureia, pode ser metabolizada pelo óxido nítrico sintase, enzima que catalisa a conversão de L-arginina a L-citrulina produzindo óxido nítrico ou pela arginase produzindo poliaminas.

O óxido nítrico é um excelente vasodilatador pulmonar endógeno, aumentando o nível de guanosina monofosfato cíclico (GMPc) e reduz os níveis de cálcio ionizado na célula dos vasos sanguíneo promovendo o relaxamento e a redução da pressão arterial (LORENZONI e RUIZ-FERIA, 2006), para Popovic (2007), grande parte da importância biológica da arginina está atribuído a esse composto. Ademais, o papel exercido pelo óxido nítrico tem suma importância na resposta imunológica, sendo produzido por células que atuam na resposta imunológica inata como os monócitos, macrófagos, micróglia, células de Kupffer, eosinófilos e neutrófilos, por isso, durante a inflamação age mediando mecanismos de citotoxicidade e defesa não específica do hospedeiro (BOGDAN, 2001).

A via biosintética das poliaminas a partir da arginina envolve mecanismos e funções como detoxificação de amônia e síntese de uréia, sendo as poliaminas pequenas moléculas catiônicas que podem interatuar com diversas estruturas aniônicas incluindo DNA, RNA e proteínas. As poliaminas são consideradas como segundos mensageiros intracelulares, influenciando a síntese de proteínas e ácidos nucleicos e se tornando essenciais para a divisão celular normal e crescimento, além de atuarem como antioxidantes, protegendo as células de danos oxidativos (MUNDER et al., 2009; FLYNN et al., 2002; MURPHY, 2001).

A arginina tem tido ocorrências frequentes em várias áreas da pesquisa, inclusive na suinocultura. Embora não seja considerado um aminoácido essencial, a síntese de novo da arginina pelos rins (a principal fonte de arginina no plasma) nem sempre se dá em quantidades suficiente, tornando-se limitada a disponibilidade de arginina endógena. Conforme Li et al. (2007), fêmeas suínas em fase de lactação e leitões neonatos apresentam um déficit na síntese endógena de arginina. Portanto, a arginina é considerada um aminoácido condicionalmente essencial.

A arginina é um aminoácido essencial para o máximo crescimento em condições de limitada síntese endógena e conforme relatado por Wu et al. (2007), a deficiência pode ocorrer em várias condições nutricionais e clínicas, incluindo o baixo fornecimento, ocasionando retardamento do crescimento, disfunção intestinal e reprodutiva, reduzido desenvolvimento neurológico e imune, anormalidades pulmonares e cardiovasculares, reduzida capacidade de cicatrização, hiperamonemia e até a morte. As necessidades tornam-se aumentadas durante o estresse metabólico causado pelo desmame. Ainda para Wu (2010), uma ração típica a base de milho e farelo de soja não pode prover suficientes quantidades de arginina para o acréscimo de proteína corporal requerido pelo suíno em desenvolvimento pós-desmame.

O efeito da suplementação dietética de Arginina sobre o desempenho de leitões está relacionado com a idade dos animais, a dose do aminoácido e o período de tempo de suplementação (ZHENG et al., 2013). Hernandez et al. (2009), relataram que suplementação de 0,6% de arginina a uma dieta contendo 1% arginina não teve influência no desempenho dos leitões na primeira semana após o desmame, mas aumentou significativamente o ganho diário médio de peso na terceira semana após o desmame. Objetivando comprovar o déficit de desempenho em leitões, devido a deficiência de arginina, Wu et al. (2007) avaliaram níveis de 0,2 e 0,4% de arginina suplementar para leitões dos 7 aos 21 dias e observaram uma redução da amônia plasmática nas proporções de 20 e 35%, um aumento na concentração plasmática de arginina em 30 e 61% e no ganho de peso de 28 e 66% respectivamente, correlacionando os resultados aos níveis suplementados de arginina na dieta. Estudos também demonstraram que dietas suplementadas a nível de 0,5% e 1% de arginina melhoram o crescimento e a eficiência alimentar em leitões desmamados (WU et al., 2010; YAO et al., 2011).

Avaliando os efeitos da adição de L-arginina sobre o desempenho e função imune, Liu et al. (2008) ao estudar suplementação aos níveis de 0,5 e 1% em leitões desmamados desafiados com lipopolissacarídeo como causador de inflamação, verificaram nos segmentos de duodeno, jejuno e ílio, redução dos danos morfológicos intestinais por diminuição da proliferação de células da cripta e o aumento da apoptose das células dos vilos, aumentando por sua vez a área de absorção de nutrientes. Em leitões recém desmamados imunosuprimidos com ciclofosfamida, Han et al. (2009) verificaram que o uso da arginina abrandou o decréscimo do ganho de peso induzido pela ciclofosfamida administrada aos 21 e 28 dias de idade. Os autores ainda observaram redução do número total de células brancas aos 28 dias e aumento do percentual de linfócitos aos 21 dias, reduzindo o tempo de reação hipersensitiva, como efeito da adição de arginina.

Liu et al. (2008) e Han et al. (2009) concordam que a suplementação com arginina atua na manutenção das células de defesa presentes na mucosa do intestino, impedindo a proliferação de patógenos, sendo a redução na expressão gênica de citocinas intestinais pró-inflamatórias através da ativação PPARgamma a possível causa.

A arginina é um aminoácido usado por múltiplas vias, atuando na regulação de processos fisiológicos, bioquímicos e vias de sinalização dependentes, que desencadeiam interesses na nutrição de leitões e sua adequada suplementação dietética pode proporcionar respostas principalmente no aspecto imunonutricional após o desmame.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. Animais, local e desenho experimental.**

Para realização do ensaio foram utilizados 32 leitões desmamados aos  $21 \pm 2$  dias de idade, com peso médio inicial  $5,159 \text{ kg} \pm 1,919$  e mesma linhagem comercial (Embrapa MS115 X Topigs<sup>®</sup>), provenientes de granja comercial situado no município de Belo Jardim-PE. Após o desmame, os animais foram transportados até a creche experimental do Laboratório de Suinocultura do Centro de Ciências Humanas, Sociais–UFPB, em Bananeiras-PB. Os animais foram distribuídos em delineamento em blocos

ao acaso, para controlar diferenças iniciais de peso vivo, em quatro tratamentos com quatro repetições, sendo cada parcela constituída por dois animais (um macho castrado e uma fêmea). Os animais foram alojados em gaiolas de creches suspensa com piso plástico vazado contendo bebedouros tipo chupeta, comedouros e sistema de aquecimento por lâmpadas incandescentes de 70 W. Durante o período experimental, duas vezes ao dia foi registrado a temperatura máxima, mínima e umidade relativa do ar, que foram respectivamente 30,6 °C ( $\pm 0,38$ ), 25,4 °C ( $\pm 0,56$ ) e 78,3% ( $\pm 4,69$ ).

Todos os procedimentos experimentais foram submetidos e aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA/UFPB), sob protocolo CEUA nº 7991180418.

### **3.2 Dietas experimentais**

As dietas experimentais foram formuladas de modo a atender a exigência nutricionais mínimas dos animais de acordo com Rostagno et al. (2017), nas seguintes fases: I – dos 21 aos 32 dias; II - dos 33 aos 42 dias e III – dos 43 aos 63 dias. Nas dietas não foram adicionados antibióticos ou qualquer promotor de crescimento. Em todas as dietas experimentais foram atendidas as exigências mínimas de arginina digestível para leitões desmamados e para tanto utilizou-se L-arginina. O produto lácteo utilizado para compor as dietas experimentais foi o leite em pó integral. As dietas experimentais estão descritas a seguir:

DS - Dieta composta principalmente por milho e farelo de soja sem produto lácteo.

DSA - Dieta composta principalmente por milho e farelo de soja sem produto lácteo, suplementada com 0,6% de L-Arginina.

DL- Dieta composta principalmente por milho e farelo de soja contendo produto lácteo.

DLA- Dieta composta principalmente por milho e farelo de soja contendo produto lácteo, suplementada com 0,6% de L-Arginina.

A partir da fase III, dos 43 aos 63 dias, foi formulada uma única dieta sem produto lácteo, atendendo as exigências descritas por Rostagno et al. (2017) para a fase. Sendo assim, todos os animais receberam uma mesma dieta no intuito de observar o efeito residual dos tratamentos na fase subsequente.

**Tabela 1** – Composição centesimal e nutricional das dietas para leitões na fase I, dos 21 aos 32 dias.

| Composição                         | Fase I dos 21-32 dias/5-9kg |               |               |               |
|------------------------------------|-----------------------------|---------------|---------------|---------------|
|                                    | Dietas Experimentais        |               |               |               |
|                                    | DS                          | DSA           | DL            | DLA           |
| Milho Grão 8,8%                    | 54,690                      | 54,690        | 54,790        | 54,062        |
| F. de Soja, 45%                    | 34,080                      | 34,080        | 29,170        | 29,320        |
| Óleo de soja                       | 5,000                       | 5,000         | 0,966         | 1,208         |
| Leite pó integral                  | -                           | -             | <b>10,000</b> | <b>10,000</b> |
| Fosfato Bicálcico                  | 2,385                       | 2,385         | 2,111         | 2,111         |
| Calcário Calcítico                 | 0,910                       | 0,910         | 0,878         | 0,877         |
| L-Arginina                         | 0,182                       | <b>0,600</b>  | 0,258         | <b>0,600</b>  |
| L-Lisina                           | 0,616                       | 0,616         | 0,543         | 0,540         |
| DL-Metionina                       | 0,242                       | 0,242         | 0,219         | 0,219         |
| L-Treonina                         | 0,330                       | 0,330         | 0,296         | 0,296         |
| L-Triptofano                       | 0,058                       | 0,058         | 0,056         | 0,055         |
| L-valina                           | 0,142                       | 0,142         | 0,093         | 0,093         |
| Suplemento mineral <sup>1</sup>    | 0,150                       | 0,150         | 0,150         | 0,150         |
| Suplemento vitamínico <sup>2</sup> | 0,250                       | 0,250         | 0,250         | 0,250         |
| Sal Comum                          | 0,308                       | 0,308         | 0,193         | 0,194         |
| BHT                                | 0,020                       | 0,020         | 0,020         | 0,020         |
| Inerte <sup>3</sup>                | 0,622                       | 0,204         | 0,000         | 0,000         |
| Total (Kg)                         | 100,00                      | 100,00        | 100,00        | 100,00        |
| Composição química calculada       |                             |               |               |               |
| Proteína bruta %                   | 21,420                      | 21,420        | 21,420        | 21,420        |
| Energia met. kcal/kg               | 3400                        | 3400          | 3400          | 3400          |
| Met + Cis dig. %                   | 0,813                       | 0,813         | 0,813         | 0,813         |
| Lis dig. %                         | 1,451                       | 1,451         | 1,451         | 1,451         |
| Treo dig. %                        | 0,972                       | 0,972         | 0,972         | 0,972         |
| Val dig. %                         | 1,001                       | 1,001         | 1,001         | 1,001         |
| Trip dig. %                        | 0,276                       | 0,276         | 0,276         | 0,276         |
| Ile dig. %                         | 0,789                       | 0,789         | 0,815         | 0,815         |
| Arg dig. %                         | 1,451                       | 1,840         | 1,451         | 1,840         |
| Leu dig. %                         | 1,583                       | 1,583         | 0,815         | 0,815         |
| Cálcio %                           | 1,068                       | 1,068         | 1,068         | 1,068         |
| Fósforo disp. %                    | 0,528                       | 0,528         | 0,528         | 0,528         |
| Cloro %                            | 0,250                       | 0,250         | 0,250         | 0,250         |
| Potássio %                         | 0,798                       | 0,798         | 0,826         | 0,826         |
| Relação aminocídica calculada      |                             |               |               |               |
| Lis dig. %                         | 100,00                      | 100,00        | 100,00        | 100,00        |
| Met + Cis dig. %                   | 56,00                       | 56,00         | 56,00         | 56,00         |
| Treo dig. %                        | 66,98                       | 66,98         | 66,98         | 66,98         |
| Trip dig. %                        | 19,02                       | 19,02         | 19,02         | 19,02         |
| Arg dig. %                         | <b>100,00</b>               | <b>126,80</b> | <b>100,00</b> | <b>126,80</b> |
| Val dig. %                         | 68,98                       | 68,98         | 68,98         | 68,98         |
| Ile dig. %                         | 54,37                       | 54,37         | 56,16         | 56,16         |
| Leu dig. %                         | 109,09                      | 109,09        | 56,16         | 56,16         |

<sup>1</sup>Suplemento mineral: Iodo – 140 µg; Selênio – 300 µg; Manganês – 10 mg; Zinco – 100 mg; Cobre – 10 mg; Ferro – 99 mg. <sup>2</sup>Suplemento Vitamínico: Vit. A – 4.000 U.I.; Vit. D3 – 220 U.I.; Vit. E – 22 mg; Vit. K – 0,5 mg; Vit B2 – 3,75 mg; Vit. B12 – 20 mcg; Pantotenato de cálcio – 12 mg; Niacina – 20 mg; Colina. <sup>3</sup>Areia lavada.

**Tabela 2** – Composição centesimal e nutricional das dietas para leitões na fase II, dos 32 aos 43 dias.

| Composição                         | Fase I dos 21-32 dias/5-9kg |               |               |               |
|------------------------------------|-----------------------------|---------------|---------------|---------------|
|                                    | Dietas Experimentais        |               |               |               |
|                                    | DS                          | DSA           | DL            | DLA           |
| Milho Grão 8,8%                    | 60,000                      | 60,000        | 60,000        | 60,000        |
| F. de Soja, 45%                    | 29,730                      | 29,730        | 26,306        | 26,306        |
| Óleo de soja                       | 4,224                       | 4,224         | 1,424         | 1,424         |
| Leite pó integral                  | -                           | -             | <b>7,000</b>  | <b>7,000</b>  |
| Fosfato Bicálcico                  | 2,164                       | 2,164         | 1,973         | 1,973         |
| Calcário Calcítico                 | 0,841                       | 0,841         | 0,818         | 0,818         |
| L-Arginina                         | 0,194                       | <b>0,600</b>  | 0,248         | <b>0,600</b>  |
| L-Lisina                           | 0,608                       | 0,608         | 0,556         | 0,556         |
| DL-Metionina                       | 0,215                       | 0,215         | 0,199         | 0,199         |
| L-Treonina                         | 0,311                       | 0,311         | 0,287         | 0,287         |
| L-Triptofano                       | 0,060                       | 0,060         | 0,059         | 0,055         |
| L-valina                           | 0,136                       | 0,136         | 0,101         | 0,101         |
| Suplemento mineral <sup>1</sup>    | 0,150                       | 0,150         | 0,150         | 0,150         |
| Suplemento vitamínico <sup>2</sup> | 0,250                       | 0,250         | 0,250         | 0,250         |
| Sal Comum                          | 0,235                       | 0,235         | 0,154         | 0,154         |
| BHT                                | 0,020                       | 0,020         | 0,020         | 0,020         |
| Inerte <sup>3</sup>                | 0,852                       | 0,447         | 0,020         | 0,097         |
| Total (Kg)                         | 100,00                      | 100,00        | 100,00        | 100,00        |
| Composição química calculada       |                             |               |               |               |
| Proteína bruta %                   | 19,870                      | 19,870        | 19,870        | 19,870        |
| Energia met. kcal/kg               | 3375                        | 3375          | 3375          | 3,375         |
| Met + Cis dig. %                   | 0,754                       | 0,754         | 0,754         | 0,754         |
| Lis dig. %                         | 1,346                       | 1,346         | 1,346         | 1,346         |
| Treo dig. %                        | 0,902                       | 0,902         | 0,902         | 0,902         |
| Val dig. %                         | 0,929                       | 0,929         | 0,929         | 0,929         |
| Trip dig. %                        | 0,256                       | 0,256         | 0,256         | 0,256         |
| Ile dig. %                         | 0,721                       | 0,721         | 0,739         | 0,739         |
| Arg dig. %                         | 1,346                       | 1,723         | 1,346         | 1,723         |
| Leu dig. %                         | 1,497                       | 1,497         | 1,556         | 1,556         |
| Cálcio %                           | 0,973                       | 0,973         | 0,973         | 0,973         |
| Fósforo disp. %                    | 0,481                       | 0,481         | 0,481         | 0,481         |
| Cloro %                            | 0,209                       | 0,209         | 0,209         | 0,209         |
| Potássio %                         | 0,736                       | 0,736         | 0,755         | 0,755         |
| Relação aminocídica calculada      |                             |               |               |               |
| Lis dig. %                         | 100,00                      | 100,00        | 100,00        | 100,00        |
| Met + Cis dig. %                   | 56,00                       | 56,00         | 56,00         | 56,00         |
| Treo dig. %                        | 67,01                       | 66,98         | 66,98         | 66,98         |
| Trip dig. %                        | 19,01                       | 19,02         | 19,02         | 19,02         |
| Arg dig. %                         | <b>100,00</b>               | <b>128,00</b> | <b>100,00</b> | <b>128,00</b> |
| Val dig. %                         | 69,01                       | 68,98         | 68,98         | 68,98         |
| Ile dig. %                         | 53,56                       | 54,37         | 54,90         | 56,16         |
| Leu dig. %                         | 111,21                      | 109,09        | 115,60        | 56,16         |

<sup>1</sup>Suplemento mineral: Iodo – 140 µg; Selênio – 300 µg; Manganês – 10 mg; Zinco – 100 mg; Cobre – 10 mg; Ferro – 99 mg. <sup>2</sup>Suplemento Vitamínico: Vit. A – 4.000 U.I.; Vit. D3 – 220 U.I.; Vit. E – 22 mg; Vit. K – 0,5 mg; Vit B2 – 3,75 mg; Vit. B12 – 20 mcg; Pantotenato de cálcio – 12 mg; Niacina – 20 mg; Colina. <sup>3</sup>Areia lavada

### **3.3 Desempenho Zootécnico**

Para avaliação do desempenho produtivo, os animais foram pesados no início e final de cada fase, bem como as sobras de ração, obtendo-se o consumo diário de ração (CDR), o ganho diário de peso (GDP) e conversão alimentar (CA). Os resultados de desempenho foram analisados nos seguintes períodos: 1 – dos 21 aos 33 dias de idade; 2 – dos 21 aos 43 dias de idade e 3 – dos 21 aos 63 dias de idade.

### **3.4 Incidência de diarreia**

Com o objetivo de verificar a influência das dietas experimentais sobre a incidência de diarreia, foi realizado o levantamento dos escores fecais dos leitões duas vezes ao dia, nos primeiros 19 dias do período experimental. A consistência das fezes foi realizada mediante análise visual, às 8h00 e às 17h00, sempre pelo mesmo observador e de acordo com os seguintes escores: 1 – fezes normais, 2 – fezes pastosas e 3 – fezes aquosas. Os escores 1 e 2 foram considerados fezes não diarreicas e o 3 diarreicas.

### **3.5 Curva glicêmica**

Para mensuração da curva glicêmica dos animais no início da fase II (33 aos 42 dias de idade) aos 37 dias de idade dos animais foi realizada a glicemia dos mesmos. Para tanto no dia anterior foi ofertada ração até as 19h00 para promover jejum de 12 horas dos animais. De cada parcela experimental foi escolhido de forma aleatória um animal e deste coletado o sangue da região da orelha através pique e usando glicosímetro digital, com fita codificada foi mensurada a concentração de glicose (mg/dl), nos seguintes tempos: tempo zero (após 12 horas de jejum de sólidos) 45, 90, 135 e 180 minutos após o arraçoamento.

### **3.6 Abate dos Animais**

Aos 43 dias de vida, ao término da fase II, foram abatidos 16 animais, sendo quatro animais de cada tratamento e um animal de cada parcela. Os animais foram selecionados de acordo como peso vivo, que correspondia ao peso médio mais próximo da parcela. No abate, procedeu-se obedecendo os padrões de abate humanitário e as recomendações sugeridos pelo CONCEA, para tanto os animais foram insensibilizados por eletronarcose, para posterior sangria. Após a sangria foi realizado a abertura da região abdominal para retirada das vísceras e do material a ser coletado, com o auxílio de pinças e bisturi. Foram coletadas amostras de

duodeno, jejuno e fragmento de fígado que foram imediatamente imersos em solução de Metacarn. Foi realizado pesagem do fígado, pâncreas e baço.

### **3.7 Avaliação do glicogênio hepático**

Para avaliação do glicogênio hepático foram colhidas amostras de, aproximadamente, 1 cm<sup>3</sup> do fígado. A fixação realizada em solução de Metacarn durante um período de doze horas, e mantidos refrigerados. Em seguida, as amostras foram embebidas em solução de álcool à 70%. As amostras foram conduzidas ao Laboratório de Histologia do Centro de Ciências Agrárias (CCA) / UFPB, Campus II na cidade de Areia/UFPB, para confecção das lâminas histológicas.

Para a avaliação do glicogênio hepático a coloração utilizada foi periódico ácido shiff (P.A.S). As leituras das lâminas histológicas, foi utilizado microscópio de luz modelo Olympus BX53 e câmera Zeiss Axion, acoplada com programa de captura de imagens digitais Cellsens Dimension. Todas as leituras ocorreram em objetivas de 40x pelo mesmo avaliador.

Para mensuração do escore de glicogênio hepático utilizou-se 7 fotomicrografias para cada animal, totalizando um número amostral de 28 (4 animais x 7 fotomicrografias) para cada tratamento, as quais foram analisadas atribuindo um escore para o grau de depósito de glicogênio. A coloração PAS cora de magenta glicoproteínas, no caso o glicogênio. Neste caso a intensidade da coloração magenta, ou seja, a positividade à coloração é proporcional ao depósito de glicogênio. Os escores foram definidos considerando a intensidade e quantidade da coloração magenta na coloração de PAS, sendo: 0 (ausência de positividade), 1 (pouca positividade), 2 (positividade moderada) e 3 (positividade intensa), seguindo de forma modificada a metodologia do escore semi quantitativo de Ishak (ISHAK et al., 1995).

### **3.8 Morfometria intestinal**

Para estudo da estrutura do intestino delgado, foram colhidas amostras ( $\pm$  3 cm) do duodeno e porção média do jejuno acondicionadas em solução de Metacarn. As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Histologia do Departamento de Ciências Veterinária do Centro de Ciências Agrárias, Campus de Areia/UFPB, para confecção das lâminas, onde foram realizadas as análises morfométricas do epitélio intestinal por microscopia de luz. Para confecção das lâminas, as amostras permaneceram em solução de Metacarn por 12 horas. Após este período, foram lavadas em água corrente e álcool etílico 70% para retirada do fixador e posteriormente, desidratadas em séries crescentes de alcoóis, 70 a 100%,

diafanizadas em xilol e incluídas em parafina. A microtomia das mesmas foi realizada à espessura de 5µm, sendo realizados 8 cortes semi-seriados para cada segmento de cada animal. Para as leituras das lâminas histológicas, foi utilizado microscópio de luz modelo Olympus BX41, acoplado a um sistema para captura de imagens Olympus DP11-N e sistema analisador de imagens por meio do programa Image Pro-Plus® 4.1.

Para avaliar a altura das vilosidades (AV), profundidade das criptas (PC), relação vilo/cripta (AV/PC), espessura de mucosa (EM), largura de vilo (LV) e índice de células caliciformes (CC) foi realizada a metodologia modificada descrita por Moreira Filho et al. (2015). A área absortiva (AA) foi determinada segundo metodologia descrita por Silva (2015).

### **3.9 Imunohistoquímica para anti-Caspase-3 e anti-PCNA**

A confecção das lâminas histológicas seguiu o mesmo procedimento daquelas utilizadas na análise de morfometria intestinal. Para a determinação da taxa de apoptose nas vilosidades da mucosa da porção inicial do duodeno e média do jejuno foi utilizado o anticorpo primário Caspase-3 (Abcam®). Já para a determinação da taxa de mitose nas criptas da mucosa da porção inicial do duodeno e média do jejuno foi utilizado o anticorpo primário Anti-PCNA (Abcam®). O protocolo utilizado para a detecção de morte celular e revelação de Proteína Nuclear de Proliferação Celular (PCNA) foi baseado na técnica de imunohistoquímica, descrito por Luna et al., (2014).

Após a desparafinização das lâminas, em baterias de xilol e álcool, foi realizado o bloqueio da peroxidase endógena com três banhos, de dez minutos cada, de solução de peróxido de hidrogênio. A recuperação antigênica foi realizada com solução de tampão citrato (pH 6,0) em micro-ondas durante dez minutos, seguido de um tempo de vinte minutos para redução da temperatura.

A seguir foi realizado o bloqueio das proteínas endógenas, com incubação das lâminas em Protein Block (DAKO), durante trinta minutos. Na etapa seguinte, as lâminas foram incubadas a 4°C (*Overnight*), com anticorpo primário Caspase-3 (Abcam®) diluído em solução de tampão fosfato - PBS (1:100) para detecção da apoptose celular; e com anticorpo primário contra PCNA (Abcam®) diluído em solução de tampão fosfato - PBS (1:100) para revelação da taxa de mitose nas células.

No dia seguinte, foi colocado nas lâminas o anticorpo secundário biotina durante quinze minutos, com posterior incubação em complexo conjugado de Streptavidina-peroxidase (DAKO-LSAB) por trinta minutos. Logo após, foi usado o cromógeno (DAB-DAKO) durante cinco minutos como cromógeno para revelação da reação. A coloração dos cortes foi realizada com hematoxilina.

Entre as etapas foram realizadas três lavagens, de três minutos cada, com solução de PBS (pH 7,4). Ao fim, as lâminas foram desidratadas em séries crescentes de álcool, diafanizadas com xilol e montadas. As leituras das lâminas foram realizadas em microscópio de luz modelo Olympus BX53 e câmera Zeiss Axion, acoplada com programa de captura de imagens digitais Cellsens Dimension.

Para avaliação da taxa de mitose nas células da porção inicial do duodeno e média do jejuno foram analisadas as criptas realizando medidas de maneira aleatória, perfazendo 10.000  $\mu$ m linear de epitélio por tratamento. Tais epitélios foram quantificados quanto ao número de núcleos anti-PCNA+. Todas as leituras ocorreram em objetivas de 40x pelo mesmo avaliador.

As taxas de apoptose nas células da porção inicial do duodeno e média do jejuno foram avaliadas pela positividade citoplasmática ao anticorpo, utilizando 6 fotomicrografias para cada animal, totalizando um número amostral de 26 (4 animais x 6 fotomicrografias) para cada tratamento. Dessa maneira, foi atribuído escores de positividade para cada fotomicrografia, sendo: 0 (ausência de positividade -), 1 (pouca positividade +), 2 (positividade moderada ++) e 3 (positividade intensa +++), seguindo de forma modificada a metodologia do Escore Semi Quantitativo de Ishak (ISHAK et al., 1995). Todas as leituras ocorreram em objetivas de 40x pelo mesmo avaliador.

### **3.10 Parâmetros sérico sanguíneos**

Antes do abate dos animais foram colhidas amostras de sangue da veia jugular. As amostras coletadas em tubos sem anticoagulantes, imediatamente após a coleta, foram centrifugadas a 958 xg por 10 minutos e o soro obtido foi transferido para microtubos (eppendorf) e resfriado para posterior processamento das análises bioquímicas séricas.

O soro foi processado no Laboratório de Cromatografia e Espectrometria de Absorção Atômica do programa de Pós-Graduação em Tecnologia Agroalimentar- PPGTA no Campus-III da UFPB em Bananeiras-PB. A determinação das concentrações séricas de IgA, IgG, GGT, AST, creatinina, ureia e proteínas totais, foram realizadas em espectrofotômetro utilizados kits comerciais LABTEST<sup>®</sup> seguindo o procedimento determinado pelo fabricante.

Os kits LABTEST® utilizados foram respectivamente: IgA TURBIQUEST (Ref.: 358), IgG TURBIQUEST (Ref.: 359), GAMA GT LIQUIFORM (Ref.: 105), AST/GOT LIQUIFORM (Ref.: 109), CREATININE K (Ref.: 96), UREIA UV LIQUIFORM (Ref.: 104), PROTEINAS TOTAIS (Ref.:99).

### 3.11 Viabilidade econômica

Para verificar a viabilidade econômica da suplementação de L-arginina nas rações de contendo ou não produto lácteo para leitões na fase de creche, foram utilizados os preços dos ingredientes descritos na Tabela 3. Os preços dos ingredientes foram os praticados da Região Nordeste ao decorrer do período experimental.

**Tabela 3 – Preços dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais.**

| <b>Ingredientes</b> | <b>R\$/kg</b> | <b>Ingredientes</b> | <b>R\$/kg</b> |
|---------------------|---------------|---------------------|---------------|
| Milho grão 8,8%     | 0,73          | L-Arginina          | 41,14         |
| Farelo de Soja, 45% | 1,78          | L-Lisina            | 6,00          |
| Óleo de soja        | 3,78          | DL-Metionina        | 11,00         |
| Leite pó integral   | 14,45         | L-Treonina          | 14,28         |
| Calcário Calcítico  | 0,38          | L-Triptofano        | 30,60         |
| Fosfato bicálcico   | 4,00          | L-valina            | 7,00          |
| Sal comum           | 0,34          | BHT                 | 18,09         |

Alguns ingredientes tiveram preços cotados em dólar (US\$) e convertidos para real (R\$), estando sujeitos a flutuações do câmbio. Os custos com grãos estão sensivelmente sujeitos a variação de preços. Os suplementos mineral e vitamínico que integram as dietas na proporção de 0,4 % não interferem nesse caso na comparação dos índices de viabilidade econômica.

Para os cálculos de viabilidade econômica das dietas experimentais foram determinados os seguintes índices:

O custo médio em ração por quilograma de peso vivo ( $Y_i$ ) durante o período experimental, utilizou-se a equação descrita por Bellaver et al., (1985).

$$Y_i = \frac{Q_i \times P_i}{G_i}$$

Em que:

$Y_i$  = Custo médio em ração por quilograma ganho no i-ésimo tratamento;

$P_i$  = Preço médio por quilograma da ração utilizada no i-ésimo tratamento;

$Q_i$  = Quantidade por quilograma da ração utilizada no i-ésimo tratamento;

$G_i$  = ganho médio de peso do i-ésimo tratamento.

O índice de eficiência econômica (IEE) e o índice de custo médio (IC) utilizaremos o modelo adaptado Barbosa et al. (1992).

$$IEE = \frac{M_{Ce}}{C_{Tei}} \times 100 \quad \text{e} \quad IC = \frac{C_{Tei}}{M_{Ce}} \times 100$$

Em que:

Mce = Menor Yi entre os tratamentos;

CTei = O Yi no tratamento considerado.

A percentagem de leitões entregues foi calculada após a pesagem dos animais ao final do experimento. Os leitões que não atingiram no mínimo 18 kg foram recusados e considerados como não entregues conforme descrito por Cristani (2008).

### **3.12 Análise Estatística**

Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) por meio do procedimento GLM (General Linear Models) no programa estatístico SAS (SAS University 2018) e as médias foram comparadas pelo teste de Student-Newman-Keuls (SNK) com 5% de probabilidade. A normalidade dos erros foi testada pelo teste de Cramer-von Misses, de acordo com Everitt (1998). Para a avaliação da incidência de diarreia foi utilizada a estatística não paramétrica, sendo as médias comparadas pelo teste de Cochran-Mantel-Haenszel.

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1. Desempenho Zootécnico**

A suplementação de 0,6% de L -arginina aumentou o ganho de peso e o peso final aos 32 dias ( $P < 0,05$ ), independentemente da dieta conter ou não o produto lácteo. No período II (dos 21 aos 42 dias), a dieta sem produto lácteo (DS) diferiu das demais ( $P < 0,05$ ), apresentando pior conversão alimentar. Quanto ao efeito residual das dietas, não foi observado diferença ( $P < 0,05$ ) nas variáveis de desempenho no período III, dos 21 aos 63 dias (Tabela 4).

**Tabela 4.** Efeito da suplementação de L-arginina em dietas contendo ou não produto lácteo para leitões desmamados sobre o consumo diário de ração (CDR) ganho diário peso (GDP), conversão alimentar (CA) e Peso aos períodos 32, 42 e 63 dias de idade.

|                            | Dietas Experimentais |        |        |         | EPM   | P     |
|----------------------------|----------------------|--------|--------|---------|-------|-------|
|                            | DS                   | DSA    | DL     | DLA     |       |       |
| Período I (21 a 32 dias)   |                      |        |        |         |       |       |
| CDR (kg)                   | 0,256                | 0,294  | 0,261  | 0,286   | 0,031 | 0,311 |
| GDP (kg)                   | 0,089b               | 0,195a | 0,133b | 0,155ab | 0,046 | 0,057 |
| CA                         | 3,181                | 1,589  | 2,133  | 1,947   | 0,768 | 0,078 |
| Peso Final (kg)            | 5,957b               | 7,226a | 6,498b | 6,725ab | 0,518 | 0,042 |
| Período II (21 a 42 dias)  |                      |        |        |         |       |       |
| CDR (kg)                   | 0,247                | 0,294  | 0,291  | 0,287   | 0,036 | 0,300 |
| GDP (kg)                   | 0,124                | 0,174  | 0,184  | 0,178   | 0,041 | 0,216 |
| CA                         | 2,351a               | 1,774b | 1,641b | 1,670b  | 0,329 | 0,043 |
| Peso Final (kg)            | 7,574                | 8,732  | 8,895  | 8,749   | 0,843 | 0,843 |
| Período III (21 a 63 dias) |                      |        |        |         |       |       |
| CDR (kg)                   | 0,568                | 0,566  | 0,601  | 0,631   | 0,062 | 0,434 |
| GDP (kg)                   | 0,322                | 0,330  | 0,374  | 0,356   | 0,054 | 0,535 |
| CA                         | 1,812                | 1,785  | 1,648  | 1,789   | 0,196 | 0,642 |
| Peso Final (kg)            | 18,275               | 18,825 | 20,825 | 20,138  | 2,500 | 0,488 |

Médias comparadas pelo teste SNK a 5% de significância. EPM – Erro padrão da média. DS - dieta composta principalmente a base de milho e farelo de soja sem produto lácteo – dieta composta principalmente a base de milho e farelo de soja sem produto lácteo; DSA – dieta composta principalmente a base de milho e f. de soja sem produto lácteo suplementada com 0,6% de L-arginina; DL - dieta composta principalmente por milho e f. de soja contendo leite em pó integral; DLA – dieta composta principalmente por milho e f. de soja contendo leite em pó integral suplementada com 0,6% de L-arginina.

O sistema digestório dos leitões ainda não é adaptado a digerir dietas completamente vegetais, pois, desde o nascimento até o desmame (entre 21 e 28 dias) o seu perfil enzimático caracteriza-se por ser adaptado a digestão dos componentes do leite. Nesse estudo pode-se observar o efeito negativo ao desempenho de leitões, quando administrado dietas simples a base de milho e farelo soja, principalmente nos primeiros dias após o desmame (Período de 21 a 32 dias). Além disso, ingredientes de origem vegetais apresentam muitas vezes na sua composição fatores antinutricionais, também denominado de metabólitos secundários, que podem interferir na digestibilidade e disponibilidade biológica de nutrientes além de possíveis irritações, efeitos alergênicos e de toxicidade a um sistema digestório ainda em desenvolvimento (GEMED e RATTÀ, 2014; BENEVIDES et al., 2011). Em contrapartida, dietas lácteas apresentam melhores características digestivas para leitões recém desmamados, uma vez que os primeiros dias após o desmame são mais impactantes na vida do leitão.

Nesse estudo a dieta DSA, a base de milho e farelo de soja com suplementação de 0,6% de L-arginina (com 26,8 e 28% acima da exigência nas fases I e II respectivamente, Tabela 2), teve GDP e peso final no período I superior aos animais da dieta DL. A conversão alimentar no período II não diferiu ( $P < 0,05$ ) do grupo que receberam as dietas DL e DLA, indicando ser uma alternativa a inclusão de produto lácteo nesta fase.

As proteínas podem ser catabolizadas quando as células necessitam de um determinado aminoácido para manutenção da homeostase, sendo o desmame caracterizado por expressão aumentada para catabolismo proteico (YANG, 2016). Estudos apontam aumento na expressão de transportadores de arginina (genes de CAT-1, CAT-2 e CAT-3) no intestino de ratos e no segmento do jejuno de leitões a medida que há intensificação de injúrias a saúde animal (ZHENG et al., 2017; PAN et al., 2004). O aumento na demanda da arginina nessa fase, por ocasião do estresse ao desmame, resulta em um aumento também na síntese de novo pelo eixo intestino-renal, tornando limitada sua síntese endógena. Nessas condições, propõe-se que esse aminoácido assuma um papel de limitante, exercendo ação regulatória na síntese de proteína e a suplementação de 0,6% tenha diminuído o catabolismo aumentando a síntese de proteínas no músculo esquelético.

Os resultados dessa pesquisa corroboram os de Yao et al. (2011), que suplementando 1% de L-arginina a leitões desmamados aos 21 dias, obtiveram um acréscimo no peso vivo e ganho diário de peso de 9% e 56% respectivamente. He et al. (2011), também fizeram observações e constataram incremento de 5,6% de no ganho médio diário de leitões desmamados aos 21 quando suplementados a 1% de arginina.

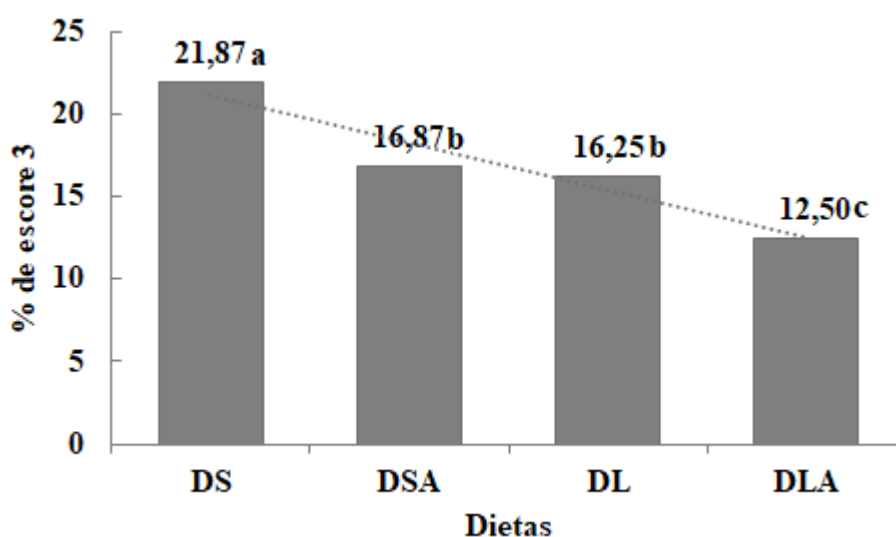
Silva (2015) não observou diferença ( $P < 0,05$ ) no desempenho de leitões desmamados aos 28 dias suplementou com 1% de arginina em relação ao grupo não suplementado. Bergerine et al. (2017) relataram que o nível de arginina em uma dieta de leitões deve ser escolhido cuidadosamente para evitar possíveis efeitos negativos, e que em seu estudo com suplementação de 1% de arginina a leitões desmamados aos 20 dias, não observaram melhoria no desempenho produtivo.

O efeito da suplementação dietética de arginina sobre o desempenho de leitões desmamados ainda é controverso na literatura. Porém ao que parece, o efeito benéfico da arginina é melhor expressado quanto o desafio imunológico imposto ao animal for pronunciado, a exemplo dos estudos de Liu et al. (2008), Han et al. (2009) e Zheng et al. (2013) que ao desafiar com lipopolissacarídio, imunossuprimir com ciclofosfamida e injetar

diquat (estresse oxidativo induzido) respectivamente, obtiveram atenuação na queda de desempenho produtivo quando suplementado com arginina.

#### 4.2 Incidência de diarreia

Para os animais alimentados com as dietas DSA e DL houve redução na incidência de diarreia em relação aos animais que receberam a dieta DS ( $P<0,05$ ). Os leitões que consumiram a dieta DLA, apresentou a menor incidência de diarreia (Figura 1).



**Figura 1.** Incidência de diarreia de leitões alimentados com dietas suplementadas com L-arginina contendo ou não produto lácteo. Média comparadas pelo teste de significância Cochran-Mantel-Haenszel. DS – dieta composta principalmente a base de milho e farelo de soja sem produto lácteo; DSA – dieta composta principalmente a base de milho e f. de soja sem produto lácteo suplementada com 0,6% de L-arginina; DL - dieta composta principalmente por milho e f. de soja contendo leite em pó integral; DLA – dieta composta principalmente por milho e f. de soja contendo leite em pó integral suplementada com 0,6% de L-arginina;

Leitões desmamados são comumente acometidos de diarreia durante as primeiras semanas, em consequência principalmente de disfunções gastrointestinais (YANG, 2016). Nessas condições o uso de produtos lácteos, como o leite em pó, destaca-se pelas suas qualidades nutricionais com suas frações de proteína (lactoalbumina), lactose e gorduras. Além de excelente fonte energética, a lactose contribui também para redução do pH estomacal, facilitando a digestão de proteínas devido à produção de ácido láctico (KUMMER et al., 2009). Tal fato pode justificar a menor incidência de diarreia nas dietas contendo leite em pó.

Ao mesmo tempo, a dieta DSA não diferiu da DL ( $P<0,05$ ) indicando um efeito positivo da suplementação de 0,6% de L-arginina em dietas de base vegetal tal qual o uso do

leite em pó, sobre a redução da diarreia. Esse efeito benéfico parece ter sido potencializado ainda mais com o uso dos dois ingredientes.

Disfunção microvascular endotelial é um fator importante que contribui para a absorção prejudicada e transporte de nutrientes nas ultraestruturas intestinais, culminando no aumento de diarreia. Segundo Yao et al. (2011), a prolina, metabólito da arginina, é uma molécula componente chave de colágeno da matriz extracelular que é crucial para a angiogênese e a remodelação vascular. Os autores relatam aumento de proteína para fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) de 14 e 39% no duodeno e jejuno respectivamente, quando leitões desmamados aos 21 dias receberam suplementação dietética de 1% de arginina em relação a dieta controle. Nesse estudo Yao et al. (2011) não observaram diferença ( $P>0,05$ ) na incidência de diarreia.

Por outro lado, a proliferação de patógenos que possam se aderir à mucosa intestinal e desencadear algum processo inflamatório, pode vir a lesionar assim o epitélio e danificar a capacidade absorptiva de nutrientes e também causar diarreia. Wu et al. (2009), afirma que a arginina pode atenuar esse efeito pela aptidão de modulação imunológica, devido ao seu papel de substrato para o sistema imune e He et al. (2009), relataram em seu estudo que o tratamento com arginina diminuiu as concentrações séricas de metabólitos microbianos intestinais (formato, etanol, ácidos graxos de cadeias curtas, dimetilamina, trimetilamina). Em seguida, Viana et al. (2010), observando os efeitos da arginina na translocação bacteriana no intestino dos camundongos suplementados, concluiu que esse aminoácido é capaz de preservar a integridade intestinal e prevenir essa translocação

Em tese, as células Macrófagos M1, que atuam na defesa contra invasores microbianos e produzem citocinas pró-inflamatórias, são induzidas por produtos microbianos a ativação da enzima óxido nítrico sintase individual (NOS2) que por sua vez usa NADPH e oxigênio para agir sobre a L-arginina e produzir grandes quantidades de óxido nítrico (monóxido de nitrogênio, NO). O óxido nítrico se liga a enzimas que contêm metais, como a ribonucleotídeo redutase e impede a síntese de DNA e proliferação microbiana permitindo a destruição de bactérias, fungos, protozoários, alguns helmintos e células tumorais de maneira bastante eficiente (TIZAR, 2009). Han et al. (2009), afirma que o óxido nítrico por sua vez, pode matar microrganismos e reduzir, portanto, o seu número de metabólitos, como observado em seu estudo, e a arginina teria efeito análogo ao de antibióticos.

### 4.3 Peso de órgãos

As dietas experimentais influenciaram o peso relativo do baço, onde o maior valor observado foi para os animais que receberam a dieta predominantemente vegetal suplementada com 0,6% de L-arginina (DSA), diferindo do grupo que recebeu a dieta DLA ( $P<0,05$ ). Porém, quanto ao peso relativo de intestino, fígado e pâncreas, não foi observado diferença ( $P<0,05$ ).

**Tabela 5.** Efeito da suplementação de L-arginina em dietas contendo ou não produto lácteo para leitões desmamados sobre o peso relativo de intestino, fígado, baço e pâncreas.

|                  | Dietas Experimentais |        |         |        | EPM   | P     |
|------------------|----------------------|--------|---------|--------|-------|-------|
|                  | DS                   | DSA    | DL      | DLA    |       |       |
|                  | Peso Relativo (%)    |        |         |        |       |       |
| <b>Intestino</b> | 5,141                | 6,990  | 6,409   | 5,727  | 1,047 | 0,139 |
| <b>Fígado</b>    | 0,973                | 1,300  | 1,181   | 1,113  | 0,253 | 0,377 |
| <b>Baço</b>      | 0,063ab              | 0,077a | 0,054ab | 0,046b | 0,011 | 0,026 |
| <b>Pâncreas</b>  | 0,086                | 0,097  | 0,113   | 0,083  | 0,024 | 0,345 |

Médias comparadas pelo teste SNK a 5% de significância. EPM – Erro padrão da média. DS – dieta composta principalmente a base de milho e farelo de soja sem produto lácteo; DSA – dieta composta principalmente a base de milho e f. de soja sem produto lácteo suplementada com 0,6% de L-arginina; DL - dieta composta principalmente por milho e f. de soja contendo leite em pó integral; DLA – dieta composta principalmente por milho e f. de soja contendo leite em pó integral suplementada com 0,6% de L-arginina;

Nessas condições, os animais que receberam a dieta DSA apresentaram maior peso relativo de baço, diferindo da dieta DLA, ambas suplementadas com 0,6% de arginina. As dietas sem a suplementação de arginina (DS, DL), não diferiram entre si ( $P<0,05$ ). Yao et. al. (2011) verificou aumento de 33% no peso relativo de intestino de leitões suplementados a 1% de arginina na dieta em comparação ao grupo controle e nenhuma diferença significativa para o baço. Os autores obtiveram peso dos órgãos ao decorrer de um período experimental de 7 dias, quando os animais são mais sensíveis a alterações nas dietas, o que pode ter justificado essa diferença.

O baço é um órgão linfoide associado ao sistema circulatório e imune, atuando no processo de filtragem do sangue removendo partícula antigênicas e microbiana. A polpa vermelha é responsável pelo processo de filtragem sanguínea e tem um grande número de células apresentadora de antígenos, já a polpa branca é rica em linfócitos T e B. Esse órgão atua também como local de estocagem de hemácias, de forma que seu tamanho pode variar em um mesmo estágio de vida em indivíduos de mesma espécie (FRANDSON et al. 2010; TIZARD et al. 2014). O aumento desse órgão pode estar também associado a um estado

imunológico do animal por aumento capilar sanguíneo e maior exposição do sangue a população de células imunitárias, linfócitos T e B. Tan et al. (2009), pesquisando estado imunitário de leitões desmamados precocemente, observou alterações no peso de baço com aumento em animais suplementados com 0,2 e 0,8 de arginina em relação aos não suplementados.

Os animais que receberam a dieta DSA apresentou maior peso relativo de baço o que pode estar associado com o melhor desenvolvimento vascular e a capacidade vasodilatadora da arginina mencionado por Yao et. al. (2011) e de modulação imune conforme Wu et al. (2009).

#### 4.4 Curva glicêmica

Foi observado diferença significativa entre as médias glicêmicas em função das dietas experimentais ( $P < 0,05$ ). A dieta DSA diferiu da DL enquanto as dietas DS e DLA não apresentaram diferença entre si, conforme a Tabela 7.

**Tabela 6.** Efeito da suplementação de L-arginina em dietas contendo ou não produto lácteo para leitões desmamados sobre a concentração de glicose no sangue (mg/dl) em relação aos tempos de coleta.

| Dietas       | Tempos (min) |       |       |        |        | Média   |
|--------------|--------------|-------|-------|--------|--------|---------|
|              | 0            | 45    | 90    | 135    | 180    |         |
| <b>DS</b>    | 72,50        | 85,00 | 98,75 | 91,00  | 89,25  | 87,35ab |
| <b>DAS</b>   | 78,75        | 76,75 | 82,50 | 85,00  | 84,50  | 81,50b  |
| <b>DL</b>    | 90,25        | 88,25 | 93,00 | 116,70 | 120,50 | 101,75a |
| <b>DLA</b>   | 79,25        | 94,75 | 95,50 | 94,25  | 93,25  | 91,40ab |
| <b>Média</b> | 80,25        | 86,18 | 92,43 | 96,75  | 96,87  |         |

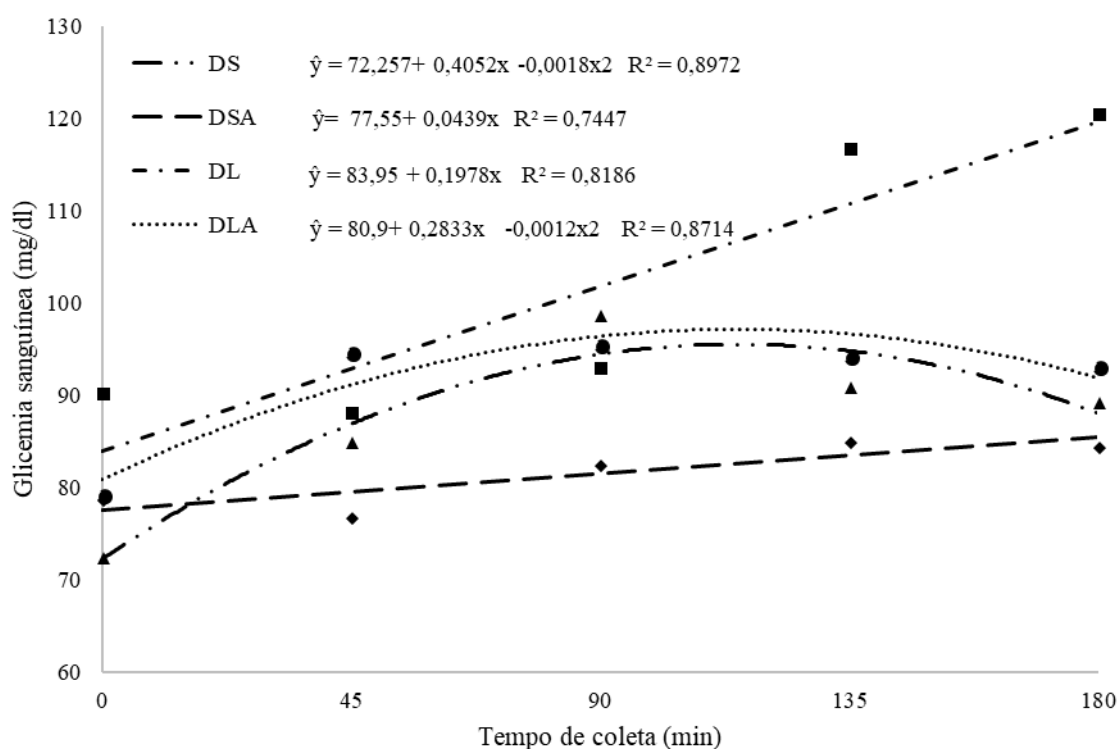
Na coluna dietas ( $P$  valor = 0,03), na linha os tempos ( $P$  valor = 0,13), dietas x tempo ( $P$  valor = 0,87), EPM – Erro padrão da média = 21,38. Médias comparadas pelo teste SNK a 5% de significância. DS – dieta composta principalmente a base de milho e farelo de soja sem produto lácteo; DSA – dieta composta principalmente a base de milho e f. de soja sem produto lácteo suplementada com 0,6% de L-arginina; DL - dieta composta principalmente por milho e f. de soja contendo leite em pó integral; DLA – dieta composta principalmente por milho e f. de soja contendo leite em pó integral suplementada com 0,6% de L-arginina;

A importância da concentração de glicose sanguínea se dá pelo fato de que a glicose no sangue será dirigida a todas as células para produção de energia útil ou trifosfato de adenonosina (ATP) e essa concentração sofre variações ao longo do período pós-absortivo. A

redução no consumo de energia é apontada por Lallès et al. (2004) como uma das principais causas de disfunção intestinal em leitões recém-desmamados.

Nesse estudo foi observado maior influência das dietas contendo leite em pó (DL, DLA) sobre a concentração de glicose sanguínea, apesar da dieta DLA não ter diferido da DS ( $P < 0,05$ ). Dietas completamente vegetais de leitões desmamados proporciona uma inversão de alto teor de gordura com baixo teor de carboidratos do leite para uma alta concentração de carboidratos e de baixo teor de gordura na dieta. Os carboidratos vegetais são de menor aproveitamento que os contidos no leite, parte, por consequência do perfil enzimático dos leitões ainda não adaptados a digestão destes (HERNANDEZ et al., 2009). Esse fato pode explicar os resultados observados em animais que consumiram dietas lácteas.

Analisando a curva glicêmica, a dieta vegetal com suplementação de 0,6% de L-arginina e a dieta com adição de leite em pó apresentaram comportamento crescente (DSA,  $R^2 = 0,7447$ ; DL,  $R^2 = 0,8186$ ), enquanto as demais apresentaram-se quadráticas (DS,  $R^2 = 0,7447$ ; DLA,  $R^2 = 0,8186$ ). A suplementação 0,6% de arginina, entre as dietas lácteas, influenciou o comportamento da concentração de glicose sanguínea no estado pós-absortivo (Figura 2), denotando indícios da influência do aminoácido sobre o metabolismo energético dos leitões.



**Figura 2.** Concentração de glicose sanguínea em leitões de acordo com as diferentes dietas experimentais em função do tempo de coleta.

A absorção de glicose é dependente dos transportadores de glicose acoplados a Na<sup>+</sup> (SGLT-1) na membrana apical e em concentração mais alta de glicose, do transporte de glicose facilitado por GLUT-2, que também regulam a saída basolateral da glicose. O GLUT-2 medeia o equilíbrio da concentração de glicose no intestino e quando essa concentração baixa, o GLUT-2 transfere glicose do sangue para as células epiteliais intestinais (CUNNINGHAM, 2015; Wu et al., 2015). A insulina estimula o aumento dos níveis de expressão de mRNA de transportadores de glicose (GLUT) e a maioria dos tecidos são dependentes dessa ação para aporte energético (DUTRA JÚNIOR e CANTARELLI, 2014).

A arginina é um estimulador potente da secreção de insulina pelas células  $\beta$  do pâncreas e de hormônio do crescimento pela glândula pituitária anterior em mamíferos, incluindo suínos jovens (WU et al. 1996; ZHOU et al., 2007). Nesse estudo as dietas lácteas contribuíram para o aumento dos níveis de glicose sanguínea (Tabela 9) e quando foi suplementada a 0,6% de arginina, houve maior difusão de glicose do sangue para células de tecidos alvo no estado pós-absortivo, expresso pelo comportamento quadrático da dieta DLA na Figura 2.

O presente estudo é consistente com o de Han et al. (2009) que obteve igual achado ao suplementar animais em crescimento (de 120 dias de idade) com 1% de arginina. Os autores posteriormente (Han et al., 2011), ao submeterem leitões desmamados aos 21 dias a suplementação dietética de 1 % de arginina, encontraram uma tendência similar. Complementando, Yao et al., (2011), relataram aumento dos níveis plasmáticos de insulina e da glicose circulante e afirmaram melhora na eficiência de utilização de nutrientes através de um aumento na disponibilidade de arginina e níveis plasmáticos de insulina, quando dietas suplementadas por esse aminoácido.

#### **4.5 Avaliação do glicogênio hepático**

A concentração de glicogênio hepático foi influenciada pelas dietas lácteas, diferindo ( $P < 0,05$ ) das dietas predominantemente vegetais (DS, DSA), apresentando menor índice de estoque de glicogênio hepático. Os animais que consumiram a dieta DS diferiram ( $P < 0,05$ ) dos que consumiram a dieta DSA, conforme a Tabela 7.

O glicogênio hepático serve como um reservatório de glicose para outros tecidos, sendo fonte de energia rápida para o metabolismo animal e sua disponibilidade é limitada para longos períodos de jejum.

**Tabela 7.** Índice de estoque de glicogênio hepático de leitões suplementados com L-Arginina em dietas contendo ou não produto lácteo.

| Dietas <sup>1</sup> | Escore adaptado de Ishak* |   |    |   | Média | EPM  | P      |
|---------------------|---------------------------|---|----|---|-------|------|--------|
|                     | 0                         | 1 | 2  | 3 |       |      |        |
| <b>DS</b>           | 1                         | 9 | 15 | 3 | 2,71a | 0,59 | 0,0001 |
| <b>DSA</b>          | 14                        | 9 | 5  | 0 | 1,60b |      |        |
| <b>DL</b>           | 22                        | 6 | 0  | 0 | 1,21c |      |        |
| <b>DLA</b>          | 22                        | 6 | 0  | 0 | 1,21c |      |        |

Médias comparadas pelo teste SNK a 5% de significância. EPM – Erro padrão da média. <sup>1</sup>DS – dieta composta principalmente a base de milho e farelo de soja sem produto lácteo; DSA – dieta composta principalmente a base de milho e f. de soja sem produto lácteo suplementada com 0,6% de L-arginina; DL - dieta composta principalmente por milho e f. de soja contendo leite em pó integral; DLA – dieta composta principalmente por milho e f. de soja contendo leite em pó integral suplementada com 0,6% de L-arginina;

Os mecanismos gerais de armazenamento e mobilização do glicogênio são os mesmos no músculo e no fígado, sendo o músculo mais sensível à absorção de glicose sanguínea por alterações insulinêmicas (CUNNINGHAM, 2015; NELSON e COX, 2014). Os animais que consumiram dietas lácteas apesar de terem apresentado menor índice de estocagem de glicogênio hepático, apresentaram maior concentração média de glicose sanguínea (Tabela 6) ao decorrer da curva glicêmica, em decorrência disso, alterações nos níveis de insulina possivelmente tenha proporcionado maior depósito de glicogênio no muscular do que no fígado. O menor depósito de glicogênio hepático deve-se possivelmente ao fato de que no período II, de 21 a 42 dias, os animais que consumiram dietas lácteas apresentaram maior ganho de peso e melhor conversão alimentar (Tabela 4), indicando maior mobilização de substrato energético na síntese muscular. Yao et al (2008) que afirma a insulina desempenha um papel importante na regulação de síntese proteica em leitões.

Entre as dietas totalmente vegetais, quando suplementada a 0,6% de L-arginina apresentaram menor índice de estocagem de glicogênio hepático, porém obteve melhor conversão alimentar no mesmo período ( $P < 0,05$ ). Esse fato pode ser atribuído por a arginina ser estimulante da síntese de insulina e com isso também maior mobilização de substratos energéticos para depósito muscular. Os achados nesse estudo são consistentes com os de Yao et al (2011) que ao suplementar dietas em 1% de arginina para leitões desmamados aos 21 dias observou aumento nos níveis plasmáticos de insulina, melhoria na eficiência de utilização de nutrientes para aumentar da síntese de proteína tecidual que resultou em melhor desempenho de crescimento.

#### 4.6 Morfometria Intestinal

As variáveis morfométricas como altura de vilosidade, profundidade de cripta, relação vilo:cripta e espessura de mucosa, sofreram influência das dietas experimentais ( $P < 0,05$ ) conforme Tabelas 8 e 9. No segmento duodenal, a altura das vilosidades e espessura de mucosa foram influenciadas positivamente pelas dietas contendo leite em pó. Já entre as rações sem o ingrediente, a suplementação de L-arginina atenuou o efeito deletério da dieta totalmente vegetal e proporcionou maior área absorviva. Em relação à profundidade das criptas, ainda no mesmo segmento, as dietas DSA e DL proporcionaram maior profundidade dessas estruturas respectivamente, evidenciando maior “turnover” celular. A relação vilo:cripta e largura de vilosidade aumentou ( $P < 0,05$ ) quando as dietas experimentais apresentaram em sua composição o leite em pó e a suplementação de 0,6% de L-arginina, demonstrando mais uma vez efeito sinérgico dos ingredientes, melhorando a relação.

**Tabela 8.** Efeito da suplementação de 0,6% de L-arginina em dietas contendo ou não produto lácteo para leitões desmamados sobre altura das vilosidades (AV), profundidade das criptas (PC) relação vilo:cripta (AV/PC), espessura de mucosa (EM), largura de vilo (LV), área absorviva (AA) e contagem de células caliciformes no duodeno.

|          | Dietas Experimentais |           |           |           | EPM     | P      |
|----------|----------------------|-----------|-----------|-----------|---------|--------|
|          | DS                   | DSA       | DL        | DLA       |         |        |
| Duodeno  |                      |           |           |           |         |        |
| AV (µm)  | 190,96c              | 221,79b   | 276,97a   | 271,96a   | 32,23   | 0,0001 |
| PC (µm)  | 192,18b              | 215,09a   | 216,31a   | 198,26b   | 28,81   | 0,0001 |
| AV/PC    | 1,00c                | 1,03c     | 1,28b     | 1,39a     | 0,16    | 0,0001 |
| EM (µm)  | 383,14c              | 436,89b   | 493,28a   | 470,22a   | 54,05   | 0,0001 |
| LV (µm)  | 47,60d               | 64,13c    | 78,06b    | 92,49a    | 9,48    | 0,0001 |
| AA (µm²) | 9093,50d             | 14214,70c | 21670,40b | 25176,80a | 3416,59 | 0,0001 |
| CC       | 11,10                | 11,35     | 12,80     | 11,70     | 2,54    | 0.1663 |

Médias comparadas pelo teste SNK a 5% de significância. EPM – Erro padrão da média. DS – dieta composta principalmente a base de milho e farelo de soja sem produto lácteo; DSA – dieta composta principalmente a base de milho e f. de soja sem produto lácteo suplementada com 0,6% de L-arginina; DL - dieta composta principalmente por milho e f. de soja contendo leite em pó integral; DLA – dieta composta principalmente por milho e f. de soja contendo leite em pó integral suplementada com 0,6% de L-arginina;

Já na região jejunal ocorreu menor altura de vilosidade com a dieta DSA e esta não diferiu da DLA, também suplementada com arginina ( $P < 0,05$ ). Entretanto, a medida que a dieta DS exibiu maior altura de vilo, teve também maior profundidade de cripta e menor relação vilo:cripta ( $< 1$ ).

A dieta DLA proporcionou maior relação vilo:cripta, maior largura de vilo e maior área absorviva. As dietas não influenciaram o número de células caliciformes do duodeno e jejuno ( $P < 0,05$ ). Esse grupo de células intestinais têm função de secretar mucinas, glicoproteínas composta de mucopolissacarídeos neutros e ácidos, que recobre o epitélio formando uma barreira físico e química protegendo contra possíveis injúrias ocasionadas, em parte, pela dieta (RODRIGUES et al., 2016).

Em várias espécies animais, as vilosidades intestinais tendem a se tornar mais curta enquanto a profundidade da cripta aumenta após o desmame (HEO, et al., 2013; ZHU, et al., 2014). Para leitões, o desmame é acompanhado por alterações na morfologia intestinal e proliferação celular na cripta (YANG et al., 2016), ou seja, a profundidade da cripta fica maior. Tais afirmações remetem a uma consequente diminuição na relação vilo:cripta de leitões desmamados.

**Tabela 9.** Efeito da suplementação de 0,6% de L-arginina em dietas contendo ou não produto lácteo para leitões desmamados sobre altura das vilosidades (AV), profundidade das criptas (PC) relação vilo:cripta (AV/PC), espessura de mucosa (EM) largura de vilo (LV), área absorviva (AA) e contagem de células caliciformes no jejuno.

|          | Dietas Experimentais |           |           |           | EPM     | P      |
|----------|----------------------|-----------|-----------|-----------|---------|--------|
|          | DS                   | DSA       | DL        | DLA       |         |        |
| Jejuno   |                      |           |           |           |         |        |
| AV (µm)  | 229,64a              | 215,27b   | 228,92a   | 220,40ab  | 30,35   | 0,0111 |
| PC (µm)  | 245,41a              | 194,54b   | 196,53b   | 181,88b   | 34,40   | 0,0001 |
| AV/PC    | 0,94c                | 1,12b     | 1,16ab    | 1,24a     | 0,19    | 0,0056 |
| EM (µm)  | 475,06a              | 409,82b   | 425,46b   | 402,28b   | 55,39   | 0,0001 |
| LV (µm)  | 47,60d               | 64,13c    | 78,06b    | 92,49a    | 8,94    | 0,0001 |
| AA (µm²) | 10931,90d            | 13790,80c | 17823,50b | 20326,50a | 2817,38 | 0,0001 |
| CC       | 11,95                | 11,45     | 12,65     | 12,60     | 3,17    | 0.5853 |

Médias comparadas pelo teste SNK a 5% de significância. EPM – Erro padrão da média. DS – dieta composta principalmente a base de milho e farelo de soja sem produto lácteo; DSA – dieta composta principalmente a base de milho e f. de soja sem produto lácteo suplementada com 0,6% de L-arginina; DL - dieta composta principalmente por milho e f. de soja contendo leite em pó integral; DLA – dieta composta principalmente por milho e f. de soja contendo leite em pó integral suplementada com 0,6% de L-arginina;

No presente estudo a relação vilo:cripta nos dois segmentos foram fortemente influenciados pela suplementação de 0,6% de arginina na dieta que continha leite em pó (DLA). A relação vilo:cripta é um importante indicador de saúde intestinal, pois criptas mais profundas significa maior necessidade de reposição celular o que pode denotar agressões sofridas pelo mucosa em consequência de ações mecânicas, microbiana ou parasitárias.

Quanto maior essa relação, subteme-se menor gasto energético em atividade mitótica nas criptas para manutenção da saúde e integridade do vilo, estruturas responsáveis pela absorção de nutrientes. É importante ressaltar que uma fração considerável do gasto energético do animal advém do gasto com sistema digestório (PLUSK et al., 2018).

As alturas das vilosidades também foram influenciadas pelas dietas contendo leite em pó no segmento duodenal. Observou-se que as dietas apresentaram o mesmo comportamento para espessura de mucosa podendo-se afirmar que dietas com produto lácteos podem proporcionar maior desenvolvimento do epitélio intestinal após o desmame, refletindo em maior área de contato com o alimento e consequentemente mais absorção de nutrientes.

O leite materno contém fatores de crescimento que podem regular a proliferação de células epiteliais intestinais no pós-natal, proporcionando o crescimento mais rapidamente durante o período de amamentação quando comparados com leitões que recebem dietas formuladas (ZABIELSKI, et al., 2007) e estudos anteriores “*in vivo*” e “*in vitro*” relatados por Yang et al. (2016), já havia observado maior proliferação de células epiteliais intestinais em leitões após o desmame quando tratados com fatores de crescimento do leite, fato que possibilita a explicação de tal acontecimento nesse experimento. Embora o leite em pó tenha sofrido processamento industrial, ainda sim pode trazer consigo essas características.

Os animais que receberam a dietas sem leite em pó, quando suplementada com arginina, obteve maior relação vilo:cripta no jejuno em comparação a não suplementada. Já a espessura da camada epitelial e altura de vilo foi maior no segmento duodenal, indicando possível relação da suplementação de arginina com o desenvolvimento dessas estruturas. A arginina já é conhecida como um importante vasodilatador que regula o tônus vascular e a dinâmica sanguínea. No intestino delgado de leitão, os microvasos estão presentes principalmente na mucosa e submucosa, e o desenvolvimento das vilosidades é dependente de um fornecimento adequado de nutrientes a partir tanto do sangue através dos microvasos, quanto intestinal pela alimentação entérica (YAO et al., 2011). Ainda para Silva (2015), a ação benéfica da arginina sobre a microestruturas intestinais está relacionado ao seu potencial de aporte energético para enterócitos.

Observações realizadas em estudo por Zheng et al. (2017) propõem que a suplementação da arginina diminuiu significativamente a profundidade das criptas do jejuno com ou sem estresse oxidativo induzido. Redução semelhante foi observado também no presente estudo, em que se verifica redução na profundidade de cripta no jejuno a medida que se suplementou com arginina e também a adicionou do leite em pó.

Os resultados observados para altura de vilo do jejuno foi maior em animais que consumiram a dieta DS. Portanto, uma hipótese seria que a exposição a uma dieta mais agressiva no caso da DS, tenha proporcionado maior demanda por proliferação celular para manutenção dos vilos, como pode ser verificado com a profundidade de criptas que foram maiores e a maior taxa mitótica (Tabela 10) com essa dieta. A alta demanda por proliferação celular apesar de ter elevado a altura de vilo, proporcionou criptas tão profundas que resultou em pior relação vilo;cripta.

Silva (2015) observou maior contagem de células caliciformes no duodeno quando suplementou leitões desmamados aos 28 dias com 1% de arginina, porém não observou diferença na área absorptiva do duodeno e jejuno. Nesse estudo as dietas lácteas apresentaram maior área absorptiva que as dietas vegetais e a suplementação de 0,6% de arginina em ambas as dietas se destacou. Esse feito da arginina pode ser atribuído ao papel de seu metabolismo na angiogênese e a remodelação vascular assim como aumento de VEGF (fator de crescimento endotelial vascular) descrito no estudo de Yao et al. (2011) já que a contagem de células caliciformes não diferiu entre os tratamentos ( $P>0,05$ ).

#### **4.7 Taxa de mitose (anti-PCNA) e apoptose (anti+Caspase-3) das células intestinais**

Observa-se que animais alimentados com dietas sem produto lácteo (DS e DSA) apresentaram maior taxa de mitose celular para o duodeno quando comparados com as dietas contendo produto lácteo independente da suplementação de L-arginina (Tabela 10). Para o jejuno verifica-se que os animais que receberam as dietas DSA e DL apresentaram maior taxa de mitose quando comparado com as dietas DS e DLA ( $P>0,05$ ).

A taxa de mitose celular, que ocorre principalmente nas criptas e diferenciam-se em células da mucosa intestinais compensando a descamação epitelial, é um indicador de integridade, principalmente do vilo. Quanto maior for a relação mitose/apoptose maior será a integridade e tamanho de vilo (LALLÈS, et al., 2004).

Na região duodenal observou-se nesse estudo maior taxa de mitose para os animais alimentados com dietas predominantemente vegetais ( $P<0,05$ ), o que pode ser uma resposta compensatória ao dano proporcionado pela dieta, visto que ocorreu maior taxa de apoptose que nas dietas lácteas (Tabela 10). As dietas lácteas proporcionaram menor taxa de mitose, porém, os animais apresentaram maiores vilos em consequência também da menor taxa de apoptose, indicando maior integridade destes. Já no segmento Jejunal, os animais que receberam a dieta vegetal suplementada de 0,6% de arginina apresentaram maior mitose tanto

quanto a dieta DL ( $P < 0,05$ ). No primeiro caso também deve estar associado a um efeito compensatório proporcionado pela dieta já que a dieta DL apresentou maior altura de vilo que a dieta DSA (Tabela 9).

**Tabela 10.** Taxa de mitose celular com anti-PCNA e de apoptose celular com anti+Caspase-3 (segundo score adaptado de Ishak et al., 1995), no duodeno e jejuno de leitões suplementados com L-Arginina em dietas contendo ou não produto lácteo.

|                                                                 | Dietas Experimentais |        |        |        | EPM  | P      |
|-----------------------------------------------------------------|----------------------|--------|--------|--------|------|--------|
|                                                                 | DS                   | DSA    | DL     | DLA    |      |        |
| Contagem celular para taxa de mitose                            |                      |        |        |        |      |        |
| Duodeno                                                         | 48,80a               | 47,75a | 41,15b | 42,25b | 7,90 | 0,0044 |
| Jejuno                                                          | 38,10b               | 42,70a | 42,00a | 37,55b | 7,03 | 0,0450 |
| Escore de positividade adaptado de Ishak* para taxa de apoptose |                      |        |        |        |      |        |
| Duodeno                                                         | 1,33a                | 1,25a  | 0,71b  | 0,96b  | 0,14 | 0,0090 |
| Jejuno                                                          | 0,21c                | 0,83b  | 0,33c  | 1,09a  | 0,09 | 0,0001 |

Médias comparadas pelo teste SNK a 5% de significância. EPM – Erro padrão da média. <sup>1</sup>DS – dieta composta principalmente a base de milho e farelo de soja sem produto lácteo; DSA – dieta composta principalmente a base de milho e f. de soja sem produto lácteo suplementada com 0,6% de L-arginina; DL - dieta composta principalmente por milho e f. de soja contendo leite em pó integral; DLA – dieta composta principalmente por milho e f. de soja contendo leite em pó integral suplementada com 0,6% de L-arginina;

A positividade de marcação citoplasmática ao anti-caspase, que ocorre principalmente no ápice das vilosidades, local normal de morte e descamação dos enterócitos, foi maior ( $P < 0,05$ ) nos animais que receberam a dieta de predominância vegetal (DS, DSA), quando no segmento duodenal. Já no jejuno, a morte celular no ápice das vilosidades foi maior para os animais que receberam as dietas suplementadas a 0,6% de arginina, com maior intensificação para a dieta láctea ( $P < 0,05$ ).

A menor morte celular apical nos vilos duodenais de animais que receberam dietas lácteas podem estar correlacionados a maior concentração séricas de IgA observado nesse mesmo grupo (Tabela 11). Embora os resultados correspondam ao observado no soro sanguíneo essa imunoglobulina é secretada por plasmócitos (células B) presentes nas mucosas a exemplo da intestinal. As imunoglobulinas se ligam e marcam antígenos proporcionando ação imunológica mais eficiente (TIZARD, 2014), o que pode ter proporcionado melhor proteção contra possíveis microrganismos patogênicos aos enterócitos.

Os animais que receberam dietas suplementadas de 0,6% de L-arginina tiveram maior taxa de apoptose celular. Os animais que receberam a dieta DSA apresentaram maior taxa de apoptose em relação aos que receberam a dieta DS (dietas vegetais) porém, tiveram também maior taxa de mitose no mesmo segmento indicando maior “turnover” celular. Porém, os

animais que receberam a dieta DLA, que tiveram maior intensidade de apoptose no jejuno entre as demais dietas ( $P>0,05$ ), não foi observado o mesmo comportamento quanto a taxa de mitose (Tabela 10) no segmento, o que também pode ter justificado a altura de vilo (AV) não ter diferido ( $P>0,05$ ) da observado nos animais que receberam a dieta DS (Tabela 9) no jejuno. Entretanto, esse resultado não implicou em maiores danos ao epitélio intestinal, já que esse grupo de animais tiveram melhor conversão alimentar do período II (21 a 42 dias) conforme Tabela 4, e não foram acometidos de grandes distúrbios intestinais como observado na incidência de diarreia (Figura 1).

#### 4.8 Parâmetros séricos sanguíneo

As concentrações séricas de GGT (gama-glutamyltransferase), AST (aspartato aminotransferase), creatinina, ureia e proteínas totais, não foram influenciadas pelas dietas ( $P<0,05$ ) e manteve-se entre os níveis de referência normais descritos por Kaneko et al (2008) para suínos. A constituição bioquímica sanguínea apresenta uma certa constância que permite estabelecer os valores normais característicos do estado de saúde dos animais e alterações nos níveis de proteínas totais, assim como no metabolismo envolvido na excreção do nitrogênio, podem implicar em estado deficitárias de balanço nutricional e distúrbios metabólicos.

**Tabela 11.** Concentração séricas de IgA, IgG, GGT (gama-glutamyltransferase), AST (aspartato aminotransferase), creatinina, ureia e proteínas totais em leitões suplementados com L-Arginina em dietas contendo ou não produto lácteo.

|                                | Dietas Experimentais |         |         |         | EPM  | P      |
|--------------------------------|----------------------|---------|---------|---------|------|--------|
|                                | DS                   | DSA     | DL      | DLA     |      |        |
| <b>IgA (mg/dl)</b>             | 40,70c               | 47,97b  | 55,90a  | 58,62a  | 2,48 | 0,0001 |
| <b>IgG (mg/dl)</b>             | 472,52c              | 517,25b | 549,00a | 550,55a | 6,76 | 0,0001 |
| <b>GGT(U/l)</b>                | 79,75                | 80,70   | 78,35   | 79,25   | 4,28 | 0,8871 |
| <b>AST (U/l)</b>               | 81,77                | 84,50   | 81,17   | 80,80   | 3,82 | 0,5412 |
| <b>Creatinina (mg/dl)</b>      | 1,97                 | 2,07    | 2,00    | 2,17    | 0,16 | 0,3615 |
| <b>Ureia (mg/dl)</b>           | 13,725               | 16,471  | 13,725  | 17,500  | 5,64 | 0,9246 |
| <b>Proteínas Totais (g/dl)</b> | 4,744                | 4,515   | 4,545   | 4,850   | 0,48 | 0,8185 |

Médias comparadas pelo teste SNK a 5% de significância. EPM – Erro padrão da média. DS – dieta composta principalmente a base de milho e farelo de soja sem produto lácteo; DSA – dieta composta principalmente a base de milho e f. de soja sem produto lácteo suplementada com 0,6% de L-arginina; DL - dieta composta principalmente por milho e f. de soja contendo leite em pó integral; DLA – dieta composta principalmente por milho e f. de soja contendo leite em pó integral suplementada com 0,6% de L-arginina;

Nesse estudo os animais apresentaram baixas concentrações séricas de imunoglobulina A e B (IgA e IgG) em relação aos níveis de referência normais descritos por Tizard (2014)

para suínos, indicando um estado imunológico suprimido. Ao mesmo tempo, as dietas influenciaram a concentração sérica de IgA e IgG dos leitões ( $P < 0,05$ ). Dentre os animais que receberam dietas predominantemente vegetal (DS, DSA), quando suplementada a 0,6% de arginina tiveram maior concentração sérica de IgA e IgG em relação aos que receberam o mesmo tipo de dieta sem a suplementação (DS). Já os animais que receberam as dietas lácteas (DL; DLA) tiveram maior concentração sérica de IgA e IgG em relação aos que receberam dieta predominantemente vegetal e a suplementação de 0,6% de arginina nessa dieta não proporcionou diferença significativa ( $P < 0,05$ ).

A produção de imunoglobulinas é estimulada pela diferenciação de resposta celular dos linfócitos T auxiliar em Th2 a partir de células apresentadoras de antígenos, coestimulando a maturação de células B para produção de anticorpos, constituindo a resposta imune humoral (TIZARD, 2014). Acredita-se que os leitões nascem com um sistema imune mais ativo para resposta Th2, sendo primariamente imunodeficientes em resposta Th1 e quando privados de consumo de leite passam mais rápido para uma resposta Th1 indicando que a ausência de leite na dieta de leitões está associada a necessidade mais imediata de resposta adaptativa (CARON et al., 2014). Possivelmente as dietas lácteas nesse estudo contribuíram na maior diferenciação de respostas Th2 pelos linfócitos T, aumentando a concentração sérica de IgA e IgG (Tabela 11) por algum fator intrínseco ao leite. Os mecanismos específicos precisam ser melhor elucidados em estudos posteriores.

Ao mesmo tempo, a suplementação de 0,6% de arginina na dieta predominantemente vegetal, aumentando a concentração sérica de IgA e IgG dos leitões, demonstrado efeito positivo sobre a melhoria da imunidade e corroborando o maior peso relativo de baço (Tabela 5) dos animais que receberam a dieta DSA comparados aos que receberam a DS. Os resultados nesse estudo podem estar associados aos achados de Viana et al (2010), que buscando avaliar a integridade da barreira intestinal e translocação bacteriana em camundongos, verificou que a suplementação de arginina em dietas isoproteicas e isocalóricas, manteve a resposta Th1 e aumentou a resposta Th2 compensatória quando comparada aos animais não suplementados. Além disso, o efeito da resposta Th2 refletiu em aumento de IgA e foi atribuída ao fato que o óxido nítrico desempenha importante função no balanço Th1/Th2. Partindo desse pressuposto, é possível que a suplementação de arginina tenha promovido a produção de anticorpos, modulando a diferenciação de respostas Th2 em linfócitos T, estimulando a maturação de linfócitos B.

Maiores evidências que reforçam essa hipótese foi descrito por Yeh et al. (2002) que observando o efeito da infusão parenteral de arginina em ratos sépticos sobre a população de células T, verificou que a relação  $CD4^+/CD8^+$  foi aumentado no grupo tratado com arginina, indicando aumento da imunidade humoral dos animais. Enquanto isso, Sharme et al (2004) relata que a inibição da enzima óxido nítrica sintase não atenuou a imunidade em ratos quando tratados com arginina, concordando ainda com os achados de Viana (2010), que ao interromper essa via nos camundongos pelo uso de L-NAME (Análogo sintético da arginina), observou possível imunossupressão mesmo quando tratado com arginina.

Han et al. (2009), avaliando se a suplementação de 0,5% de arginina melhoraria a função imunológica em leitões imunossuprimidos (com Ciclofosfamida), não verificou diferenças nas concentrações séricas de IgG, porém constatou aumento nos níveis de BSA, receptores de antígenos de linfócitos B, indicando maturação dessa população linfocitária nos animais que receberam a suplementação de arginina na dieta. Já Tan et al. (2009) estudando a suplementação dietética de arginina sobre parâmetros imunológicos de leitões desmamados precocemente (desmamados aos 7 dias), decorridos 7 dias da pesquisa observou aumento nas concentrações séricas de IgG, quando suplementado em 0,2, 0,4, 0,6 e 0,8% em comparação ao dia 1 da pesquisa e ao grupo de animais não suplementados com arginina no sétimo dia do ensaio.

As evidências nesse estudo sugerem que suplementar 0,6% de arginina implica em melhoria no sistema imune de leitões desmamado quando submetidos a dietas de predominância vegetal, o que é bastante interessante já que dietas lácteas apresentam maiores custo em R\$/Kg (Tabela 12).

#### **4.9 Viabilidade econômica e percentagem de leitões entregues**

As dietas para leitões caracterizam-se por lançar de mais recursos com intuito de minimizar os danos ao desempenho, atingindo o peso ideal ao fim da fase de creche (aos 63 dias). As dietas influenciaram o custo por Kg de peso produzido (Pi), a eficiência econômica (IEE), o índice de custo médio (IC) e a percentagem de leitões entregues aos 63 dias.

**Tabela 12** - Efeito da suplementação de L-arginina em dietas contendo ou não produto lácteo para leitões desmamados sobre Viabilidade Econômica e percentagem de leitões entregues.

| Índices                                    | DS     | DSA  | DL     | DLA    |
|--------------------------------------------|--------|------|--------|--------|
| <b>Fase I</b>                              |        |      |        |        |
| <b>Custo de ração, R\$/Kg (Pi)</b>         | 1,51   | 1,68 | 2,32   | 2,47   |
| <b>Custo médio, R\$/ração/Kg vivo (Yi)</b> | 4,34   | 2,53 | 4,55   | 4,55   |
| <b>Eficiência econômica (IEE)</b>          | 55,57  | 100  | 53,94  | 55,50  |
| <b>Índice de custo médio (IC)</b>          | 179,93 | 100  | 185,38 | 180,15 |
| <b>Fase II</b>                             |        |      |        |        |
| <b>Custo de ração, R\$/Kg (Pi)</b>         | 1,43   | 1,60 | 2,28   | 2,42   |
| <b>Custo médio, R\$/ração/Kg vivo (Yi)</b> | 2,09   | 3,11 | 3,07   | 3,45   |
| <b>Eficiência econômica (IEE)</b>          | 87,52  | 100  | 92,35  | 73,23  |
| <b>Índice de custo médio (IC)</b>          | 114,26 | 100  | 108,29 | 136,55 |
| <b>Média<sup>1</sup></b>                   |        |      |        |        |
| <b>Custo de ração, R\$/Kg (Pi)</b>         | 1,47   | 1,64 | 2,30   | 2,44   |
| <b>Custo médio, R\$/ração/Kg vivo (Yi)</b> | 3,21   | 2,82 | 3,81   | 4,00   |
| <b>Eficiência econômica (IEE)</b>          | 71,55  | 100  | 73,15  | 64,37  |
| <b>Índice de custo médio (IC)</b>          | 147,10 | 100  | 148,83 | 158,35 |
| <b>Leitões entregues aos 63 dias</b>       |        |      |        |        |
| <b>&gt;18kg vivo</b>                       | 50%    | 50%  | 75%    | 100%   |

DS – dieta composta principalmente a base de milho e farelo de soja sem produto lácteo; DSA – dieta composta principalmente a base de milho e f. de soja sem produto lácteo suplementada com 0,6% de L-arginina; DL - dieta composta principalmente por milho e f. de soja contendo leite em pó integral; DLA – dieta composta principalmente por milho e f. de soja contendo leite em pó integral suplementada com 0,6% de L-arginina; 1. Média dos resultados observados na fase I e II para representar o período II, dos 21 aos 43 dias.

Com a suplementação de L-Arginina houve um aumento médio (que representou o período de 21 aos 43 dias) no custo (R\$/Kg) da dieta predominantemente vegetal (DSA) de 11,56% e de 6,08% na dieta láctea (DLA) em relação as respectivas dietas não suplementadas (DS, DL). Já as dietas lácteas (DL; DLA) o aumento foi de 56,46% e 48,78% em relação as dietas vegetais sem e com suplementação de 0,6% de L-arginina respectivamente. O maior aumento nos custos das dietas lácteas se dá pelo fato de que o ingrediente leite em pó integral sozinho contribuiu com R\$ 1,44 e 1,01 do custo total no kg das dietas lácteas (DL; DLA) nas fases I e II respectivamente (Tabela 3), impactando fortemente o custo da ração. Nesse estudo, a dieta vegetal quando suplementada com 0,6% de L-Arginina teve melhor custo por Kg de peso produzido (Pi), assim como melhor eficiência econômica (IEE) e índice de custo médio (IC), o que pode significar uma alternativa ao uso das dietas lácteas.

A desuniformidade no peso de leitões ao término da fase de creche pode ter como inconveniência maior número de animais que não atingiram o peso mínimo de entrega exigido nas unidades de crescimento/terminação. A baixa percentagem de leitões entregues, dificulta práticas de manejos principalmente quando se trata de um sistema “todos dentro, todos fora”,

que busca maior biossegurança na granja, além de implicar em gastos adicionais com ração e uso de instalações, já que animais após 63 dias ainda permanecerão na unidade de creche. Nesse estudo as dietas lácteas apresentaram maior uniformidade de lote, com melhor percentual de entre de leitões aos 63 dias de vida com peso  $\geq 18\text{kg/vivo}$  (Tabela 13).

## 5. CONCLUSÃO

A Suplementação dietética de 0,6% de L-arginina promoveu aumento da atividade do imunológico de leitões desmamados aos 21 dias, melhorou a integridade intestinal e consequentemente reduziu a diarreia na fase de creche. A arginina pode atenuar o efeito deletério de dietas totalmente vegetais para leitões desmamados.

## 6. REFERÊNCIAS

- ABREU, M. L. T. A. FONTES, D. O. NOGUEIRA, E. T. Exigência de aminoácidos para suínos. In: **Nutrição de não ruminantes**. Jaboticabal:FUNEP, p. 285-312, 2014.
- BARBOSA, H. P. et al. Triguilho para suínos nas fases inicial de crescimento, crescimento e terminação. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**. v.21, n.5, p.827-837, 1992.
- BELLAVER, C. et al. Radícula de malte na alimentação de suínos em crescimento e terminação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.20, n.8, p.969-974, 1985.
- BENEVIDES, C.M.J. et al. Fatores antinutricionais em alimentos: revisão. **Segurança Alimentar e Nutricional**. v. 18, n. 2, p. 67-79, 2011.
- BERGERON, N.;ROBERT, C.; GUAY, F. Antioxidant status and inflammatory response in weanling piglets fed diets supplemented with arginine and zinc. **Can J Anim Sci**. v. 94, n. 1, p. 87-97, 2014.
- BERGERON, N.; ROBERT, C.; GUAY, F. Feed supplementation with arginine and zinc on antioxidant status and inflammatory response in challenged weanling piglets. **Animal nutrition**. v. 3, n. 3, p. 236-246, 2017.
- BISINOTO, K. et al. Relação treonina: lisina para leitões de 6 a 11kg de peso vivo em rações formuladas com base no conceito de proteína ideal. **Ciência Rural**, v. 37, n. 6, 2007.
- CARON, L. F. et al. Fundamentos da imunologia aplicadas à Produção de suínos. In: **Produção de suíno teoria e prática**. 1 ed. Coordenação editorial associação Brasileira de criadores de suínos/Coordenação técnica Integrall Soluções em produção animal, Brasília, p. 201-248, 2014.
- CAMPBELL, J. M. et al. The biological stress of early weaned piglets. **journal of animal Science and biotechnology**. v. 4, n. 19, 2013.
- CERA, K. R.; MAHAN, D. C.; CROSS, R. F. Effect of age, weaning and post weaning diet on small intestinal growth and jejunal morphology in young swine. **Journal of Animal Science**, v.66, p.574-584, 1988.
- CHIARLA, C.; GIOVANNINI, I.; SIEGEL, J.H. Plasma arginina and correlations in trauma and sepsis. **Amino Acids**. v.30, p.81-86, 2006.
- CHOI, B.S et al. Differential impact of L-arginine deprivation on the activation and effector functions of T cells and macrophages. **Journal of Leukocyte Biology**., v.85, p. 268-277, 2009.
- CLOSS E. I. et al. Plasma membrane transporters for arginine. **Journal of Nutrition**. oct 2004.

GREEN, P.; CYNOBER, L. Effect of intestinal resections on arginine metabolism: practical implications for nutrition support. **Current Opinion in Clinical Nutrition e Metabolic Care**, v. 13, p. 65-69, 2010.

CRISTANI, I. Acidificantes e probióticos na alimentação de leitões recém desmamados. **Tese (Doutorado em Zootecnia)**. Faculdade de ciências agrárias e veterinária. Unesp. Jaboticabal-SP, 2008.

CUNNINGHAM, G. J. **Tratado de fisiologia animal**. 5 ed. Rio de Janeiro:Elsevier, 2014.

DUKES, H. H; SWENSEN, M. J. Fisiologia dos animais domésticos. In: **Função digestiva e absorptiva dos intestinos**: Argenzio, R. A. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. ed. 12, 2007.

DUTRA JÚNIOR, W. M. CANTARELLI, V. S. Exigencia de energia para suínos. In: **Nutrição de não ruminantes**. Jaboticabal:FUNEP, p. 330-344, 2014.

FRANDSON, R. D.; WILK. W. L.; FELIS, A. D. Defesas corpóreas e sistema imune. In: **Anatomia e fisiologia dos animais de fazenda**. 6. ed., Rio de janeiro: Guanabara Koongon, p. 238-249, 2010.

GAGGIÀ, F.; MATTARELLI, P.; BIAVATI, B. Probiotics an prebiotics in animal feeding for food production. **Review. International Journal of Food Microbiology**. v.141, p. 15-28, 2010.

GEMEDE, H. F.; RATTAN. Antinutritional factors in plant foods: Potential health benefits and adverse effects. **International Journal of Nutrition and Food Sciences**, v. 3, n. 4, p.284-289, 2014.

GRIMBLE, R.F. Nutritional modulation of immune function. **Proceedings of the Nutrition Society**. v. 60, p. 389-397, 2001.

HAN, J. et al. Dietary L-arginine supplementation alleviates immunosuppression induced by cyclophosphamide in weaned. **Amino acids**, v. 37, n.4, p.643-651, 2009.

HE, Q. et al. Metabolomic analysis of the response of growing pigs to dietary L-arginine supplementation. **Amino Acids**. V. 37, n. 1, p.199–208, 2009.

HE, Q. et al. Dietary Supplementation with L-Arginine Partially Counteracts Serum Metabonome Induced by Weaning Stress in Piglets. **Journal of Proteome Research**. v. 10, p.5214–5221, 2011.

HEO, J. M. et al. Gastrointestinal health and function in weaned pigs: a review of feeding strategies to control post-weaning diarrhoea without using in-feed antimicrobial compounds. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**. n. 97, 207–237, 2013.

HERNANDEZ A, et al. L-Arginine supplementation of milk liquid or dry diets fed to pigs after weaning has a positive effect on production in the first three weeks after weaning at 21 days of age. **Anim Feed Sci Technol**. v. 154, p.102-111, 2009.

- ISHAK, K. et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. **Journal of Hepatology**, v.22, p.696-699, 1995.
- LALLES, J. et al. Gut function and dysfunction in young pigs: physiology. **Animal Research**, v.53, p.301-316, 2004.
- LALLÈS, J. P. et al. Weaning - A challenge to gut physiologists. **Livestock Science**. v. 108, p. 82–93, 2007.
- LI, H. et al. Nitric oxide and zinc homoeostasis in pulmonary endothelium. **Ann N Y Acad Sci**. v. 73, n. 8, 2010.
- LI, P. et al. Amino acids and immune function. **British Journal of Nutrition**, v.98, p.237-252, 2007.
- LOOFT, T. et al. In-feed antibiotic effects on the swine intestinal microbiome. **PNAS**, v.109, n.5, p.1691-1696, 2012.
- LIN, C. C. et al. Supplements of l-arginine attenuate the effects of high-fat meal on endothelial function and oxidative stress. **Int J Cardiol**. v. 127, p.337-341, 2008.
- LIU, Y. et al. Dietary arginine supplementation alleviates intestinal mucosal disruption induced by Escherichia coli lipopolysaccharide in weaned pigs. **British Journal of Nutrition**. v. 100, n. 3, p.552-560, 2008.
- LORENZO, A. G.; RUIZ-FERIA, C. A. Effects of vitamin E and arginina on cardiopulmonar fuctuon and ascites parameters in broilers chickens reared under subnormal temperatures. **Poultry Science**. v. 85, n. 12. p. 2241-2250, 2006.
- LUNA, A. C. L. ; Passos, C. C. ; Ferreira, A. O. et al . Expression of progranulin during the first stages of liver development in rat Fischer 344. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science** (Impresso), v. 50, p. 270-278, 2014.
- MATEO, R. D. et al. Dietary L-arginine supplementation enhances the reproductive performance of gilts. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 137, n.3, p.652-656, Mar. 2007.
- MATEO, R. D. et al. Effects of dietary arginina supplementation during gestation and lactation on the performance of lactation primiparous sows and nursing piglets. **Journal Animal Science, Chapaingn**, v.86, n.4, p. 827-835, Apr. 2008.
- MCLAMB, L. B. et al. Early Weaning Stress in Pigs Impairs Innate Mucosal Immune Responses to Enterotoxigenic E. coli Challenge and Exacerbates Intestinal Injury and Clinical Disease. **PLOS ONE**. v. 8, n. 4, 2013.
- MOLINO, J. P. Lactose e glutamina mais ácido glutâmico em rações para leitões desmamados aos 21 dias de idade. 2009. **Teses (Mestrado em Zootecnia)** - Universidade Federal de Viçosa, MG, 2009.

- MONTAGNE, L. et al. Main intestinal markers associated with the changes in gut architecture and function in piglets after weaning. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 97, n.1, p. 45-57, 2007.
- MOREIRA FILHO, A.L. et al. High Incubation Temperature and Threonine Dietary Level Improve Ileum Response Against Post Hatch *Salmonella* Enteritidis Inoculation in Broiler Chicks. **Plos One**, 2015.
- MUNDER, M. et al. L-Arginine deprivation impairs Leishmania major-specific T-cell responses. **European Journal of Immunology**.v.39, p.2161–2172, 2009.
- MURPHY, G.M. Polyamines in the human gut. **European Journal of Gastroenterology & Hepatology**. v.13, p. 1011-1014, 2001.
- NELSON, L. D; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lenhinger**. 6 ed. Porto Alegre:Arttmed, 2014.
- PAN, M. et al. Arginine transport in catabolic disease states. **Journal of Nutrition**. v. 134, 2004.
- PIRES, et al. Qualidade nutricional e escore químico de aminoácidos de diferentes fontes protéicas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 1, 2006.
- POPOVIC, P.J.; ZEH, H.J.; OCHOA, J.B. Arginine and immunity. **Journal of Nutrition**. v.137, p. 1681-1686, 2007.
- PLUSKE, J. R. KIM, J. C. BLACK, and J. L. Manipulating the immune system for pigs to optimise performance. **Animal Production Science**. v. 58, n. 4, 2018.
- KANEKO, J. J. et al. **Clinical biochemistry of domestic animal**. 6 ed. © Academic Press. 2008.
- KUMMER, R. et al. Fatores que influenciam no desempenho dos leitões na fase de creche. **Acta Scientiae Veterinaria**. v. 37 (Supl 1), p.195-209, 2009.
- RODRIGUES, F. A. P. et al - Fisiologia da barreira epitelial intestinal. In: **sistema digestório - integração básico-clínica**: Oriá, R. B.; Brito, G. A. de C, editora. Edgard Blucher Ltda. p. 442-447. 2016.
- ROSTAGNO, H. S. et al. **Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: composição dos alimentos e exigências nutricionais**. 4. ed., Viçosa: UFV, 2017. p. 443-444.
- ROTH, E. Nonnutritive Effects of Glutamine. **Journal of Nutrition**. v.138, p. 2025– 2031, 2008.
- RUBIN, L. L. et al. Influence of sulfur amino acid levels in diets of broiler chickens submitted to immune stress. **Revista Brasileira de Ciência Avícola / Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 9, p. 53-60, 2007.

SHANG, H.F. et al. Effects of arginine supplementation on splenocyte cytokine mRNA expression in rats with gut-derived sepsis. **World J. Gastroenterol**, v.11, p. 7091-7096, 2005.

SHARMA, K. K. et al. Effect of L-arginine on restraint stress induced modulation of immune responses in rats and mice. **Pharmacol Research**. v. 49, n. 5, p.55–460, 2004.

SILVA, D. R. P. **Adição de L-glutamina + ácido glutâmico e L-arginina na dieta de leitões recém desmamados**. 2015. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. UFPB. Areia-PB.

SÖDERHOLM, J. D.; PERDUE, M. H. Stress and intestinal barrier function. **American Journal of Physiology – Gastrointestinal and Liver Physiology**, Bethesda, v. 280, n. 1, p. 7-13, 2001.

SMALE, S. T.; TARAKHOVSKY, A.; NATOLI, G. Chromatin contributions to the regulation of innate immunity. **Annual Review of Immunology**. v. 32, p. 489-511, 2014.

SHAMA, K. K. et al. Effect of l-arginine on restraint stress induced modulation of immune responses in rats and mice. **Pharmacological**. v.49 n.4 p.455-460, 2004.

TAN, B. et al. Dietary L-arginine supplementation enhances the immune status in early-weaned piglets. **Amino Acids**. v. 37, n. 2, p.321–321, 2009.

TAPIERO, H. et al. Arginine. **Biomedicine e Pharmacotherapy**., v.56, p. 439-445, 2002.

TIZARD, I. R. **Imunologia veterinária**. 9 ed. Rio de Janeiro:Elsevier, 2014.

TOLEDO, J. B.; HUEPA, L. M. D.; GRIESER, D. de O. Suplementação de aminoácidos essenciais em dietas de baixo nível proteico para leitões: Revisão. **Pubvet**, v.11, n.11. p.1151-1162, nov. 2017.

VIANA M. L, et al. Pretreatment with arginine preserves intestinal barrier integrity and reduces bacterial translocation in mice. **Nutrition**. v. 26, p.218–223, 2010.

WANG, J. et al. Gene expression is altered in piglet small intestine by weaning and dietary glutamine supplementation. **Journal of Nutrition**, v.138, p. 1025-1032, 2008.

WARRINGTON et al. Na introduction to immunology and immunopathology. **Allergy, Asthma & Clinical immunology**. v. 128, n. 6, p. 1025-1032, 2008.

WATFORD M.; KUTSCHENKO M.; NOGUEIRA E.T. Optimal dietary glutamine for growth and development. **Revista Brasileira de Zootecnia** 40, p. 384-390 (supl. especial). 2011.

WILMORE, D. Enteral and parenteral arginine supplementation to improve medical outcomes in hospitalized patients. **Journal of Nutrition**. v.134, p.2863-2867, 2004.

WU, G.; MEIER, S. A.; KNABE, D. A. Dietary glutamine supplementation prevents jejunal atrophy in weaned pigs. **Journal of Nutrition**. v. 126, n. 10, p.2578–2584, 1996.

WU, G.; MORRIS, S.M. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. **Biochemical Journal**, London, v.336, p.1-17, 1998.

WU, G. et al. Important roles for the arginine family of amino acids in swine nutrition and production. **Livestock Science**. v.112, p.8- 22, 2007.

WU, G. Amino acids: Metabolism, functions, and nutrition. **Amino Acids**, v. 37, p.1–17, 2009.

WU G. Functional amino acids in growth, reproduction and health. **American Society for Nutrition**. p. 31-37, 2010.

WU, G. Functional amino acids in nutrition and health. **Amino Acids**, v. 45, p.407–411, 2013.

WU, L. et al. Dietary L-Arginine Supplementation Protects Weanling Pigs from Deoxynivalenol-Induced Toxicity. **Toxins**. v. 7, n. 4, p.1341-1354, 2015.

WU, X. et al. Dietary supplementation with L-arginine or N- carbamy l-glutamate enhances intestinal growth and heat shock protein-70 expression in weanling pigs fed a corn- and soybean meal-based diet. **Amino Acids**, v. 39, p. 831–839, 2010.

YANG, H, et al. Effect of weaning on intestinal crypt epithelial cells in piglets. **Scientific Reports**. v. 6, 2016..

YAO, K. et al. Dietary L-arginine supplementation enhances intestinal development and expression of vascular endothelial growth factor in weanling piglets. **British Journal of Nutrition**. v. 105, n. 5, 2011.

YAO, K. et al. Dietary arginine supplementation invreases mTOR sinaling activity in skeletal muscle of neonatal pigs. **British Journal of Nutrition**. v. 138, n. 5, p. 867-872, 2008.

YEH, C.L.; YEH, S.L.; LIN, M.T.; CHEN, W.J. Effects of arginine-enriched total parenteral nutrition on inflammatory- related mediator and T-cell population in septic rats. **Nutrition**. v.18, p.631-635, 2002.

YI, G. F, et al. Effect of glutamine and spray-dried plasma on growth performance, small intestinal morphology, and immune responses of Escherichia coli K88+-challenged weaned pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 83, p. 634-643, 2005.

YI, D. et al. Dietary supplementation with an amino acid blend enhances intestinal function in piglets. **Amino Acids**. v. 50, n. 8, p.1089-1100, 2018.

YUAN, S. B. et al. Effects of oxidative stress on growth performance, nutrient digestibilities and activities of antioxidative enzymes of weanling pigs. **Asian-Australasion Journal Animal Sciences**. n. 20, p. 1600–1605, 2007.

ZABIELSKI, R. Hormonal and neural regulation of intestinal function in pigs. **Livestock Science**. v. 108, p.32–40, 2007.

ZHENG, P. et al. Protective effects of dietary arginine supplementation against oxidative stress in weaned piglets. **British Journal of Nutrition**. v. 109, p. 2253-2260, 2013.  
LASS

ZHENG, P. et al. Arginine metabolism and its protective effects on intestinal health and functions in weaned piglets under oxidative stress induced by diquat. **British Journal of Nutrition**. mai 2017.

ZHU, L. H. et al. Gene expression profiling analysis reveals weaning-induced cell cycle arrest and apoptosis in the small intestine of pigs. **Journal of Animal Science**. v. 92, p.996–1006, 2014.

ZHOU, X, et al. CLA differently regulates adipogenesis in stromal vascular cells from porcine subcutaneous adipose and skeletal muscle. **Journal of Lipid Research**. v. 48, p.1701-1709, 2007.