

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste trabalho será disponibilizado somente a partir de 26/05/2019.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CÂMPUS DE BOTUCATU

SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA DE GLUTAMINA NO
DESEMPENHO PRODUTIVO, MORFOLOGIA INTESTINAL,
RESPOSTAS HEMÁTICAS, ENZIMÁTICAS E IMUNOLÓGICAS DA
TILÁPIA-DO-NILO SUBMETIDA A DESAFIO BACTERIANO

PEDRO LUIZ PUCCI FIGUEIREDO DE CARVALHO

Tese apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Zootecnia
como parte dos requisitos para
obtenção do título de Doutor.

BOTUCATU - SP
Maio de 2017

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CÂMPUS DE BOTUCATU

SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA DE GLUTAMINA NO
DESEMPENHO PRODUTIVO, MORFOLOGIA INTESTINAL,
RESPOSTAS HEMÁTICAS, ENZIMÁTICAS E IMUNOLÓGICAS DA
TILÁPIA-DO-NILO SUBMETIDA A DESAFIO BACTERIANO

PEDRO LUIZ PUCCI FIGUEIREDO DE CARVALHO

Zootecnista

ORIENTADORA: Prof^ª Dr^ª Margarida Maria Barros

CO-ORIENTADOR: Prof^º Dr^º Wilson Massamitu

Furuya

Tese apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Zootecnia
como parte dos requisitos para
obtenção do título de Doutor.

BOTUCATU - SP
Maio de 2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Carvalho, Pedro Luiz Pucci Figueiredo de.

Suplementação dietética de glutamina no desempenho produtivo, morfologia intestinal, respostas hemáticas, enzimáticas e imunológicas da tilápia-do-nilo submetida a desafio bacteriano / Pedro Luiz Pucci Figueiredo de Carvalho.
- Botucatu, 2017

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Margarida Maria Barros

Coorientador: Wilson Massamitu Furuya

Capes: 50400002

1. Tilápia-do-Nilo.
2. Glutamina.
3. Aeromonas.
4. Suplementos dietéticos.
5. Peixes - Nutrição.

Palavras-chave: Aeromonas hydrophila; Desafio bacteriano; Glutamina; Nutrição e saúde de peixes; Oreochromis niloticus.

Dedicatória

Às meus pais

Robson Luiz Figueiredo de Carvalho

Marisa Pucci de Carvalho

Pelos exemplos de vida e caráter

Amo muito vocês

À meu irmão

Bruno Luiz Pucci Figueiredo de Carvalho

Pelo carinho amizado e amor que sempre nos uniu

Amo você

À minha noiva

Leticia Rocha Inamassu

Por ser tudo o que eu esperava de uma companheira para a vida toda

Te amo

Agradecimentos

À professora Assíst. Dra. Margarida Maria Barros, pela orientação, exemplos de dedicação, seriedade, compromisso com a pesquisa, valiosos ensinamentos dentro da sala de aula e para a vida, e, principalmente, pela preocupação com a minha formação. Muito obrigado.

Ao professor Dr. Luiz Edivaldo Pezzato, pelo estímulo e amor à pesquisa, confiança, sensibilidade, grande amizade e principalmente pelo exemplo de humildade e caráter, características muito raras numa só pessoa.

Ao professor Dr. Wilson Massamitu Furuya, pela co-orientação, amizade, comprometimento, além das sugestões e auxílio nas análises aminoacídicas, imprescindíveis para realização desse estudo.

To Professor Delbert M. Gatlin III, thank you for receiving me so kindly at your lab, for all the support, suggestions and of course, for the boots! Thank you for the opportunity to make my US-dream come true.

Ao professor Delbert M. Gatlin III, muito obrigado por me receber tão gentilmente em seu laboratório, por todo apoio, sugestões e é claro, pelas botas! Obrigado pela oportunidade de tornar meu sonho de estágio nos Estados Unidos realidade.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP, pela concessão das bolsas de estudos (2014/01973-5 e BEPE 2015/23777-6) e recursos financeiros para a realização dos experimentos.

À empresa Ajinomoto do Brasil, pelo fornecimento do ingrediente-teste, sugestões e análises de aminoácidos das dietas, muito obrigado.

À todos meus familiares, em especial, aos meus avós Teresa Figueiredo de Carvalho, Lídia Pucci e Renato Pucci.

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, Campus de Botucatu, por tornar esse sonho possível.

Aos amigos do Laboratório de Nutrição e Saúde de Peixes - AquaNutri: Ademir Calvo Fernandes Jr. (Dema), Caroline Pelegrina Teixeira (Xérols), Eric Portilho de Araújo, Felipe Tenório Cintra, Flávia Mota Damasceno, Guilherme Sassi (Talarico), Hingliuf Müller, Igor Simões Tiagua Vicente, João Fernando Albers Koch (Johinny), Juliana Mara Costa, Rafael Fogaça Naliato, Rafael de Almeida (Portuguinha), Rarael Lopes da Silva, Renan Mattos Botelho (Pepe), Renie Venn Chan (China), sempre dispostos a ajudar e dividir conhecimentos.

To my dear friends Fernando Yugo Yamamoto, Mariana Michelatto, Yu Kawakami, Waldemar Rossi, Alejandro Velásquez, Sergio Castillo, Min Ju (Zena), Clement Cruz, Brittany Peachey, Alton Burns, Yufan Zhang (Little T), Brian Ray, Dr. Jiang, João Gatto B. Luna and all the colleagues that made my experience at Texas A&M University amazing.

Aos meus queridos amigos Fernando Yugo Yamamoto, Mariana Michelatto, Yu Kawakami, Waldemar Rossi, Alejandro Velásquez, Sergio Castillo, Min Ju (Zena), Clement Cruz, Brittany Peachey, Alton Burns, Yufan Zhang (Little T), Brian Ray, Dr. Jiang, João Gatto B. Luna e a todos os colegas que fizeram da minha experiência na Texas A&M University incrível.

Agradecimento especial aos meus amigos Fernando Yugo Yamamoto e Mariana Michelatto, pelo auxílio nas análises in vitro e em basicamente tudo que precisei durante meu estágio no exterior. Sem vocês eu estaria perdido, muito obrigado por tudo, de verdade.

A todos os estagiários que passaram pelo Laboratório, ensinei e aprendi com eles.

Aos funcionários do Laboratório de Bromatologia, em especial à Gisele, pelo auxílio e carinho.

A professora Maria Márcia Pereira Sartori, pelo carinho, atenção e auxílio nas análises estatísticas.

Aos professores da banca de qualificação, Margarida Maria Barros, Luiz Edvaldo Pezzato e Ricardo de Oliveira Orsi e, pelas valiosas críticas e sugestões ao trabalho.

A professora Mônica Rosolem, muito obrigado pelos ensinamentos, carinho e amizade.

Aos funcionários da Pós-Graduação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Unesp - Botucatu, em especial para Seila C. C. Vieira, Ellen Cassemiro Guilhen, Cláudia Cristina Moreci e Carlos Pazini Junior, pela dedicação e incontáveis auxílios prestados.

Aos moradores, agregados e IRMÃOS das repúblicas H.Romeu, H.Ro.frango e Turma da Sujeira: Johnny, Bahia, Calvinator, Dema, Cauê, Purê, Giláa, Kurirín, Ed, Panela, Betão, Sífodo, Candango, Cocs, Xucrao, Morma, Mimi, Satyd, Ktwi, Pão, Dhal e Matis, pela amizade, alegria, companheirismo e bons momentos compartilhados.

Aos amigos de Louveira: Pato, Draga, Harry, Max, Nerds, Mimi, Xicão, Cabeça, Vinagrão e Saku, sempre presentes apesar da distância, trazendo palavras de incentivo em minha jornada acadêmica e pessoal.

Agradeço à todos que de maneira direta ou indireta colaboraram para a realização desse trabalho, muito obrigado.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I.....	1
CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	1
1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	2
1.1. <i>Aminoácidos: classificação e funções</i>	2
1.2. <i>Glutamina</i>	4
1.3. <i>Glutamina na nutrição e saúde de peixes</i>	7
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	11
CAPÍTULO II	17
GLUTAMINE SUPPLEMENTATION OF CULTURE MEDIA FOR NILE TILAPIA IMMUNE CELLS.....	17
1. INTRODUCTION	19
2. MATERIAL AND METHODS	21
2.1. <i>Fish</i>	21
2.2. <i>Culture media</i>	21
2.4. <i>Respiratory Burst</i>	22
2.5. <i>Phagocytosis assay</i>	22
2.6. <i>Bactericidal assay</i>	23
2.7. <i>Lymphocyte primary culture</i>	24
2.8. <i>Proliferation assay</i>	24
2.9. <i>Statistical analysis</i>	25
3. RESULTS	25
3.1. <i>Respiratory Burst</i>	25
3.2. <i>Phagocytosis Assays</i>	25
3.3. <i>Bactericidal Activity</i>	26
3.4. <i>Cell Proliferation Assays</i>	26
4. DISCUSSION	26
5. REFERENCES.....	30
6. TABLES.....	35
Table 1. Respiratory burst activity and killing capacity of head kidney (HK)- derived leukocytes incubated with complete culture media (CCM) or supplemental levels of glutamine (Gln)	35

Table 2. Phagocytic capacity of Nile tilapia head kidney (HK)-derived leukocytes incubated with complete culture media (CCM) or supplemental levels of glutamine (Gln).....	35
Table 3. Proliferation capacity upon non-specific stimulation of head kidney (HK)-leukocytes and peripheral PB-Lymphocytes incubated with complete culture media (CCM) or supplemented levels of glutamine (Gln).....	36
CAPÍTULO III.....	37
SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA DE GLUTAMINA NO DESEMPENHO PRODUTIVO, MORFOLOGIA INTESTINAL, RESPOSTAS HEMÁTICAS, ENZIMÁTICAS E IMUNOLÓGICAS DA TILÁPIA-DO-NILO SUBMETIDA A DESAFIO BACTERIANO	37
1. INTRODUÇÃO	40
2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	42
3. MATERIAL E MÉTODOS	42
3.1. <i>Instalações (Estudo I)</i>	42
3.2. <i>Dietas Experimentais (Estudos I e II)</i>	43
3.3. <i>Desempenho Produtivo (Estudo I)</i>	43
3.4. <i>Desafio Bacteriano (Estudo II)</i>	44
3.5. <i>Análises químico-bromatológicas (Estudo I)</i>	45
3.6. <i>Morfometria Intestinal (Estudo I)</i>	45
3.7. <i>Análises hematológicas (Estudos I e II)</i>	46
3.8. <i>Enzimas antioxidantes dos tecidos epitelial e hepático (Estudo I)</i>	47
3.9. <i>Análises imunológicas (Estudos I e II)</i>	48
3.10. <i>Análises estatísticas</i>	50
4. RESULTADOS.....	50
4.1. <i>Desempenho produtivo</i>	50
4.2. <i>Morfometria intestinal e composição bromatológica corporal</i>	51
4.3. <i>Atividade antioxidante</i>	51
4.4. <i>Análises hematológicas</i>	52
4.5. <i>Análises imunológicas</i>	52
5. DISCUSSÃO	52
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57
7. TABELAS E FIGURAS	64
Tabela 1. Formulação (%) e composição analisada das dietas experimentais.....	64
Tabela 2. Perfil de aminoácidos totais e glutamina livre das dietas experimentais.	65

Tabela 3. Peso médio inicial (PI), peso médio final (PF), ganho de peso médio (GP), consumo médio de ração (CR), conversão alimentar (CA), taxa de crescimento específico (TCE) e sobrevivência (S) de juvenis de tilápia-do-nilo alimentados com dietas contendo níveis de suplementação de glutamina por 90 dias ¹	66
Tabela 4. Peso relativo do intestino (PRI), comprimento relativo do intestino (CRI), índice hepato-somático (IHS) e índice víscero-somático (IVS) de juvenis de tilápia-do-nilo alimentados com dietas contendo níveis de suplementação de glutamina por 90 dias ¹	67
Tabela 5. Morfometria intestinal de juvenis de tilápia-do-nilo alimentados com dietas contendo níveis de suplementação de glutamina por 90 dias ¹	68
Tabela 6. Valores de matéria original (MO), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e energia bruta (EB) corporal de juvenis de tilápia-do-nilo alimentados com dietas contendo níveis de suplementação de glutamina por 90 dias ¹	69
Tabela 7. Atividade antioxidante no intestino e fígado de juvenis de tilápia-do-nilo alimentados com dietas contendo níveis de suplementação de glutamina por 90 dias ¹	70
Tabela 9. Volume corpuscular média (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) de juvenis de tilápia-do-nilo alimentados com dietas contendo níveis de suplementação de glutamina antes e após desafio bacteriano por <i>Aeromonas hydrophila</i> ¹	72
Tabela 10. Proteína plasmática total (PPT), Albumina (ALB), globulina (GLOB) e relação albumina:globulina (A:G) de juvenis de tilápia-do-nilo alimentados com dietas contendo níveis de suplementação de glutamina antes e após desafio bacteriano por <i>Aeromonas hydrophila</i> ¹	73
Tabela 11. Atividade sérica de lisozima e produção de intermediários reativos do oxigênio e nitrogênio por monócitos de juvenis de tilápia-do-nilo alimentados com dietas contendo níveis de suplementação de glutamina antes e após desafio bacteriano por <i>Aeromonas hydrophila</i> ¹	74
Figura 1. Dispersão e equação de regressão polinomial para ganho de peso (A) e conversão alimentar (B) em função da suplementação de glutamina em dietas para juvenis de tilápia-do-nilo.	75
CAPÍTULO IV.....	76
IMPLICAÇÕES	76

CAPÍTULO I

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1.1. Aminoácidos: *classificação e funções*

As proteínas e seus blocos estruturais, os aminoácidos (AA), são compostos orgânicos presentes em todos os organismos vivos. Os AA podem se ligar, por meio de ligação peptídica covalente entre o grupo carboxiterminal de um aminoácido e o grupo aminoterminal do outro (BRODY, 1999). Um número qualquer de AA pode se ligar dessa forma, formando cadeias peptídicas. Uma molécula composta por dois AA é chamada dipeptídeo. Já os polipeptídeos são aqueles que apresentam número de AA de 3 a 20 em sua composição. As cadeias peptídicas que compõe uma proteína são lineares e não possuem ramificações, de forma que cada proteína apresenta em média 300 aminoácidos (BRODY, 1999). Cadeias peptídicas são ligadas por pontes de dissulfeto, ligações de hidrogênio e forças de van der Waals, que resultam na formação das estruturas secundárias, terciárias e quaternárias de proteínas (BUXBAUM, 2007).

Cada AA possui uma cadeia lateral distinta, que determina suas propriedades químicas. Dessa forma, o arranjo de AA em diferentes combinações e sequências dá origem a proteínas com propriedades e atividades diferentes. Assim, a partir desses blocos formadores, os organismos podem sintetizar enzimas, hormônios, anticorpos, transportadores, músculos, antibióticos, venenos, e uma infinidade de outras substâncias, cada uma delas apresentando atividades biológicas características (LEHNINGER, 2008).

Vinte AA primários são utilizados por células para a biossíntese de proteínas. Além dos AA primários encontrados nas proteínas, existe grande número de outros AA formados por modificações pós-translacionais. Essas modificações são essenciais para determinar funções e para regular a atividade de proteínas, por exemplo (NRC, 2011). A maioria dos microrganismos e plantas conseguem biossintetizar os 20 AA primários, enquanto os animais devem obter parte destes da dieta.

Em função das necessidades da dieta para o balanço de nitrogênio ou crescimento, AA são tradicionalmente classificados como essenciais (AAE), não essenciais (AANE) e condicionalmente essenciais (ACE), tanto para humanos quanto para animais (WU, 2009). Os AA essenciais (EAA) são definidos como aqueles cujo esqueleto de carbono não pode ser sintetizado ou não são adequadamente sintetizados *de novo* em relação às necessidades, devendo ser fornecidos por meio da dieta para satisfazer exigências.

Aminoácidos condicionalmente essenciais são aqueles que podem ser sintetizados em quantidades adequadas pelo organismo em condições normais, mas que devem ser fornecidos por meio da dieta para satisfazer as necessidades ótimas em determinadas condições em que as taxas de utilização são maiores do que as taxas de síntese. No entanto, as necessidades funcionais (reprodução, prevenção de doenças, etc), também devem ser critério de classificação de AAE ou condicionalmente essenciais. Os AANE são aqueles que podem ser sintetizados *de novo* por meio de precursores produzindo quantidades adequadas para satisfazer exigências ideais, não havendo necessidade de suplementação por meio da dieta. Deve ser considerado que os 20 AA primários e seus metabólitos são necessários para a fisiologia normal das células e suas funções (EL IDRISSE, 2008; LUPI et al., 2008; NOVELLI e TASKER, 2008; PHANG et al., 2008).

O metabolismo anormal de um AA prejudica a homeostase, assim como o crescimento e desenvolvimento podendo até causar a morte (ORLANDO et al., 2008; WILLIS et al., 2008; WU et al., 2004). Além de seu papel como “blocos de construção” das proteínas e polipeptídeos, alguns AA são importantes reguladores de vias metabólicas que são necessárias para a manutenção, crescimento, reprodução e imunidade nos organismos, maximizando a eficiência de utilização dos alimentos, aumentando a deposição de proteína, reduzindo a adiposidade e melhorando a higidez (SUENAGA et al., 2008; WU et al., 2007). Eles são chamados de AA funcionais, incluindo a arginina (Arg), cisteína (Cis), glutamina (Gln), leucina (Leu), prolina (Pro) e triptofano (Trp) (WU, 2009). Para organismos aquáticos, a classificação dos aminoácidos pode ser observada na Tabela 1.

Tabela 1. Classificação dos aminoácidos para peixes

AA Essenciais	AA Não essenciais	AA Condicionalmente essenciais
Arginina	Alanina	Cisteína
Fenilalanina	Asparagina	Glutamina
Histidina	Aspartato	Hidroxiprolina
Isoleucina	Glutamato	Prolina
Leucina	Glicina	Taurina
Lisina	Serina	
Metionina	Tirosina	
Treonina		
Triptofano		
Valina		

(Adaptado de Li et al., 2009)

1.2. Glutamina

A glutamina (Gln) é abundante no plasma sanguíneo, músculo esquelético, fluidos fetais e no leite (WU e KNABE, 1994; NEWSHOLME e CALDER, 1997; SELF et al., 2004). Nos peixes, é um dos AA livres mais abundantes, tanto no plasma como no tecido muscular, enquanto o glutamato (Glu) e seus produtos descarboxilados (GABA) são neurotransmissores presentes em altas concentrações no cérebro (LI et al., 2009). A Gln é sintetizada pela glutamina sintetase (GS) citosólica em muitos tecidos, sendo degradada pela glutaminase (GA) mitocondrial e utilizada por outros tecidos que não são capazes de sintetizá-la (LABOW et al., 2001; KARINCH et al., 2001); sendo assim, o metabolismo da Gln é modulado pela GS e GA (LABOW et al., 2001.) (Fig. 1).

A Gln e o Glu são classificados como AANE para a maioria dos animais de produção; porém podem se tornar AACE devido à síntese endógena ser incapaz de satisfazer às exigências imediatas dos animais em determinadas circunstâncias, como situações de estresse, por exemplo. Desta forma, a Gln se destaca por ser precursora na síntese de purinas, nucleotídeos de pirimidina, nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD) e amino açúcares em todas as células (KREBS et al., 1980; D'MELLO et al., 2003; LI et al., 2009). Também é importante combustível para as células de rápida divisão incluindo linfócitos ativados e células do epitélio intestinal (KREBS et al., 1980; WINDMUELLER e SPAETH, 1980; WU et al., 1995c).

O trato gastrointestinal é um dos principais órgãos de consumo e utilização de glutamina e também o local onde ocorre sua conversão em outros aminoácidos

(WINDMUELLER e SPAETH, 1980). A Gln e o Glu são intercambiáveis como importante substrato para o sistema celular da mucosa (REEDS e BURRIN, 2001).

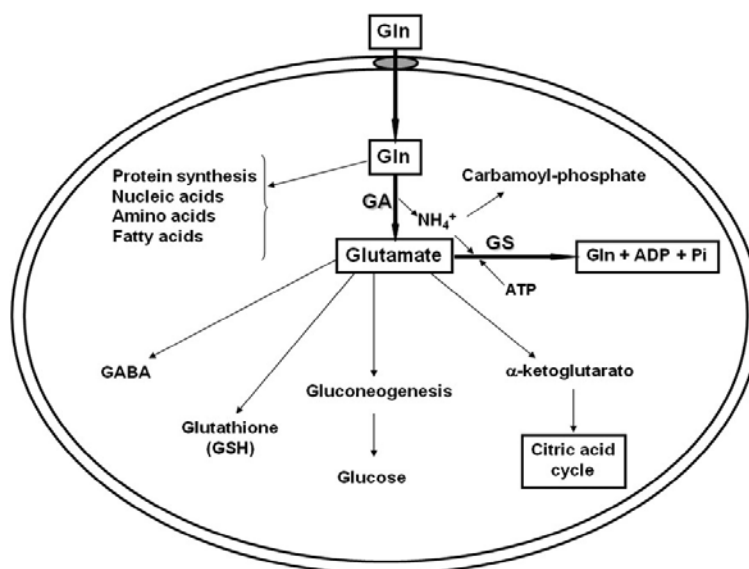


Fig. 1 - Metabolismo de glutamina (Gln). A glutamina é sintetizada pela ação da glutamina sintetase (GS) e degradada pela glutaminase mitocondrial (GA). A glutamina pode ser sintetizada pela maioria dos tecidos em glutamato e amônia. A amônia pode ser utilizada para sintetizar fosfato de carbamoil. O glutamato pode formar α -cetoglutarato, glicose no fígado e nos rins, glutatona na maioria das células e ácido gama-aminobutírico (GABA) nos neurônios.

A Gln tem função principalmente regulatória ao ativar uma série de genes associados com o ciclo de desenvolvimento das células da mucosa intestinal, de modo que a inibição da síntese desse AA prejudica, tanto a proliferação, quanto a diferenciação de culturas de células da mucosa (RHOADS et al., 1997; BLIKSLAGER et al., 1999; REEDS e BURRIN, 2001). Apresenta também importante função como precursora de n-acetilglucosamina e n-acetilgalactosamina, moléculas utilizadas na síntese de mucina, que garante a eficiência das junções de oclusão, estruturas que atuam como barreiras passivas de entrada bacteriana na mucosa intestinal (WU et al., 1995b).

A mucosa intestinal é constituída por inúmeros tipos celulares, cada qual com sua função específica. Dentre essas células, pode-se destacar as secretoras, imunes, neuroendócrinas, além dos inúmeros enterócitos absorptivos. Dessa forma, o intestino recebe estímulos do ambiente, nutricionais e antigênicos, atuando na triagem imunológica e na defesa, gerando também respostas endócrinas ao lúmen (BURRIN et al., 2000).

Durante os processos metabólicos, os organismos aeróbios produzem de forma contínua espécies reativas de oxigênio (EROs), que possuem ação oxidante. O desequilíbrio entre substâncias oxidantes e antioxidantes, em favor das oxidantes, é chamado de estresse oxidativo (Sies, 1985). O estresse oxidativo pode afetar macromoléculas como proteínas, carboidratos, ácidos nucleicos e lipídios (Finkel e Holbrook, 2000). Dessa forma, mecanismos antioxidantes foram desenvolvidos para remoção ou neutralização do excesso de EROs. Esses mecanismos são constituídos por enzimas como a superóxido dismutase (SOD), glutathiona peroxidase (GPx) e a catalase (CAT), além de antioxidantes não-enzimáticos, tais como glutathiona (GSH), vitaminas E e C (WILHELM, 1996).

Como uma das principais fontes de Glu, a Gln regula a síntese de glutathiona, tripeptídeo crucial para proteger as células contra o estresse oxidativo (WU et al., 2004). Esse efeito pôde ser observado em estudo *in vitro* com células epiteliais isoladas de carpa (*Cyprinus carpio* var. Jian), onde a suplementação de Gln se mostrou efetiva na proteção contra o estresse oxidativo induzido por peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (CHEN et al., 2009). O papel da Gln na síntese da glutathiona sugere que a disponibilidade deste nutriente pode ter efeito significativo sobre a regulação do estado redox celular (ZHU et al., 2011). Além disso, como precursor essencial para a síntese de purinas e nucleotídeos de pirimidina, a Gln é necessária para a proliferação de linfócitos (ARDAWI e NEWSHOLME, 1983; WU et al., 1992). O aumento das concentrações extracelulares de Gln de 0,01 para 0,50 mM (nível fisiológico no plasma) determinou aumento da proliferação de linfócitos de ratos quando estimulados por mitógenos *in vitro* (WU et al., 1992).

A Gln é essencial para a resposta imune nos peixes, pois atua como importante substrato energético para leucócitos e é modulador chave de citocinas atuando na produção de óxido nítrico (BUENTELLO e GATLIN, 1999; LI et al., 2007). Há evidências de que a Gln é necessária para a síntese de óxido nítrico em macrófagos e monócitos por meio da síntese de arginina. De fato, a arginina derivada da Gln, parece ser essencial para a atividade de macrófagos (MURPHY e NEWSHOLME, 1998). Mitógenos, alterações no volume celular, citosinas inflamatórias e o equilíbrio ácido-base são importantes reguladores do metabolismo da Gln em leucócitos (WU e FLYNN, 1995; NEWSHOLME et al., 2003). Por meio da amoniogênese renal, a Gln desempenha papel

importante na regulação do equilíbrio osmótico corporal (LI et al., 2009). Apesar de estimular a síntese de proteína muscular em mamíferos (WU et al. 2007), essa informação ainda não está confirmada para peixes.

1.3. Glutamina na nutrição e saúde de peixes

A suplementação dietética de Gln melhora o ganho de peso e a eficiência alimentar em diferentes espécies de mamíferos e aves. Nesses animais, a Gln não só impede a atrofia da mucosa intestinal, mas também promove o crescimento do intestino, aumenta o altura das vilosidades no duodeno e jejuno, além de exercer outros efeitos favoráveis (YI et al., 2001; KITT et al., 2002; YI et al., 2005; ZOU et al., 2006; BARTELL e BATAL, 2007; MURAKAMI et al., 2007; WANG et al., 2008; SOLTAN, 2009; WU et al., 2011). Efeitos similares como aumento nas taxas de ganho de peso, eficiência alimentar, peso intestinal, estruturas histológicas e/ou atividades de enzimas digestivas, também têm sido relatados em várias espécies de peixes. Yan e Qiu-Zhou (2006) avaliaram a suplementação de Gln no desempenho produtivo e características morfo-funcionais do intestino de juvenis de carpas (*Cyprinus carpio* var. Jian). Os autores observaram que peixes que consumiram a dieta com 1,2% de Gln apresentaram maior taxa de crescimento e maior desenvolvimento do intestino.

Em estudo *in vitro*, Jiang et al. (2009) avaliaram os efeitos da suplementação de Gln e vitamina E no crescimento e capacidade antioxidante de enterócitos de carpa e concluíram que a Gln de fato contribuiu para o desenvolvimento das células intestinais porém apresentou efeitos limitados na capacidade antioxidante.

Silva et al. (2010) avaliaram os efeitos da suplementação da combinação de L-glutamina e L-glutamato em dietas para juvenis de tilápia-do-nilo no desempenho produtivo, composição corporal, morfometria da mucosa intestinal, e amônia e ureia sanguíneas. A conclusão foi que a adição de 1,67% dos aminoácidos melhorou o ganho de peso e promoveu o desenvolvimento da mucosa intestinal de juvenis de tilápia-do-nilo.

Associando arginina e Gln, Cheng et al. (2011) avaliaram o desempenho, resposta imune e a estrutura intestinal de red drum (*Sciaenopsis ocellatus*) e observaram melhor eficiência alimentar, maior desenvolvimento intestinal e melhor resposta imune em peixes que consumiram a dieta suplementada com esses aminoácidos. Porém, pesquisas ainda são necessárias para elucidar os mecanismos moleculares pelos quais esses AA

regulam o crescimento e a resposta imunológica em peixes. Em outro estudo, Cheng et al. (2012) avaliaram o desempenho, resposta imune e morfologia intestinal de híbridos de striped bass (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*) alimentados com dietas suplementadas com arginina e glutamina. Os resultados desse estudo foram semelhantes aos do estudo anterior, de forma que observaram melhora no desempenho produtivo e resposta imune inespecífica, assim como melhor desenvolvimento do intestino.

Em estudo com o bagre-do-canal (*Ictalurus punctatus*), Pohlenz et al. (2012) avaliaram os efeitos da suplementação de 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 e 3,0% de Gln sobre a morfologia intestinal, taxas de migração de enterócitos, perfil de aminoácidos plasmáticos e desempenho produtivo dessa espécie. Os níveis de inclusão de Gln não afetaram o perfil de AA no plasma e o desempenho produtivo dos peixes, por outro lado, peixes que receberam dietas com 2,0 e 3,0% de Gln apresentaram aumento nas taxas de migração de enterócitos e melhora nas características morfológicas do intestino.

Qiyou et al. (2011) observaram melhora no desempenho produtivo e digestão/absorção intestinal em juvenis de híbridos de esturjão (*Acipenser schrenckii* ♀ x *Huso dauricus* ♂) alimentados com dietas suplementadas com Alanyl-Glutamina e glutamina. Peixes que consumiram dietas com mais de 0,9% de glutamina e de 1,0% de Alanyl-Glutamina apresentaram maior taxa de ganho de peso, maior atividade das enzimas digestivas (protease, amilase, lipase e Na⁺, K⁺ - ATPase) e antioxidantes (GPx e SOD), além de aumento na altura de vilosidades intestinais. Zhu et al. (2011), trabalhando com híbridos de esturjão, observaram melhora significativa na atividade das enzimas GPx e SOD nos tecidos analisados (hepatopâncreas, músculo e soro), além de maiores níveis de glutathione na forma reduzida e menores níveis de malanoaldeídos. Houve ainda efeito positivo nas características imunológicas, como atividade da lisozima e do sistema complemento (C3 e C4) com a suplementação de 1% de alanyl-glutamina e níveis entre 0,9 e 1,2% de glutamina.

Caballero-Solares et al. (2015) avaliaram os efeitos da suplementação de Gln e Glu no desempenho produtivo, composição corporal e expressão de enzimas-chave no metabolismo hepático do gilthead seabream (*Sparus aurata*). Foi observado que a suplementação com glutamato determinou resposta positiva no metabolismo de glicose no fígado, o que poderia facilitar a substituição de proteínas por carboidratos em rações para peixes marinhos. Os resultados mostraram ainda que a glutamina parece ser

preferencialmente oxidada ao invés dos demais aminoácidos provenientes da quebra de proteínas, promovendo a retenção proteica.

Hu et al. (2015) conduziram estudo com juvenis de carpa (*Cyprinus carpio* var. Jian) para avaliar os efeitos da suplementação de glutamina no desempenho produtivo, produção de citocinas, alvos da rapamicina (TOR), além de parâmetros do sistema antioxidante no baço e rim cefálico. A suplementação dietética de glutamina promoveu melhora nos parâmetros de desempenho produtivo e componentes do sistema de imunidade inespecífica, como atividade de lisozima e concentração de proteínas do sistema complemento C3 e C4. Além disso, promoveu a expressão de genes relacionados à produção de citocinas, atividade das TOR-quinases e das enzimas do sistema antioxidante.

Zhang et al. (2017) concluíram que a suplementação dietética de Gln e Arg não teve efeito positivo sobre o desempenho produtivo de juvenis de “turbot” (*Scophthalmus maximus* L.); porém melhorou significativamente a resposta imune não-específica. Por outro lado, Pereira et al. (2017) relataram que a suplementação dietética de Gln e Arg proporcionou melhora no ganho de peso e eficiência alimentar, bem como resultou em melhor taxa de retenção e deposição de proteínas em juvenis de tilápia-do-nilo. Os autores verificaram efeito sinérgico da suplementação desses aminoácidos no desempenho produtivo, porém efeitos limitados nas respostas imunológicas não-específicas como *burst* respiratório e atividade de lisozima sérica.

Além dos efeitos positivos da Gln no desempenho produtivo e capacidade antioxidante de juvenis de carpa (*Cyprinus carpio* var. Jian), foi demonstrado por Li et al. (2017) que a suplementação desse aminoácido pode melhorar a integridade dos eritrócitos nos peixes. Os resultados mostraram ainda que os efeitos da Gln sobre os eritrócitos são parcialmente dependentes dos metabólitos produzidos a partir de sua quebra. A alanina, citrulina e prolina geradas a partir desse processo poderiam ter função antioxidante ou atuar na inibição da apoptose de eritrócitos em peixes.

Com base nos resultados apresentados, se torna claro o potencial de utilização da glutamina em dietas para peixes de diversas espécies. Entretanto, poucos estudos abordam a suplementação desse aminoácido em dietas para a tilápia-do-nilo. Essa espécie apresenta grande importância econômica no Brasil e no Mundo, o que fez com que

estudos relacionados a sua nutrição e saúde recebessem mais atenção nos últimos anos. Desse modo, foram realizados os estudos apresentados nos capítulos II e III.

O Capítulo II, intitulado “Glutamine supplementation of culture media for Nile tilapia immune cells” se apresenta de acordo com as normas para publicação do periódico *Fish and Shellfish Immunology* (Fator de impacto: 3.025). O objetivo específico desta pesquisa foi avaliar a capacidade imunomoduladora da glutamina por meio de estudos *in vitro* utilizando células do sistema imunológico da tilápia-do-nilo.

O Capítulo III, intitulado “Suplementação dietética de glutamina no desempenho produtivo, morfologia intestinal, respostas hemáticas, enzimáticas e imunológicas da tilápia-do-nilo submetida a desafio bacteriano” se apresenta de acordo com as normas para publicação do periódico *Aquaculture* (Fator de impacto: 1.893). Esta pesquisa teve por objetivo específico avaliar os efeitos da suplementação dietética de glutamina na nutrição e saúde de juvenis de tilápia-do-nilo submetidos ao desafio bacteriano por *Aeromonas hydrophila*.

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARDAWI, M.S.M.; NEWSHOLME, E.A. Glutamine metabolism in lymphocytes of the rat. **Biochemical Journal**, v.212, p.835-842, 1983.
- BARTELL, S.M.; BATAL, A.B. The effect of supplemental glutamine on growth performance, development of the gastrointestinal tract, and humoral immune response of broilers. **Poultry Science**, v.86, p.1940–1947, 2007.
- BLIKSLAGER, A.T.; RHOADS, J.M.; BRISTOL, D.G.; ROBERTS, M.C.; ARGENZIO, R.A. Glutamine and transforming growth factor-alpha stimulate extracellular regulated protein kinase and enhance recovery of villous surface area in porcine ischemic-injured intestine. **Surgery**, v. 125, p.186-194, 1999.
- BROODY, T. **Nutritional Biochemistry: Classification of biological structure**. 2. ed, San Diego: Academic Press, 1999.
- BUENTELLO, J.A.; GATLIN III, D.M. Nitric oxide production in activated macrophages from channel catfish *Ictalurus punctatus*/: influence of dietary arginine and culture media. **Aquaculture**, v.179, p. 513–521, 1999.
- BURRIN, D.G.; STOLL, B.; JIANG, R.; CHANG, X.; HARTMANN, B.; HOLST, J.J.; GREELEY, G.H.; REEDS, P.J. Minimal enteral nutrient requirements for intestinal growth in neonatal pigs: how much is enough. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.71, p.1603-1610, 2000.
- BUXBAUM, E. **Fundamentals of Protein Structure and Function**. New York: Springer, 2007.
- CABALLERO-SOLARES, A; VIEGAS, I.; SALGADO, M. C.; SILES, A. M.; SÁEZ, A.; METÓN, I.; BAANANTE, I. V.; FERNÁNDEZ, F. Diets supplemented with glutamate or glutamine improve protein retention and modulate gene expression of key enzymes of hepatic metabolism in gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. **Aquaculture**, v.444, p.78–87, 2015.
- CHEN, J.; ZHOU, X. Q.; FENG, L.; LIU, Y.; JIANG, J. Effects of glutamine on hydrogen peroxide-induced oxidative damage in intestinal epithelial cells of Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). **Aquaculture**, v.288, p.285–289, 2009.

- CHENG, Z.; BUENTELLO, A.; GATLIN III, D.M. Effects of dietary arginine and glutamine on growth performance, immune responses and intestinal structure of red drum, *Sciaenops ocellatus*. **Aquaculture**, v.319, p.247–252, 2011.
- CHENG, Z.; GATLIN III, D.M.; BUENTELLO, A. Dietary supplementation of arginine and/or glutamine influences growth performance, immune responses and intestinal morphology of hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*). **Aquaculture**, v.43, p.362–363, 2012.
- D'MELLO, J.P.F. **Amino acids in animal nutrition**. 2. ed. Wallingford: CABI Publishing, 2003.
- EL IDRISSE, A. Taurine increases mitochondrial buffering of calcium: role in neuroprotection. **Amino Acids**, v.34, p.321–328, 2008.
- HU, K.; ZHANG, J. X.; FENG, L.; JIANG, W. D.; WU, P.; LIU, Y.; JIANG, J.; ZHOU, X.Q. Effect of dietary glutamine on growth performance, non-specific immunity, expression of cytokine genes, phosphorylation of target of rapamycin (TOR), and antioxidative system in spleen and head kidney of Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 41, p. 635-649, 2015.
- JIANG, J.; ZHENG, T.; ZHOU, X.Q.; LIU, Y.; FENG, L. Influence of glutamine and vitamin E on growth and antioxidant capacity of fish enterocytes. **Aquaculture Nutrition**, v.15, p.409–414, 2009.
- KARINCH, A.M.; PAN, M.; LIN, C.M.; STRANGE, R.; SOUBA, W.W. Glutamine metabolism in sepsis and infection. **The Journal of Nutrition**, v.131, p.2535–2538, 2001.
- KITT, S.J.; MILLER, P.S.; LEWIS, A.; FISCHER, R.L. Effects of glutamine on growth performance and small intestine villus height in weanling pigs. **Nebraska Swine Reports**. University of Nebraska, Lincoln, Nebraska, p.29–32, 2002.
- KREBS, H.A.; BAVEREL, G.; LUND, P. Effect of bicarbonate on glutamine metabolism. **International Journal of Biochemistry**, v.12, p.69–73, 1980.
- LABOW, B.I.; SOUBA, W.W.; ABCOWER, S.F. Mechanisms governing the expression of the enzymes of glutamine metabolism – Glutaminase and Glutaminase Synthetase. **The Journal of Nutrition**, v.131, p.2467–2474, 2001.
- LI, P.; YIN, Y.L.; LI, D.F.; KIM, S.W.; WU, G. Amino acids and immune function. **The British Journal of Nutrition**, v. 98, p. 237–252, 2007.

- LI, P.; MAI, K.; TRUSHENSKI, J.; WU, G. New developments in fish amino acid nutrition: towards functional and environmentally oriented aquafeeds. **Amino Acids**, v.37, p.43–53, 2009.
- LI, H. T.; JIANG, W. D.; LIU, Y.; JIANG, J.; ZHANG, Y. A.; WU, P.; ZENG, Y.; ZHOU, X.; FENG, L. Dietary glutamine improves the function of erythrocytes through its metabolites in juvenile carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). **Aquaculture**, in press, 2017.
- LUPI, A.; TENNI, R.; ROSSI, A. Human prolidase and prolidase deficiency. **Amino Acids**, v.35, p.739–752, 2008.
- MURAKAMI, A.E.; SAKAMOTO, M.I.; NATALI, M.R.M.; SOUZA, L.M.G.; FRANCO, J.R.G. Supplementation of glutamine and vitamin E on the morphometry of the intestinal mucosa in broiler chickens. **Poultry Science**, v.86, p.488–495, 2007.
- MURPHY, C.; NEWSHOLME, P. Importance of glutamine metabolism in murine macrophages and human monocytes to L-arginine biosynthesis and rates of nitrite or urea production. **Clinical Science**, v.89, p.397–407, 1998.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrient Requirements of Fish and Shrimp**. National Academic Press, Washington, DC, 2011.
- NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger Principles of Biochemistry**, 5th ed.; W. H. Freeman: New York, 2008.
- NEWSHOLME, E.A.; CALDER, P.C. The proposed role of glutamine in some cells of the immune system and speculative consequences for the whole animal. **Nutrition**, v.13, p.728–730, 1997.
- NEWSHOLME, P.; PROCOPIO, J.; LIMA, M.M.R.; PITHON-CURI, T.C. CURI, R. Glutamine and glutamate – their central role in cell metabolism and function. **Cellular Biochemistry and Function**, v.21, p.1–9, 2003.
- NOVELLI, A.; TASKER, R.A.R. Excitatory amino acids in epilepsy: from the clinics to the laboratory. **Amino Acids**, v.32, p.295–297, 2008.
- ORLANDO, G.F.; WOLF, G.; ENGELMANN, M. Role of neuronal nitric oxide synthase in the regulation of the neuroendocrine stress response in rodents: insights from mutant mice. **Amino Acids**, v.35, p.17–27, 2008.

- PEREIRA, R. T.; ROSA, P. V.; GATLIN III, D. M. Glutamine and arginine in diets for Nile tilapia: Effects on growth, innate immune responses, plasma amino acid profiles and whole-body composition. **Aquaculture**, v.473, p.135-144, 2017.
- PHANG, J.M.; DONALD, S.P.; PANDHARE, J.; LIU, Y. The metabolism of proline, as a stress substrate, modulates carcinogenic pathways. **Amino Acids**, v.35, p.681–690, 2008.
- POHLENZ, C.; BUENTELLO, A.M.B.; GATLIN III, D.M. Free dietary glutamine improves intestinal morphology and increases enterocyte migration rates, but has limited effects on plasma amino acid profile and growth performance of channel catfish *Ictalurus punctatus*. **Aquaculture**, v.370–371, p.32–39, 2012.
- QIYOU, X.; QING, Z.; HONG, X.; CHANG, W.; DAJIANG, S. Dietary glutamine supplementation improves growth performance and intestinal digestion/absorption ability in young hybrid sturgeon (*Acipenser schrenckii* ♀ × *Huso dauricus* ♂). **Journal of Applied Ichthyology**, v.27, p.721–726, 2011.
- REEDS, P.J.; BURRIN, D.G. Glutamine and the bowel. **The Journal of Nutrition**, v.131, p-2505-2508, 2001.
- RHOADS, J.M.; ARGENZIO, R.A.; CHEN, W.; RIPPE, R.A.; WESTWICK, J.K.; COX, A.D.; BERSCHNEIDER, H.M.; BRENNER, D.A. L-glutamine stimulates intestinal cell proliferation and activates motogen-activated protein kinase. **American Journal of Physiology**, v. 272, p.943-953, 1997.
- SILVA, L.C.A.R.; FURUYA, W.M.; NATALI, M.R.M.; SCHAMBER, C.R.; SANTOS, L.D.; VIDAL, L.V.O. Desempenho e morfometria intestinal de juvenis de tilápia-do-nylo alimentados com dietas suplementadas com L-glutamina e Lglutamato. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.1175-1179, 2010.
- SOLTAN, M.A. Influence of dietary glutamine supplementation on growth performance, small intestinal morphology, immune response and some blood parameters of broiler chickens. **International Journal of Poultry Science**, v.8, p.60–68, 2009.
- SUENAGA, R.; TOMONAGA, S.; YAMANE, H. Intracerebroventricular injection of L-arginine induces sedative and hypnotic effects under an acute stress in neonatal chicks. **Amino Acids**, v.35, p.139–146, 2008.

- WANG, J.; CHEN, L.; LI, P.; LI, X., ZHOU, H.; WANG, F.; LI, D.; YIN, Y.; WU, G.
Gene expression is altered in piglet small intestine by weaning and dietary glutamine supplementation. **Journal of Nutrition**, v.138, p.1025–1032, 2008.
- WILHELM FILHO, D. Fish antioxidant defenses – A comparative approach. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.29, p.1735-1742, 1996.
- WILLIS, A.; BEANDER, H.U.; STEEL, G.; VALLE, D. PRODH variants and risk for schizophrenia. **Amino Acids**, v.35, p.673–679, 2008.
- WINDMUELLER, H.G.; SPAETH, A.E. Respiratory fuels and nitrogen metabolism *in vivo* in small intestine of fed rats. Quantitative importance of glutamine, glutamate, and aspartate. **Journal of Biological Chemistry**. v.255, p.107–112, 1980.
- WU, G.; FIELD, C.J.; MARLISS, E.B. Enhanced glutamine and glucose metabolism in cultured rat splenocytes stimulated by phorbol myristate acetate plus ionomycin. **Metabolism**, v.41, p.982–988, 1992.
- WU, G.; KNABE, D.A. Free and protein-bound amino acids in sow's colostrum and milk. **The Journal of Nutrition**, v.124, p.415–424, 1994.
- WU, G.; FLYNN, N.E.; YAN, W.; BARSTOW, D.G. Glutamine metabolism in chick enterocytes: absence of pyrroline-5-carboxylase synthase and citrulline synthesis. **Biochemistry Journal**, v.306, p.717–721, 1995a.
- WU, G.; FLYNN, N.E. Regulation of glutamine and glucose metabolism by cell volume in lymphocytes and macrophages. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1243, p.343–350, 1995b.
- WU, G.; KNABE, D.A.; YAN, W.; FLYNN, N.E. Glutamine and glucose metabolism in enterocytes of the neonatal pig. **American Journal of Physiology**, v.37, p.334-342, 1995c.
- WU, G., MEIER, S.A., KNABE, D.A. Dietary glutamine supplementation prevents jejunal atrophy in weaned pigs. **Journal of Nutrition**, v.126, p.2578–2585, 1996.
- WU, G.; BAZER, F.W.; CUDD, T.A. Maternal nutrition and fetal development. **The Journal of Nutrition**, v.134, p.2169–2172, 2004.
- WU, G.; BAZER, F.W.; DAVIS, T.A.; JAEGER, L.A.; JOHNSON, G.A.; KIM, S.W.; KNABE, D.A.; MEININGER, C.J.; SPENCER, T.E.; YIN, Y.L. Important roles of the arginine family 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.; BAZER, F.W.; JOHNSON, G.A.; KNABE, D.A.; BURGHARDT, R.C.; SPENCER, T.E.; LI, X.L.; WANG, J.J. Important roles for L-glutamine in swine nutrition and production. **Journal of Animal Science**, v.89, p.2017–2030, 2011.
- YAN, L.; QIU-ZHOU, X. Dietary glutamine supplementation improves structure and function of intestine of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). **Aquaculture**, v.256, p.389-394, 2006.
- YI, G.F.; ALLEE, G.L.; FRANK, J.W.; SPENCER, J.D.; TOUCHETTE, K.J. Impact of glutamine, menhaden fish meal, and spray-dried plasma on the growth and intestinal morphology of broilers. **Poultry Science**, v.80, 2001.
- YI, G.; ALLEE, G.; KNIGHT, C.; DIBNER, J. Impact of glutamine and Oasis hatchling supplement on growth performance, small intestinal morphology, and immune response of broilers vaccinated and challenged with *Eimeria maxima*. **Poultry Science**, v.84, p.283–293, 2005.
- ZHANG, K.; MAI, K.; XU, W.; LIUFU, Z.; ZHANG, Y.; PENG, M.; CHEN, J.; AI, Q. Effects of dietary arginine and glutamine on growth performance, nonspecific immunity, and disease resistance in relation to arginine catabolism in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.). **Aquaculture**, v.468, p.246-254, 2017.
- ZHU, Q.; XU, Q.Y.; XU, H.; WANG, C.A.; SUN, D.J. Dietary glutamine supplementation improves tissue antioxidant status and serum non-specific immunity of juvenile Hybrid sturgeon (*Acipenser schrenckii* ♀ x *Huso dauricus* ♂). **Journal of Applied Ichthyology**, v.27, p.715–720, 2011.
- ZOU, X.T.; ZHENG, G.H.; FANG, X.J.; JIANG, J.F. Effects of glutamine on growth performance of weanling piglets. **Czech Journal of Animal Science**, v.51, p.444–448, 2006.

CAPÍTULO IV

IMPLICAÇÕES

IMPLICAÇÕES

A aquicultura assume papel importante na produção de proteína animal para o consumo humano e as tendências mostram que sua importância para as gerações futuras será ainda maior, uma vez que essa atividade tem apresentado crescimento anual superior ao das demais indústrias de produção animal nas últimas décadas. Apesar da incidência de doenças ser considerada rotineira na produção animal, a intensificação dos sistemas de produção tem aumentado a disseminação e surto de doenças infecciosas. Assim, o estudo dos mecanismos de defesa e a compreensão de como nutrir e modular os diferentes componentes do sistema imunológico de peixes são cruciais para a prevenção, tratamento e controle de doenças. É sabido que a nutrição adequada é fundamental não apenas para atingir taxas de crescimento ótimas, mas também para manter a saúde dos peixes cultivados, fazendo com que estudos voltados à nutrição e saúde de peixes recebam destaque nos últimos anos.

A utilização da Gln objetivando melhor desempenho produtivo e melhores condições de saúde estão comprovadas por este estudo. Os resultados do estudo *in vivo* demonstram o potencial da Gln como melhorador de desempenho para essa espécie, uma vez que sua suplementação teve influência positiva nas características morfométricas do intestino, resultando em maior eficiência alimentar e ganho de peso. Sua ação na saúde foi também comprovada pela melhora na produção de moléculas importantes do sistema antioxidante e na resposta imunológica. Embora a suplementação de Gln tenha apresentado efeitos pontuais na resposta imune, como o aumento da concentração sérica de lisozima, esses efeitos não puderam ser avaliados de forma conclusiva pelo desafio bacteriano.

Vale ressaltar que os resultados foram obtidos utilizando-se dietas peletizadas, em função da estabilidade térmica do produto. Essa informação é importante para a indústria animal, uma vez que as dietas para peixes são, em sua maioria, extrudadas, processo no qual os ingredientes são submetidos à elevadas temperaturas e pressão. Dessa forma, novos estudos são necessários com o intuito de avaliar diferentes fontes de Gln. Atualmente, estão disponíveis no mercado fontes termo-resistentes desse aminoácido possibilitando novos estudos.

O estudo *in vitro* foi realizado com o intuito de elucidar alguns dos mecanismos de ação da Gln em células do sistema imune da tilápia-do-nilo. Com base nos resultados desse estudo, foi possível confirmar algumas das funções desse aminoácido já descritas em vertebrados superiores e outras espécies de peixes. A suplementação de Gln se mostrou essencial na atividade dos leucócitos, aumentando sua capacidade fagocítica, produção de substâncias bactericidas e, conseqüente, capacidade de eliminação de agentes invasores. Adicionalmente, a inclusão desse aminoácido nos meios de cultura teve influência positiva na proliferação de linfócitos. Apesar dessa característica já ter sido identificada em outros animais, esse foi o primeiro relato da ação da Gln na proliferação de linfócitos da tilápia-do-nilo, especificamente. Os resultados obtidos nesse estudo são interessantes pois destacam a importância da inclusão desse aminoácido em meios de cultura de células do sistema imune da tilápia-do-nilo constituindo informação valiosa e que deve ser considerada em estudos *in vitro* posteriores. Dados relacionados à influência da glutamina na liberação de citocinas e outros mediadores celulares necessitam, ainda, de estudos adicionais. Desta forma fica evidenciada a possibilidade de uso da Gln como aminoácido funcional, pela indústria de dietas para tilápia-do-nilo.