

# Efecto de la suplementación con arginina y glutamina sobre la digestibilidad ileal y fecal de gazapos tras el destete

*Effect of supplementation with arginine and glutamine on ileal and faecal digestibility in rabbits after weaning*

**Delgado R., Abad R., Nicodemus N., Menoyo D., García J., Carabaño R.\***

Departamento de Producción Animal, ETSIA, Universidad Politécnica de Madrid

\*Dirección de contacto: rosa.carabano@upm.es

## Resumen

Se estudió el efecto de la suplementación con arginina y glutamina así como su posible interacción sobre la digestibilidad ileal y fecal de los nutrientes en gazapos tras el destete. Para ello se formuló una dieta basal (C) y se fabricaron otros 3 piensos añadiendo un 0,4% de arginina (ARG), un 0,4% de glutamina (GLN) y una mezcla de un 0,4% de arginina y un 0,4% de glutamina (ARG+GLN) a la ración basal. Se observó una interacción ARG×GLN en la digestibilidad fecal de la EB y el N ( $P = 0,008$  y  $P = 0,001$  respectivamente). La suplementación con ARG o GLN mejoró la digestibilidad de estos componentes en comparación con el pienso control, si bien cuando el pienso estuvo suplementado con ambos aminoácidos ARG+GLN mostró valores intermedios entre el grupo control y los suplementados con ARG o GLN ( $P < 0,001$ ). La digestibilidad fecal de la FND fue superior en los piensos suplementados con GLN ( $P < 0,001$ ). Los tratamientos no modificaron la digestibilidad ileal de la MS ni del N ( $P \geq 0,44$ ). La suplementación con glutamina tendió a incrementar la digestibilidad ileal del ácido glutámico ( $P = 0,099$ ) respecto a los gazapos no suplementados, mientras que no afectó a la digestibilidad ileal de los demás aminoácidos ( $P \geq 0,13$ ). La suplementación con arginina + glutamina aumentó o tendió a aumentar la digestibilidad ileal aparente de la mayor parte de los aminoácidos esenciales y no esenciales de los gazapos de 35 d de edad ( $P < 0,096$ ) respecto a la suplementación con glutamina.

**Palabras clave:** Arginina, glutamina, digestibilidad, conejos.

## Abstract

The aim of this work was to study whether the dietary supplementation with arginine and glutamine and the eventual relationship between them influence ileal and faecal digestibility of weaned rabbits. A basal diet was formulated (C). Another 3 diets were obtained by adding 0.4% arginine (ARG), 0.4% glutamine (GLN) and a mixture of 0.4% arginine and 0.4% of glutamine (ARG+GLN) to the basal diet. An interaction ARG×GLN was observed for the faecal digestibility of GE y N ( $P = 0.008$  y  $P = 0.001$  respectively). Faecal digestibility improved with ARG or GLN supplementation compared to control diet, although when both amino-acids were supplemented together (ARG+GLN) it showed an intermediate value between control diet and those supplemented with ARG or GLN ( $P < 0.001$ ). Faecal digestibility of NDF was higher in diets supplemented with GLN ( $P < 0.001$ ). Treatments did not affect ileal DM and N digestibility ( $P \geq 0.44$ ). Glutamine supplementation tended to increase ileal apparent glutamic acid digestibility ( $P = 0.099$ ) respect to unsupplemented rabbits, while it did not affect the ileal apparent digestibility of the other amino acids ( $P \geq 0.13$ ). Supplementation with arginine + glutamine increased or tended to increase the ileal digestibility of most essential and not essential amino acids of the rabbits at 35 d of age ( $P < 0.096$ ) respect to the glutamine supplementation.

**Keywords:** Arginine, glutamine, digestibility, rabbits.

## Introducción

La glutamina juega un papel fundamental en el metabolismo de la mucosa intestinal, ya que mantiene la integridad y la funcionalidad de la barrera intestinal (Wu, 1998). Es el principal sustrato para los enterocitos (Wu *et al.*, 1995) y un importante precursor en su división celular (Curthoys y Watford, 1995; Rhoads *et al.*, 1997). También estimula la síntesis de proteína e inhibe la proteólisis en las células de la mucosa del intestino delgado (Coeffier *et al.*, 2003). Además, es esencial en la síntesis de glutatión, que es el antioxidante más abundante en el intestino delgado (Wu *et al.*, 2004). Por otra parte, la arginina es precursor del óxido nítrico (NO) el cual es catalizado por la óxido nítrico sintasa (NOS). La isoforma inducible de la NO sintasa (iNOS) es producida en los macrófagos, hepatocitos, en las células musculares vasculares lisas y en el endotelio en respuesta a las endotoxinas, citoquinas y otros factores pro-inflamatorios (Tapiero *et al.*, 2002) lo que podría mejorar el estado de la salud intestinal. Esta mejora en la mucosa intestinal podría aumentar la digestibilidad de los nutrientes, por lo que el objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto que ejerce la suplementación con arginina y glutamina en la dieta y su posible interacción sobre la digestibilidad ileal y fecal aparente de los nutrientes en gazapos tras el destete.

## Material y métodos

Se formuló una ración basal (C) con un contenido en proteína y FND del 19,1 y 35,3% respectivamente siguiendo las recomendaciones de De Blas y Mateos (2010). Se fabricaron otros tres piensos añadiendo un 0,4% de arginina (ARG), un 0,4% de glutamina (GLN) y una mezcla de un 0,4% de arginina y un 0,4% de glutamina (ARG+GLN) a la ración basal (**Tabla 1**). Se utilizaron 96 animales (24/tratamiento), destetados a los 25 d de edad, con un peso vivo de  $405 \pm 59,9$  g, a los que no se suministró antibiótico alguno. Tras el destete, la camada recibió el mismo

**Tabla 1. Composición de los piensos experimentales.**

Piensos experimentales	C	ARG	GLN	ARG+GLN
Arginina	0	0,4	0	0,4
Glutamina	0	0	0,4	0,4
<b>Composición química analizada, %MS</b>				
MS	91,2	92,9	93,3	93,3
Nitrógeno	2,98	3,10	3,07	3,09
aFNDmo	35,9	35,2	34,9	35,3
FADmo	17,9	17,4	17,6	17,9
LAD	4,81	4,46	4,56	4,41
Energía bruta (MJ/kgMS)	18,4	18,5	18,5	18,3
<b>Aminoácidos esenciales, % MS</b>				
Cisteína	0,29	0,29	0,29	0,29
Histidina	0,40	0,39	0,40	0,39
Isoleucina	0,69	0,67	0,68	0,66
Leucina	1,19	1,18	1,18	1,19
Lisina	0,93	0,92	0,92	0,92
Metionina	0,33	0,32	0,32	0,32
Fenilalanina	0,81	0,80	0,81	0,80
Treonina	0,70	0,69	0,68	0,70
Valina	0,85	0,83	0,84	0,82
<b>Aminoácidos no esenciales, % MS</b>				
Alanina	0,80	0,79	0,80	0,80
Arginina	1,13	1,53	1,16	1,53
A. aspártico	1,61	1,60	1,59	1,61
A. glutámico	3,08	3,03	3,45	3,53
Glicina	0,87	0,86	0,87	0,87
Prolina	1,04	1,03	1,03	1,04
Serina	0,79	0,78	0,77	0,81

*Ingredientes %*, trigo: 22,0; Salvado de trigo: 22,0; Torta de girasol 28-30: 13,0; Torta de soja 44: 6,5; Concentrado proteico de soja 61: 1,5; Heno de alfalfa: 29,0; Granilla desengrasada de uva: 2,0; manteca: 2,0; Heno de alfalfa marcado con Yb: 0,5; L-Lisina HCL:0,20; DL-Metionina: 0,05; L-Treonina: 0,05; Carbonato Cálcico: 0,68; Cloruro Sódico: 0,50; Corrector vitamínico-mineral1: 0,50; Coccidiostato2: 0,02.

<sup>1</sup> Provisto por Trouw Nutrition-Tecna (Madrid, España), Composición mineral y vitamínica (mg/kg): Mn: 4000; Zn: 11840; Cu: 2000; I: 250; Co: 99; Fe: 15200; Niacina: 4000; Betaína: 10830; Cloruro de Colina: 27500; Vitamina K: 200; Vitamina B1: 200; Vitamina B2: 400; Vitamina B6: 200; Vitamina A: 1675000UI/kg; Vitamina D3: 150000 UI/kg; Vitamina E (acetato de Iodo-rac-alfa-tocoferilo): 4000UI/kg. <sup>2</sup> 1ppm de diclazuril en pienso (Esteve, España).

pienso ofrecido a su madre. Los animales se alojaron individualmente y fueron alimentados *ad libitum* hasta los 35 d de edad. Para la prueba de digestibilidad fecal se utilizaron 36 animales (9/tratamiento). Los gazapos tuvieron un periodo de adaptación al pienso de 7 días y entre los 32 y los 35 d de edad se recolectaron las heces para determinar la digestibilidad fecal de la MS, N, energía y FND. A los 35 d de edad, todos los animales fueron sacrificados entre las 19:00 y las 21:00 h. Para determinar la digestibilidad ileal, se recogió el contenido ileal de los últimos 20 cm de íleon. Debido a la pequeña cantidad de digesta obtenida se mezclaron los contenidos ileales de 2-3 animales para tener un total de 7 mezclas por tratamiento y en ellas se midió la concentración de iterbio para determinar la digestibilidad ileal de la materia seca y del N. En cada tratamiento, se analizó el perfil de aminoácidos en una muestra procedente de la combinación de las 7 mezclas. Debido a problemas en el marcaje con iterbio del pienso ARG en este pienso no se pudo analizar la digestibilidad ileal. Los datos de digestibilidad fecal se analizaron mediante un análisis de varianza factorial en el que las principales fuentes de variación fueron el nivel de arginina, el nivel de glutamina y su interacción, mientras que la digestibilidad ileal se analizó utilizando los contrastes C vs GLN, y GLN vs ARG+GLN.

**Tabla 2. Efecto de la suplementación con arginina y glutamina sobre la digestibilidad fecal aparente en gazapos entre los 32-35 d de edad.**

	Pensos experimentales				rsd	P-valor		
	C	ARG	GLN	ARG+GLN		ARG	GLN	ARG+GLN
Arginina	0	0,4	0	0,4				
Glutamina	0	0	0,4	0,4				
N	9	9	9	9				
Materia seca, %	65,1 <sup>a</sup>	69,7 <sup>b</sup>	70,3 <sup>b</sup>	68,8 <sup>b</sup>	3,10	0,14	0,04	0,005
Energía, %MS	65,5 <sup>a</sup>	70,2 <sup>b</sup>	70,1 <sup>b</sup>	68,2 <sup>ab</sup>	3,48	0,23	0,28	0,008
Nitrógeno, %MS	80,3 <sup>a</sup>	84,6 <sup>bc</sup>	85,7 <sup>c</sup>	82,0 <sup>ab</sup>	3,53	0,79	0,23	0,001
FND, %MS	23,9 <sup>a</sup>	28,4 <sup>ab</sup>	33,8 <sup>c</sup>	31,5 <sup>bc</sup>	4,99	0,61	<0,001	0,049

a-c Las medias de cada pienso con letras diferentes en la misma fila indican que difieren.  $P < 0,05$ .  
rsd: desviación estándar residual.

## Resultados y discusión

Los tratamientos no afectaron al consumo (55,3 g/d) ni a la velocidad de crecimiento (38,2 g/d) entre los 25 y los 35 d de edad, no afectando a la eficacia alimenticia (0,555;  $P \geq 0,27$ ). Estos valores son bajos debido al brote de enteropatía existente en el periodo en el que se desarrolló el experimento (24,2 % mortalidad y 23% morbilidad.  $P \geq 0,19$ ). Se observó una interacción ARG×GLN en la digestibilidad fecal de la EB y N (Tabla 2.  $P \leq 0,049$ ). La suplementación con ARG o GLN mejoró la digestibilidad de estos componentes en comparación con el pienso control, si bien cuando el pienso estuvo suplementado con ambos aminoácidos ARG+GLN mostró valores intermedios entre el grupo control y los suplementados con ARG o GLN. Estos efectos (sobre la digestibilidad fecal de la EB y N) también han sido observados en reproductoras alimentadas con los mismos piensos (Delgado et al., 2013) y por Chamorro et al. (datos no publicados). La digestibilidad de la FND fue superior en los piensos suplementados con GLN ( $P < 0,001$ ). El efecto que ejercen estos aminoácidos sobre la microbiota tanto en el íleon como en el ciego (Chamorro et al., 2010) podrían explicar parte de las diferencias encontradas en este efecto. La suplementación con GLN o con ARG+GLN no modificaron la digestibilidad ileal de la MS ni del N, cuyos valores fueron de media 43,1 y 69,5 respectivamente ( $P \geq 0,44$ . Tabla 3).

La suplementación con glutamina tendió a incrementar la digestibilidad ileal del ácido glutámico ( $P = 0,099$ ) respecto a los gazapos no suplementados, mientras que no afectó a la digestibilidad ileal de los demás aminoácidos ( $P \geq 0,13$ ). La suplementación con arginina+glutamina aumentó o tendió a aumentar la digestibilidad ileal aparente de todos los aminoácidos esenciales y no esenciales de los gazapos de 35 d de edad ( $P < 0,096$ ) respecto a la suplementación con glutamina (menos de la isoleucina, lisina, valina y a. aspártico). El efecto observado de la suplementación con arginina es novedoso y podría estar vinculado con el estímulo que ejerce sobre la

**Tabla 3. Efecto de la suplementación con arginina y glutamina sobre la digestibilidad ileal aparente en gazapos a 35 d de edad.**

	Piensos experimentales			rsd	P-valor	
	C	GLN	ARG+GLN		C vs GLN	GLN vs ARG+GLN
Arginina	0	0,4	0,4			
Glutamina	0	0	0,4			
<b>N</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>7</b>			
<b>Materia seca, %</b>	42,7	42,9	43,6	5,03	0,78	0,96
<b>Energía, %MS</b>	67,1	70,5	71,0	6,48	0,34	0,44
<b>AA esenciales, % MS</b>						
Cisteína	65,2	61,8	67,6	5,04	0,23	0,043
Histidina	72,2	73,3	76,8	3,70	0,60	0,096
Isoleucina	73,9	75,7	78,2	3,46	0,35	0,21
Leucina	74,1	75,5	79,0	3,38	0,49	0,068
Lisina	74,8	76,7	79,5	3,28	0,30	0,13
Metionina	79,2	80,9	83,7	2,65	0,25	0,070
Fenilalanina	69,3	67,3	71,9	4,38	0,41	0,065
Treonina	67,0	64,3	71,2	4,59	0,31	0,013
Valina	71,8	73,2	76,3	3,77	0,50	0,14
<b>AA no-Esenciales, % MS</b>						
Arginina	80,6	82,5	87,7	2,20	0,13	<0,001
Ácido Aspártico	84,9	85,5	87,4	2,01	0,60	0,11
Ácido Glutámico	85,4	87,2	89,1	1,80	0,099	0,060
Glicina	56,4	58,0	64,9	5,68	0,61	0,037
Prolina	77,5	76,6	80,1	3,13	0,61	0,050
Serina	70,0	68,9	74,3	4,10	0,66	0,026

*P* < 0,05. Contrastes: 1 = C vs. GLN; 2 = GLN vs. ARG+GLN.  
rsd: desviación estándar residual.

secreción de óxido nítrico y de hormonas como el factor de crecimiento insulínico I, la hormona del crecimiento, y el glucagón (Barbul, 1986; Reyes *et al.*, 1994; Newsholme y Calder, 1997). Por su parte, pese a que la glutamina es esencial para la funcionalidad de la mucosa intestinal (Wu y Morris, 1998; Wilmore y Rombeau, 2001) no se observó que tuviera efecto sobre la digestibilidad ileal.

## Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos AGL2011-23885 y MEDGAN-CM S2013/ABI-2913. Agradecemos a Ajinomoto Eurolysine SAS e Indukern SA el suministro de los aminoácidos y a Evonik Industries por el análisis de los aminoácidos.

## Bibliografía

- Barbul A. 1986. Arginine: biochemistry, physiology, and therapeutic implications. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 10:227-238.
- Chamorro S., De Blas C., Grant G., Badiola I., Menoyo D., Carabaño R. 2010. Effect of dietary supplementation with glutamine and a combination of glutamine–arginine on intestinal health in twenty-five-day-old weaned rabbits. *J. Animal Science*, 88:170-180.
- Coeffier M., Claeysens S., Hecketsweiler B., Lavoigne A., Ducrotte P., Dechelotte P. 2003. Enteral glutamine stimulates protein synthesis and decreases ubiquitin mRNA level in human gut mucosa. *Am. J. Physiol.-Gastroint. Liver Physiology*, 285:G266-G273.

- Curthoys N.P., Watford M. 1995. Regulation of the glutaminase activity and glutamine metabolism. *Annu. Rev. Nutr.*, 15:133-159.
- De Blas C., Mateos G.G. 2010. Feed formulation. In: *Nutrition of the rabbit*, 2<sup>nd</sup> edition (De Blas C., Wiseman J., ed.). pp. 222-232.
- Delgado R., Abad R., Menoyo D., Carabaño R., García J. 2013. Efecto de la suplementación de la dieta con arginina y glutamina sobre el rendimiento de las conejas y sus camadas durante las cinco primeras lactaciones. XXXVIII Symposium de Cunicultura, Zamora, pp. 141-145.
- Newsholme E.A., Calder P.C. 1997. The proposed role of glutamine in some cells of the immune system and speculative consequences for the whole animal. *Nutrition*, 13:728-730.
- Reyes A.A., Karl I.E., Klahr S. 1994. Role of arginine in health and in renal disease. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 267:F331-F346.
- Rhoads J.M., Argenzio R.A., Chen W.N., Rippe R.A., Westwick J.K., Cox A.D., Berschneider H.M., Brenner D.A. 1997. L-glutamine stimulates intestinal cell proliferation and activates mitogen-activated protein kinases. *American Journal Physiology-Gastrointestinal Liver Physiology*, 272:G943-G953.
- Tapiero H., Mathe G., Couvreur P., Tew K. 2002. I. Arginine. *Biomedicine Pharmacother.*, 56:439-445.
- Wilmore D.W., Rombeau J.L. 2001. Glutamine metabolism: Nutritional and clinical significance. *Journal of Nutrition*, 131:2447S.
- Wu G., Bazer F.W., Tuo W. 1995. Developmental changes of free amino acids concentrations in fetal fluids of pigs. *Journal of Nutrition*, 125:2859-2868.
- Wu G. 1998. Intestinal mucosal amino acid catabolism. *The Journal of Nutrition*, 128:1249-1252.
- Wu G.Y., Morris S.M. 1998. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. *Biochemical Journal*, 336:1-17.
- Wu G., Fang Y.-Z., Yang S., Lupton J.R., Turner N.D., 2004. Glutathione metabolism and its implications for health. *Journal of Nutrition*, 134:489-492.