

## Efecto de la glutamina y aminoácidos de cadena ramificada en los parámetros hematológicos y bioquímicos de cachorros caninos

Mena, R.P.<sup>1,2</sup>; LlumiQuinga, T.I.<sup>1</sup>; Quisirumbay, J.R.<sup>1</sup>; Villanueva, M.E.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Facultad Medicina Veterinaria y Zootecnia, Univ. Central del Ecuador, Quito.

<sup>2</sup>Doct. Ciencia Anim., Facult. Zoot. Postgrado, Univ. Nac. Agr. La Molina, Lima, Perú.

E-mail: [rpmena@uce.edu.ec](mailto:rpmena@uce.edu.ec).

### Resumen

**Mena, R.P.; LlumiQuinga, T.I.; Quisirumbay, J.R.; Villanueva, M.E.: Efecto de la glutamina y aminoácidos de cadena ramificada en los parámetros hematológicos y bioquímicos de cachorros caninos.** *Rev. Vet. 33: 2, 169-176, 2022.* El objetivo del estudio fue determinar la influencia de glutamina (GLN) y BCAAs (leucina, isoleucina y valina) sobre los parámetros hematológicos y bioquímicos de los cachorros. Se reclutaron 31 cachorros mestizos de 30 días, provenientes de cuatro camadas. Aleatoriamente en cada camada se estableció un grupo control (sin suplemento) y 3 tratamientos: T1 (GLN 0,5 g/kg/día/PO), T2 (BCAAs, 0,25 g/kg/día/PO) y T3 (GLN 0,5 g/kg+BCAAs 0,25 g/kg/día/PO), que se mantuvieron 90 días en ambiente controlado en igualdad de condiciones, alimentados dos veces al día individualmente, las muestras se tomaron a los 30 y 120 días de edad. Se aplicó un diseño en bloques al azar empleando a la camada como factor de bloque, se realizaron estadísticas descriptivas y pruebas de normalidad, además ANOVA para verificar variaciones entre tratamientos y Tukey para posicionar los tratamientos. A los 30 días las medias y rangos de los parámetros hematológicos y bioquímicos fueron similares. A los 120 días en los parámetros hematológicos se determinaron diferencias ( $p < 0,05$ ) en función del bloque, no así del tratamiento ( $p > 0,05$ ), sin embargo, el promedio de leucocitos ( $10,33 \cdot 10^9/L$ ) y el promedio de neutrófilos ( $7,17 \cdot 10^9/L$ ) del T2 fueron superiores al promedio del grupo control y de los otros tratamientos mostrando diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) solo a un IC del 90%. Los parámetros de la bioquímica sanguínea no mostraron diferencias ( $p > 0,05$ ). En conclusión, se evidenció un efecto positivo en la inmunidad innata, resultando favorable la suplementación con BCAAs, sin evidencia de toxicidad.

**Palabras clave:** cachorros, células sanguíneas, aminoácidos, suplementación, hematología.

### Abstract

**Mena, R.P.; LlumiQuinga, T.I.; Quisirumbay, J.R.; Villanueva, M.E.: Effect of glutamine and branched-chain amino acid supplementation on hematological and biochemical parameters of canine puppies.** *Rev. Vet. 33: 2, 169-176, 2022.* The objective of the study was to determine the influence of glutamine (GLN) and BCAAs (leucine, isoleucine and valine) on the hematological and biochemical parameters of the puppies. 31 mixed puppies of 30 days were recruited, from four litters, randomly in each litter a control group was established (without supplement) and 3 treatments: T1 (GLN 0.5 g/kg/day/PO), T2 (BCAAs, 0.25 /kg/ day/PO) and T3 (GLN 0.5 g/kg + BCAAs 0.25 g/kg/day/PO), were maintained for 90 days in a controlled environment under equal conditions, fed twice daily individually, samples were taken at 30 and 120 days of age. A randomized block design was applied using the litter as a block factor, descriptive statistics and normality tests were performed, as well as ANOVA to verify variations between treatments and tukey to position the treatments. At 30 days, the means and ranges of the hematological and biochemical parameters were similar. At 120 days in the hematological parameters, differences were determined ( $p < 0.05$ )

depending on the block, not the treatment ( $p>0.05$ ), however, the average of leukocytes ( $10.33 \cdot 10^9/L$ ) and the average of Neutrophils ( $7.17 \cdot 10^9/L$ ) of T2 were higher than the average of the control group and of the other treatments, showing a significant difference ( $p<0.05$ ) only at a CI of 90%. The blood biochemistry parameters did not show differences ( $p>0.05$ ). In conclusion, a positive effect on the innate immunity was evidenced, with BCAAs supplementation being favorable, with no evidence of toxicity.

**Key words:** puppies, blood cells, amino acids, supplementation, hematology.

## INTRODUCCIÓN

Las enfermedades en los cachorros caninos y sus índices de mortalidad presentan tasas variables en dependencia de algunos factores de predisposición intrínsecos (materno fetales) y también en dependencia de factores extrínsecos como factores ambientales e infecciosos que contribuyen al desarrollo de patologías neonatales. Las tasas de mortalidad en cachorros de entre 7-8 semanas se estima en aproximadamente 20% de neonatos nacidos vivos<sup>27</sup>.

Uno de los factores que contribuye a estas altas tasas de mortalidad es el destete, etapa de transición nutricional a la que son sometidos los cachorros entre las 3-4 semanas de vida, los perros y otros animales sufren a menudo de estrés nutricional, ambiental, inmunológico y social, factores que pueden influenciar de manera negativa en la morfología y funcionalidad de la estructura intestinal del cachorro<sup>36</sup>, estos cambios pueden tener repercusiones en la digestión y absorción de nutrientes importantes para la síntesis de proteínas necesarias para fortalecer el sistema inmunológico a nivel celular y humoral<sup>14,26</sup>.

En todo el mundo las infecciones virales afectan a un alto número de cachorros caninos, principalmente a aquellos animales débiles e inmunodeprimidos, por ello se proporcionan defensas contra parvovirus canino a través de la vacunación temprana<sup>5,10</sup>.

En un estudio realizado en Ecuador se determinaron las variantes de parvovirus (PVC) en cachorros infectados por esta enfermedad, determinándose tres variantes antigénicas en los animales en estudio con una prevalencia de PVC-2a 57,1 por ciento, PVC-2b 8,5 por ciento y PVC2c 34,3 por ciento, siendo este un problema muy serio ya que las vacunas utilizadas en la mayor parte de América Latina protegen solo para las variantes PVC-2a y PVC2b<sup>9</sup>.

En varias especies de animales se ha determinado el papel fundamental de la nutrición, particularmente el rol que cumplen ciertos aminoácidos en el fortalecimiento y en la activación temprana del sistema inmune<sup>3,19,20</sup>, de manera particular se ha establecido que tanto el glutamato como la glutamina

tienen un efecto positivo en el sistema inmune de lechones en la etapa del destete<sup>4</sup>.

En varios estudios se puntualiza su importancia en la activación de la señalización de las células de *rapamicina* (mTor) favoreciendo el recambio de enterocitos y manteniendo la estructura de la pared intestinal con enterocitos intactos, con menos espacios entre ellos y vellosidades intestinales más alargadas con criptas más profundas lo cual promueve una buena función<sup>7,24</sup>.

Otro grupo de aminoácidos que ha demostrado fortalecer el sistema inmune humoral y celular son los aminoácidos de cadena ramificada (BCAAs: Leucina, Isoleucina y Valina)<sup>33</sup>, las células del sistema inmune podrían incorporar BCAAs a través de la síntesis de proteínas, expresar actividades de alfa-cetoácido-deshidrogenasa de cadena ramificada y descarboxilasa -por ejemplo la isoleucina- se encuentra en los linfocitos en los eosinófilos y neutrófilos, elementos hematológicos que son parte del sistema inmune celular<sup>30</sup>.

El objetivo del estudio fue determinar el comportamiento de los parámetros hematológicos y bioquímicos en cachorros caninos suplementados con glutamina, leucina, isoleucina y valina durante 90 días de tratamiento (30-120 días de edad).

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Lugar del estudio

El estudio fue de tipo experimental. Para esto se reclutaron 4 camadas de cachorros, los mismos que fueron alojados en el Centro Experimental Uyumbicho de la Universidad Central del Ecuador, ubicado en la Provincia de Pichincha, Parroquia de Uyumbicho, entre las coordenadas 23°23'00"S 78°31'00"O a 3725 m.s.n.m., la misma que presenta una temperatura promedio de 18.5°C y una humedad relativa de 87%.

### Animales en estudio

Las camadas de cachorros aparentemente sanos (examen clínico veterinario) de 25 días de nacidos fueron obtenidas en hogares de zonas urbano marginales de la ciudad de Quito, provinieron de madres que se alimentaron durante su periodo de gestación y lactancia con una dieta mixta, en base a alimento balanceado comercial y dieta casera.

Se obtuvieron 31 cachorros: camada uno (C1) con siete hermanos (5 hembras; 2 machos); camada dos (C2) ocho hermanos (6 hembras; 2 machos); camada tres (C3) ocho hermanos (4 hembras; 4 machos) y la cuarta camada (C4) ocho hermanos (4 hembras; 4 machos). A su ingreso al centro de crianza los animales fueron identificados y registrados en un expediente clínico individual.

Desde su ingreso y semanalmente, fueron estimados a través de una exploración clínica completa la cual incluyó la valoración por camada y la valoración individual de cada cachorro. En la camada se valoró el comportamiento, la homogeneidad y la condición corporal asociada al estado nutricional. De manera individual a cada neonato se lo examinó empleando las técnicas básicas de exploración (observación, palpación, palmopercusión y auscultación).

Se descartó la presencia de lesiones externas y de ectoparásitos sobre la piel, se prestó especial atención a la valoración de los reflejos de deglución, de retiro, y de tos en los neonatos. En cada examinación, se evaluaron las constantes fisiológicas de manera individual, entre ellas la frecuencia cardiaca (FR), frecuencia respiratoria (FR), pulso (P) y temperatura (T), parámetros que se encontraban dentro de los rangos establecidos por Grundy (2006) <sup>15</sup>.

Durante el tiempo que duró el experimento todos los cachorros fueron vacunados y desparasitados bajo el mismo esquema: vacuna Vanguard Plus ® (Parvovirus-Cononavirus), 45 días de edad, Vacuna Vanguard Plus 5/L® (Distemper, Adenovirus Tipo 2, Parainfluenza, Parvovirus, Leptospirosis) 66 días, Vacuna Vanguard Plus 5/L®, 87 días y Vacuna Defensor® (Rabia), 108 días. Las desparasitaciones se realizaron con cada vacuna empleando un preparado comercial en base de embonato de pirantel (equivalente a 5 mg de pirantel base), 14.4 mg; febantel 15 mg; excipientes para 1 ml, a razón de 1 ml/kg de peso.

### Dieta y suplementación

A la llegada, los cachorros tuvieron un período de adaptación de 5 días en los cuales se les suministró un sustituto de leche comercial mezclada con una dieta comercial *premium para cachorros*, la cual fue analizada y con la cual se alimentaron durante los 90 días que duró el experimento (ver Tabla 1).

**Tabla 1.** Composición nutricional del alimento base.

nutriente análisis proximal	med.±DS
materia seca g/100g	93,89±0,63
proteína, g/100g	27,31±0,76
grasa (%)	10,96±1,06
humedad (%)	6,21±0,43
fibra (%)	3,26±0,65
cenizas (%)	6,83±0,68

### Análisis Proximal Técnica NIRS

La alimentación se realizó dos veces al día (de manera individual, en espacios separados) y la cantidad proporcionada fue calculada semanalmente de acuerdo a la cantidad recomendada por el fabricante según su peso corporal, cumpliendo con los requerimientos establecidos por la FEDIAF (Federación Europea de Fabricantes de Alimentos para Animales de Compañía, 2017) <sup>11</sup>. El consumo de alimento fue registrado diariamente y los pesos semanalmente.

Apartir de los treinta días (inicio del experimento) fueron suplementados con aminoácidos de acuerdo al tratamiento correspondiente así: grupo control (sin suplemento), tratamiento uno (T1: Glutamina 0,5 g/kg de peso), tratamiento dos (T2: BCAAs Leucina, Isoleucina y Valina proporción 2:1:1 a dosis de 0,25 g/kg de peso) y tratamiento tres (T3: Glutamina 0,5 gr/kg de peso – BCAAs 0,25 g/kg de peso).

Los suplementos empleados fueron: Glutamina (Glutapure ®), BCAAs ® (leucina, isoleucina y valina, proporción: 2.1.1) de la empresa *Ultimate Nutrition*, las dosis fueron calculadas de acuerdo al peso promedio semanal para cada tratamiento y fueron administradas de manera individual por vía oral en la ración de alimento de la mañana, aplicándose el mismo protocolo para todos los animales.

### Toma de muestras y análisis sanguíneos

Las muestras se colectaron de la vena yugular con los animales en recumbencia esternal, se obtuvieron 3 mL de sangre entera a los 30 y 120 días de edad. Suavemente 1 mL de la muestra fue colocada y homogeneizada en un tubo MicroCollect® conteniendo EDTA (ácido etilen-diamino-tetraacético), además, 2 mL de la muestra se colocaron en un tubo sin anticoagulante para la obtención de suero.

Las muestras se identificaron y colocaron en un *cooler* herméticamente cerrado, el cual preservó las mismas durante 60 minutos a una temperatura de 2-4°C mientras fueron transportadas al Laboratorio Clínico del Hospital Veterinario *AllPets* donde fueron analizadas.

Con la sangre entera se realizó un hemograma completo en un analizador hematológico (DF 50, Dymind, bajo el principio de impedancia para determinación de células rojas y plaquetas y citometría de flujo para el análisis diferencial de células blancas), realizando el conteo total (WBC) e individual del leucograma, neutrófilos (Neu), linfocitos (Lin), monocitos (Mon), eosinófilos (Eos), basófilos (Bas).

Se evaluó el eritrograma con el conteo de células rojas (RBC), concentración de hemoglobina (HBG), volumen celular medio (MCV), cantidad de hemoglobina globular (MCH), concentración corpuscular media de hemoglobina (MCHC) y finalmente el plaquetograma con el conteo de plaquetas (PLT), volumen plaquetario medio (MPV), ancho de distribución de plaquetas (PDW) y el plaquetocrito (PCT).

Con los 2 ml de sangre colectada en el tubo de tapa roja (sin anticoagulante) se obtuvo suero, con el que se realizaron las pruebas bioquímicas en un analizador colorimétrico (Pointcare® V3, MNCHIP), se empleó un rotor para valorar y calcular: proteínas totales (TP), albúmina (ALB), globulinas (GLO), relación albúmina globulinas (A-G), bilirrubinas totales (TBIL), alanino aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST), nitrógeno ureico sanguíneo (BUN), creatinina (CRE), relación BUN-CRE y glucosa (GLU).

### Análisis Estadístico

El diseño empleado fue un esquema en bloques completamente al azar (DBCA), así el factor de bloque es la camada, dentro de cada camada de manera aleatoria se asignó a dos animales por tratamiento.

Los datos obtenidos se analizaron mediante estadísticas descriptivas, se realizó la prueba de normalidad Shapiro-Wilk (Kruskal Wallis para datos no paramétricos) y un ANOVA para verificar las variaciones entre tratamientos, posteriormente se realizó la prueba de Tukey para determinar las diferencias significativas, en el caso de datos no paramétricos se aplicó la prueba de Wilcoxon.

Un valor de  $\alpha = 0,05$  como nivel de significancia fue empleado para todas las pruebas de hipótesis. Los datos fueron analizados empleando el paquete estadístico R Studio, versión 1.4.1103.

### Aspectos Éticos

Este estudio fue avalado con base en el protocolo de investigación aprobado por el comité de Ética de la Universidad Central del Ecuador, mediante oficio N° 127-CE-UCE-2019 con fecha 2 de abril del año 2019, el cual cumple con las leyes de protección y bienestar animal.

## RESULTADOS

Al finalizar el estudio se evaluaron los cambios en el hemograma y en la bioquímica sanguínea después de la suplementación de 90 días de glutamina y BCAAs, estos resultados se presentan en las Tablas 2 y 3, respectivamente.

Así, se observó que en el leucograma los leucocitos (WBC) y sus componentes: neutrófilos (Neu), linfocitos (Lin), monocitos (Mon), eosinófilos (Eos) y basófilos (Bas) presentaron un efecto ( $p < 0,05$ ) en el bloque (camada), sin embargo, no presentaron diferencias ( $p > 0,05$ ) en relación al tratamiento a un intervalo de confianza del 95%.

Aun así, se determinó que los WBC del T2 (BCAAs) presentaron un promedio de  $10,33 (10^9 / L)$ , el cual es superior al grupo control y al T1 y T3, de igual manera se determinó que los caninos del T2 presentaron un mayor promedio de neutrófilos ( $7,17 10^9 / L$ ) el cual es superior a los demás tratamientos ( $p = 0,052$ ) y de acuerdo a los resultados obtenidos en R, si se emplea un intervalo de confianza del 90% podría llegar a ser significativo ( $p < 0,05$ ), tal como se expresa en la Tabla 3.

Las comparaciones de los parámetros de la bioquímica sanguínea entre los tratamientos en estudio y el grupo control no mostraron diferencias ni interacciones ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos o entre bloques, pero sí se observaron diferencias del promedio general de proteínas totales el cual fue superior a los valores de referencia citados por otros autores, tal como se muestra en la Tabla 3.

De igual manera con relación a estos valores, los tres tratamientos y el grupo control presentaron niveles ligeramente elevados de las enzimas hepáticas (TBIL, ALT, AST y GGT) y de los metabolitos renales (BUN y CREA).

## DISCUSIÓN

Son escasos los reportes de valores hematológicos de cachorros de 30 días (4 semanas) por lo que la presente investigación constituye un aporte significativo para los médicos veterinarios dedicados a este campo, así quienes deben atender a pacientes de esta edad no tendrán que interpretar los resultados del hemograma con valores hematológicos de animales adultos<sup>2,6</sup>.

Los resultados hematológicos obtenidos a los 30 días de edad se comportaron de manera homogénea entre los tratamientos, y fueron acordes a los promedios y rangos de cachorros establecidos por otros autores<sup>16, 22, 31, 34</sup>.

La suplementación oral de glutamina y BCAAs por separado y en conjunto para evidenciar un efecto

sinérgico, estos aminoácidos al ser empleados en cachorros caninos en la etapa del destete tal como se ha realizado en otras especies<sup>17, 23, 37</sup>, teniendo en cuenta que esta suplementación al momento del destete en cachorros no ha sido evaluada.

En la Tabla 2 se observa un incremento en el promedio de la población de leucocitos de los individuos que pertenecen al T2 (BCAAs), de la misma manera se determinó un promedio superior en el conteo de neutrófilos de este tratamiento en

relación al grupo control y a los tratamientos 1 y 3 con los que a un IC del 90% mostró ser diferente ( $p < 0,05$ ), sin embargo el efecto sinérgico de los aminoácidos no fue observado en este estudio ya que los individuos de T1 y T3 no mostraron variaciones en referencia al grupo control, demostrando que la suplementación con glutamina por si sola y junto a los BCAAs no influyen en el desarrollo ni en el sistema inmunológico de los cachorros al destete.

**Tabla 2.** Parámetros del hemograma por tratamiento a los 120 días de edad.

parámetro estandar*	HEMOGRAMA 120 DIAS				media/DS	p valor bloque	p valor tratamiento
	control	T1	T2	T3			
WBC( $10^9/L$ ) (16,3)	8,37 5,45 - 9,48	8,25 5,33 - 10,25	10,33 8,08 - 16,72	8,26 5,18 - 13,25	8,79 $\pm$ 2,53	0,002**	0,317
Neu( $10^9/L$ ) (8,9)	5,12 3,55 - 7,40	5,12 3,11 - 7,01	7,17 4,96 - 13,28	5,22 3,30 - 8,02	5,67 $\pm$ 1,96	0,002**	0,052 .
Lin( $10^9/L$ ) (4,5)	2,59 1,43 - 4,80	2,56 1,85 - 3,87	2,5 1,76 - 3,28	2,29 1,43 - 3,65	2,48 $\pm$ 0,85	0,002**	0,456
Mon( $10^9/L$ ) (0,8)	0,36 0,19 - 0,68	0,36 0,16 - 0,57	0,45 0,34 - 0,76	0,5 0,22 - 1,06	0,42 $\pm$ 0,21	0,013*	0,302
Eos( $10^9/L$ ) (0,3)	0,16 0,09 - 0,23	0,17 0,06 - 0,28	0,19 0,06 - 0,32	0,22 0,10 - 0,45	0,18 $\pm$ 0,09	0,815	0,626
Bas( $10^9/L$ ) (--)	0,05 0,02 - 0,08	0,04 0,01 - 0,08	0,03 0,00 - 0,07	0,04 0,00 - 0,07	0,04 $\pm$ 0,02	0,002**	0,876
RBC( $10^{12}/L$ ) (6,93)	5,01 3,96 - 6,81	4,45 3,91 - 5,22	4,52 3,84 - 4,99	4,56 3,25 - 6,17	4,62 $\pm$ 0,74	0,502	0,831
HGB(g/dL) (16,0)	11,17 8,4 - 16,2	9,78 8,3 - 11,6	9,94 8,7 - 10,9	10,1 7,5 - 13,8	10,22 $\pm$ 1,81	0,236	0,794
HCT(%) (43,0)	31,4 23,1 - 45,1	27,94 23,9 - 32,4	28,13 23,9 - 29,9	28,65 20,7 - 38,5	28,95 $\pm$ 4,94	0,236	0,794
MCH(pg) (23,5)	22,13 21,2 - 23,7	21,99 20,8 - 23,1	22 21 - 24	22,16 21,2 - 23	22,07 $\pm$ 0,88	0,004**	0,75300
MCHC(g/dL) (34,8)	35,46 33,4 - 36,7	34,99 33,9 - 36,5	35,36 33,5 - 36,6	35,28 34,1 - 36,1	35,26 $\pm$ 0,99	0,000***	0,362
PLT( $10^3/uL$ ) (--)	350,57 307 - 500	328 176 - 530	329,13 194 - 422	359,63 192 - 518	341,55 $\pm$ 97,64	0,000***	0,706

\*Rangos estándar cachorros 120 días: Von Dehn (2014), Significancia: 0 '\*\*\*\*' 0,001 '\*\*\*' 0,01 '\*\*' 0,05 ',' 0,1 ' ' 1

**Tabla 3.** Parámetros bioquímicos por tratamiento a los 120 días de edad

parámetro estándar	BIOQUÍMICA 120 DIAS					p valor bloque	p valor trat.
	control	T1	T2	T3	media/DS		
TP (g/L) (46,5 - 48,8)	61,64 53,5 - 78,5	56,56 46,4 - 77	55,89 31,3 - 72,3	54,2 45,8 - 69,9	63,36 ±29,36	0,511	0,612
ALB (g/L) (24,5 - 26,1)	32,96 28,3 - 41,8	31,04 26,5 - 41,9	30,5 18 - 37,4	28,96 23,5 - 36,2	32,89 ±10,09	0,510	0,589
GLO (g/L) (23 - 39)	28,69 24,1 - 36,7	25,51 19,9 - 35,1	25,39 13,3 - 34,9	25,24 22,2 - 33,7	30,47 ±19,55	0,490	0,611
A,G (0,78 - 1,46)	1,16 1,1 - 1,2	1,21 1,1 - 1,3	1,23 1,1 - 1,4	1,18 1,1 - 1,3	1,16 ±0,14	--	--
TBIL(mmol/L) (1,7 - 5,16)	3,04 2,05 - 4,44	3,39 2,22 - 4,44	3,34 2,22 - 4,44	3,61 2,56 - 5,13	3,37 ±0,89	0,875	0,851
ALT(U/L) (19,3 - 25,0)	43,71 28 - 71	42,86 24 - 71	36,86 14 - 50	35,25 21 - 44	43,97 ±22,68	0,229	0,599
AST(U/L) (26,2 - 31,2)	61,43 31 - 90	48 34 - 85	49 28 - 71	60,38 47 - 88	60,32 ±28,51	0,303	0,965
GGT(U/L) (0 - 11)	1,14 0,1 - 1,9	1,13 0,1 - 1,9	0,9 0,1 - 1,8	1 0,3 - 1,8	2,25 ±5,17	0,557	0,647
BUN(mmol/L) (2,47 - 4,16)	4,21 2,18 - 7,4	4,01 3,17 - 6,64	4,27 3 - 5,73	3,78 2,62 - 4,67	4,72±3,18	0,473	0,676
CRE(umol/L) (40,1 - 48,4)	57,29 37 - 93	48 37 - 58	49,86 39 - 57	53,75 40 - 86	59,06 ±32,89	0,866	0,787

\*Rangos estándar cachorros 120 días: Brenten et al. (2016), Von Dehn (2014).

Similares resultados se obtuvieron en un estudio en el cual se suplementó a ratones anoréxicos con glutamina y BCAAs, evidenciándose efectos en el desarrollo solo en los ratones suplementados con BCCAs<sup>17</sup>, confirmando así la no esencialidad de la glutamina en animales cuyo requerimiento de este aminoácido se encuentre cubierto con el aporte nutricional adecuado<sup>7,19</sup>.

Así, si la alimentación cumple con los requerimientos de glutamina para los cachorros en la etapa de desarrollo, el destete es un estresor fisiológico cuyas consecuencias en el sistema inmunológico y en el desarrollo de estos individuos, no podrán ser estabilizadas tras la suplementación de este aminoácido como sí se ha observado en estudios realizados en personas<sup>37</sup> y en perros<sup>18</sup>, en donde la suplementación parenteral de glutamina en pacientes convalecientes ha demostrado eficacia en la disminución de los síntomas de algunas enfermedades que cursan con estados hipercatabólicos (sepsis, enfermedad inflamatoria intestinal, cáncer) y una disminución en el tiempo de convalecencia<sup>29</sup> al estimular la inmunidad celular de los mismos<sup>18,20</sup>.

Los aminoácidos de cadena ramificada: leucina, isoleucina y valina han demostrado tener

una influencia positiva en el sistema inmunológico de personas y animales<sup>3,30</sup>. Estos corresponden a aminoácidos esenciales para el organismo, así el valor fisiológico de estas moléculas es motivo de estudio de muchos investigadores, principalmente se estudia su función y los efectos de suplementación en varias enfermedades como cáncer, diabetes e insuficiencia renal, enfermedades que se presentan actualmente en personas y animales<sup>25</sup>.

Los BCAAs regulan la síntesis de proteínas por lo cual ejercen un efecto protector en pacientes con enfermedad hepática o en aquellos pacientes que cursan con cuadros de inmunodepresión<sup>1,33</sup>, desde hace algunos años se ha evidenciado el efecto positivo de los BCAAs por ejemplo en animales que sufrieron varios tipos de trauma o infecciones, demostrando su efecto regenerativo e inmuno regulador tras su suplementación<sup>1,4,12</sup>.

En otros estudios se determinó un efecto positivo de la suplementación de isoleucina en el sistema inmunológico<sup>23</sup>, en donde al igual que en este trabajo se observó un incremento en el conteo de células blancas y de los neutrófilos en los animales del T2, sin embargo, en el estudio realizado por Mao et al.<sup>23</sup>, realizado en cerdos al destete afectados por rotavirus

se evidenció también un incremento en la población de linfocitos, lo cual se contrapone a lo encontrado en esta investigación en donde no se observaron diferencias ( $p < 0,05$ ) entre el grupo control y los tres tratamientos en estudio.

Esta diferencia puede estar asociada a que en nuestra investigación los animales se mantuvieron en un entorno saludable durante los 90 días del experimento, lo cual pudo influir para que este grupo celular no presente variación entre los tratamientos.

Finalmente, en este trabajo se evaluó en los cachorros el comportamiento de los parámetros de la bioquímica sanguínea tras la suplementación de 90 días de glutamina y BCAAs determinándose que las proteínas totales en el grupo control y en los tres tratamientos en estudio fueron superiores a los rangos de referencia establecidos por varios autores para animales de esta edad, pero se resalta el incremento observado en los animales del T2, desde el día 30 al día 120, que fueron los que mostraron un mayor incremento en la concentración de las proteínas, coincidiendo con varios estudios en donde se indica un efecto positivo de la suplementación de BCAAs en la síntesis de proteínas<sup>3, 18, 30, 35</sup>.

Las transaminasas hepáticas ALT, AST y GGT presentaron niveles ligeramente superiores a los rangos establecidos en animales sanos por otros autores<sup>2, 16</sup> tanto en el grupo control como en los tres tratamientos. Así, estos niveles no reflejan una toxicidad asociada a la suplementación de los aminoácidos en estudio, lo cual coincide con un estudio en el que se evaluó la tolerancia a la suplementación de BCAAs en seres humanos y cerdos en donde se concluyó que bajo un sustrato proteico adecuado la suplementación era muy bien tolerada<sup>1, 32, 34</sup>.

Los parámetros que evalúan la función renal (BUN y CRE) tuvieron un comportamiento similar a las transaminasas hepáticas mostrando ligeros incrementos en el grupo control y en los tres tratamientos, descartando así que la suplementación con glutamina y BCAAs a las dosis empleadas en este estudio pudiesen llegar a producir un daño hepático o renal de los animales en estudio.

## CONCLUSIONES

La suplementación con BCCAs en cachorros caninos tiene un efecto positivo en la inmunidad celular de estos individuos, evidenciado por un aumento en la población de neutrófilos en los animales de este tratamiento. Se pueden emplear tales suplementos en los cachorros por tiempos prolongados sin la evidencia de efectos negativos para su salud.

Se recomiendan futuros estudios en animales alimentados con alimentos con restos de alimentos de

casa o con alimentos económicos en los cuales una deficiencia en el aporte de aminoácidos puede hacer más evidente el efecto de la suplementación de los aminoácidos aquí estudiados.

**Agradecimientos:** A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia y al Vicerrectorado de la Universidad Central de Ecuador, por el apoyo brindado a lo largo de la investigación.

## REFERENCIAS

1. **Baker DH et al.** 2005. Tolerance for branched-chain amino acids in experimental animals and humans. *J Nutr* 135: 6, 1585-1590. <https://doi.org/10.1093/jn/135.6.1585>
2. **Brenten T et al.** 2016. Age-associated and breed-associated variations in haematological and biochemical variables in young *Labrador retriever* and miniature *Schnauzer* dogs. *Vet Rec Open* 3: 1, 1-9.
3. **Brosnan JT, Brosnan ME.** 2006. Branched-chain amino acids: metabolism, physiological function and application branched-chain *Enzym & Substr Regul* 1-3 (3), 207-211.
4. **Burrin DG, Stoll B.** 2009. Metabolic fate and function of dietary glutamate in the gut. *Am J Clin Nutr* 90: 3, 850-856. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2009.27462Y>.
5. **Castro TX et al.** 2013. Clinical, hematological, and biochemical findings in puppies with coronavirus and parvovirus enteritis. *Can Vet J* 54: 9, 885-888.
6. **Costa TB et al.** 2016. Neonatal malnutrition programs the oxidant function of macrophages in response to *Candida albicans*. *Microb Pathog* 95: 68-76.
7. **Coster J, McCauley R, Hall J.** 2004. Glutamine: metabolism and application in nutrition support. *J Clin Nutr* 13: 1, 25-31.
8. **DeCaprariis D et al.** 2011. Evolution of clinical, haematological and biochemical findings in young dogs naturally infected by vector-borne pathogens. *Vet Microbiol* 149: 1-2, 206-212.
9. **DeLaTorre D et al.** 2018. Molecular characterization of canine parvovirus variants (CPV-2a, CPV-2b, and CPV-2c) based on the VP2 gene in affected domestic dogs in Ecuador. *Vet World* 11: 4, 480-487. <https://doi.org/10.14202/vetworld>.
10. **Duijvestijn M et al.** 2016. Entero pathogen infections in canine puppies: co-occurrence, clinical relevance and risk factors. *Vet Microbiol* 195: 115-122.
11. **Federación Europea de fabricantes de alimentos para animales de compañía.** 2017. Guías nutricionales para alimentos completos

- y complementarios para perros y gatos. <https://www.um.es/documents/Guias-Nutricionales-FEDIAF.pdf> 410142b0.
12. **Freund HR.** 1985. Effect of branched-chain amino acids and insulin on post injury protein catabolism in growing animals. *J Parenter Enter Nutr* 9: 1, 71.
  13. **Gizzi A et al.** 2014. Presence of infectious agents and co-infections in diarrheic dogs determined with a real-time polymerase chain reaction-based panel. *BMC Vet Res* 10: 1, 23. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-10-23>
  14. **Greco DS.** 2014. Pediatric nutrition. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 44: 2, 265-273. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2013.11.001>.
  15. **Grundy SA.** 2006. Clinically relevant physiology of the neonate. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice* 36: 3, 443-459.
  16. **Harper EJ, Hackett RM, Wilkinson J, Heaton PR.** 2003. Age-related variations in hematologic and plasma biochemical test results in *Beagles* and *Labrador Retrievers*. *J Am Vet Med Assoc* 223: 10, 1436-1442.
  17. **Huillier L et al.** 2020. Influence of glutamine and branched-chain amino acids supplementation during. *Refeed Activity Anorectic Mice Nutrients* 1-14. <https://doi.org/10.3390/nu1212113510>.
  18. **Humbert B et al.** 2002. Does enteral glutamine modulate whole-body leucine kinetics in hypercatabolic dogs in a fed state? *Metabolism* 51: 5, 628-635.
  19. **Kanakubo K, Fascetti AJ, Larsen JA.** 2015. Assessment of protein and amino acid concentrations and labeling adequacy of commercial vegetarian diets formulated for dogs and cats. *J Am Vet Med Assoc* 247: 4, 385-392.
  20. **Kang JH, Kim SS, Yang MP.** 2012. Effect of parenteral L-alanyl-L-glutamine administration on phagocytic responses of polymorphonuclear neutrophilic leukocytes in dogs undergoing high-dose methyl prednisolone sodium succinate treatment. *Am J Vet Res* 73: 9, 1410-1417.
  21. **Kimura T, Kotani K.** 2018. Perinatal veterinary medicine-related evaluation in hematological and serum biochemical profiles of experimental beagles throughout pregnancy and parturition. *Anim Model Exp Med* 1: 4, 282-294.
  22. **Lee SH, Kim JW, Lee BC, Oh HJ.** 2020. Age-specific variations in hematological and biochemical parameters in middle and large-sized of dogs. *J Vet Sci* 21: 1, 1-13. <https://doi.org/10.4142/jvs.2020.21.e7>
  23. **Mao X et al.** 2018. L-isoleucine administration alleviates rotavirus infection and immune response in the weaned piglet model. *Front Immunol* 9: 1-12.
  24. **Marante J et al.** 2005. Usos de la glutamina en pediatría, *Med. UNAB* 8: 1, 37-42.
  25. **Michaell N, Danielle M, Zoltan A.** 2016. Branched chain aminoacides. *Physiol Behav* 176: 1, 139-148. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-020518>.
  26. **Mila H et al.** 2014. Inadequate passive immune transfer in puppies: definition, risk factors and prevention in a large multi-breed kennel. *Prev Vet Med* 116: 1-2, 209.
  27. **Mila H et al.** 2017. Monitoring of the newborn dog and prediction of neonatal mortality. *Prev Vet Med* 143: 11-20.
  28. **Mugnier A et al.** 2019. Birth weight as a risk factor for neonatal mortality: breed-specific approach to identify at-risk puppies. *Prev Vet Med* 171: 104746. <https://doi.org/10.1016..>
  29. **Mundi MS, Shah M, Hurt RT.** 2016. When is it appropriate to use glutamine in critical illness? *Nutr Clin Pract* 31: 4, 445-450. <https://doi.org/10.1177/08845336>.
  30. **Nie C, He T, Zhang W, Zhang G, Ma X.** 2018. Branched chain amino acids: beyond nutrition metabolism. *Int J Mol Sci* 19: 4. <https://doi.org/10.3390/ijms>.
  31. **O'Brien MA, McMichael MA, Boedec K, Lees G.** 2014. Reference intervals and age-related changes for venous biochemical, hematological, electrolytic, and blood gas variables using a point of care analyzer in 68 puppies. *J Vet Emerg Crit Care* 24: 3, 291-301.
  32. **Rørtveit R et al.** 2015. Age-related changes in hematologic and serum biochemical variables in dogs aged 16-60 days. *Vet Clin Pathol* 44: 1, 47-57.
  33. **Shimomura Y, Kitauro Y.** 2018. Physiological and pathological roles of branched-chain amino acids in the regulation of protein and energy metabolism and neurological functions. *Pharmacol Res* 133: 215-217.
  34. **Von Dehn B.** 2014. Pediatric clinical pathology. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 44: 2, 205-219. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2013.10.003>
  35. **Zhang ZY, Monleon D, Verhamme P, Staessen JA.** 2018. Branched-chain amino acids as critical switches in health and disease. *Hypertension* 72: 5, 1012-1022.
  36. **Zhou H, Yu B, Gao J, Htoo JK, Chen D.** 2018. Regulation of intestinal health by branched-chain amino acids. *Anim Sci J* 89: 1, 3-11.
  37. **Zhou QQ et al.** 2019. Randomised placebo-controlled trial of dietary glutamine supplements for post-infectious irritable bowel syndrome. *Gu.* 68: 6, 996-1002. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2017-315136>.