

# Revue systématique des effets des acides aminés sur la santé intestinale du porcelet

Tristan CHALVON-DEMERSAY (1), Makoto BANNAI (2), Etienne CORRENT (1)

(1) AJINOMOTO ANIMAL NUTRITION EUROPE, 32, rue Guersant, 75017 Paris, France

(2) AJINOMOTO ANIMAL NUTRITION GROUP, 14-1 Kyobashi 2-Chome, Chuo-ku, Tokyo 104-0031, Japon

[chalvon-demersay\\_tristan@eli.ajinomoto.com](mailto:chalvon-demersay_tristan@eli.ajinomoto.com)

## Revue systématique des effets des acides aminés sur la santé intestinale du porcelet

De nombreuses études ont étudié dans quelle mesure la supplémentation en acides aminés fonctionnels ou leurs dérivés pouvait contribuer à la santé de l'intestin des porcelets. Afin de résumer ces résultats, nous avons effectué une revue systématique dans l'optique de comparer les effets de ces molécules sur les paramètres de morphologie, d'intégrité et de fonctions immunitaire et digestive de l'intestin chez le porcelet. Une première recherche manuelle a été complétée par une recherche structurée sur PubMed utilisant la combinaison d'un acide aminé OU d'un dérivé d'acide aminé ET d'un paramètre lié à la santé intestinale. Cette recherche a permis de trouver un total de 297 références parmi lesquels 58 articles (publiés avant décembre 2017) ont été sélectionnés. Utilisant deux méthodologies pour l'extraction des données (une synthèse des preuves et une méthodologie de 'scoring'), nos travaux ont montré qu'une supplémentation en glutamine et arginine peut avoir un effet bénéfique sur la morphologie de l'intestin chez le porcelet. D'autre part la méthode de 'scoring' indique que la N-acétyl-cystéine, l'aspartate et l'asparagine sont les acides aminés les plus efficaces pour améliorer les paramètres de morphologie, d'intégrité et de fonctions immunitaire et digestive de l'intestin respectivement. Cette même méthodologie met en évidence que les acides aminés à chaîne ramifiée (leucine, valine, isoleucine) améliorent aussi des paramètres de la fonction immunitaire (réduction des lymphocytes intraépithéliaux, augmentations des IgA totales et sécrétées). Ce travail confirme que la supplémentation en acides aminés ou leurs dérivés peut contribuer à la santé intestinale des porcelets. En outre, chaque composé ciblant différents paramètres liés à la santé de l'intestin, ceci suggère des synergies potentielles entre ces molécules qui devront être vérifiées lors d'essais *in vivo*.

## A systematic review of effects of amino acids on intestine health in piglets

Previous studies investigated the extent to which supplementation with functional amino acids and amino acid derivatives could support intestine health in piglets, especially around weaning. To summarize these results, we performed a systematic review to compare the effects of these molecules on the morphology, integrity or immune and digestive functions of piglet intestines. An initial manual search was supplemented by an organized search strategy on PubMed using the search term "<amino acid> OR <amino acid metabolite> AND <parameter related to intestinal health>". These searches yielded 297 articles (published before December 2017), 58 of which were selected. Based on two methods for extracting data (evidence synthesis and scoring), our study showed that glutamine and arginine supplementation can have beneficial effects on intestine morphology. In comparison, the scoring method showed that N-acetyl-cysteine, aspartate and asparagine were the most effective amino acids for improving intestine morphology, integrity and function, respectively. The scoring method also highlighted that branched-chain amino acids (leucine, valine, isoleucine) also promote intestine immune function (reduction of intraepithelial lymphocytes, increase in total and secreted IgA). Taken together, this study shows that piglets can benefit from amino acid supplementation around weaning. In addition, each amino acid targets different parameters related to intestine health, suggesting potential synergies that need to be tested in *in vivo* studies.

## INTRODUCTION

Chez les porcelets, le sevrage est une période de la vie particulièrement critique. Ces derniers passent d'un aliment liquide à un aliment solide et sont séparés de leur mère pour être mélangés à des individus provenant d'autres portées. Ces changements génèrent un fort stress qui généralement réduit la consommation d'eau et la prise alimentaire. L'intestin encore immature doit faire face à cette insuffisance d'apport en nutriments, ce qui a pour conséquence de détériorer ses fonctions barrière et digestive (Pluske *et al.*, 1997). En effet, il a été rapporté que les porcelets au sevrage présentent une atrophie villositaire, une hyperplasie des cryptes et un plus petit nombre de cellules calciformes productrices de mucus. La résistance transépithéliale et l'activité des enzymes digestives sont réduites, ce qui a pour effet d'augmenter l'infiltration cellulaire et de diminuer l'absorption des nutriments respectivement (Lallès *et al.*, 2004). Un phénomène de dysbiose est aussi observé et se caractérise par une réduction des bactéries bénéfiques (*Lactobacillus sobrius*, *L. acidophilus* et *L. reuteri*) aux dépens d'agents pathogènes opportunistes comme *Escherichia coli* (Gresse *et al.*, 2017). Ces événements sont associés à l'occurrence de fortes diarrhées, à une croissance réduite et à une augmentation de la mortalité.

Dans le contexte actuel européen de réduction de l'utilisation des antibiotiques et de l'oxyde de zinc, la pression sur la santé intestinale grandit et avec elle, la nécessité de trouver des molécules et stratégies nutritionnelles permettant de limiter l'amplitude des changements survenant au sevrage. Les acides aminés sont les constituants élémentaires des protéines mais ont également de nombreux rôles physiologiques en tant que modulateurs de l'immunité, de la prolifération cellulaire et en tant que source d'énergie au niveau intestinal (Wu, 2009).

De nombreuses études ont déjà testé l'effet de la supplémentation en certains acides aminés fonctionnels ou leurs dérivés sur la santé intestinale des porcelets, en particulier autour du sevrage. Afin de résumer ces résultats, nous avons effectué une revue systématique dans l'optique de comparer les effets de ces molécules sur les paramètres de morphologie, d'intégrité et de fonctions immunitaire et digestive de l'intestin chez le porcelet.

## 1. MATERIEL ET METHODES

Cette revue systématique a été menée conformément aux règles décrites dans 'Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses statement' (Liberati *et al.*, 2009).

### 1.1. Recherche de la littérature

Une première recherche manuelle a été effectuée dans la base de données Ajinomoto Animal Nutrition Europe basée sur les titres des études. Cette première recherche a permis de trouver 89 articles. Un comptage de la fréquence des mots a ensuite été réalisé sur ces mêmes titres en utilisant un logiciel disponible sur Internet. Les mots les plus fréquents dans les titres ont été utilisés pour construire une recherche structurée. Cette dernière a été réalisée sur PubMed en combinant un acide aminé ou un dérivé d'acide aminé et un paramètre lié à la santé, comme indiqué dans le tableau 1. Les recherches ont été restreintes à l'intestin.

**Tableau 1 - Mots-clés utilisés dans la recherche structurée sur PubMed**

Acides aminés ou dérivés d'acides aminés		
amino acid	lysine	glutamic acid
polyamine	leucine	methionine
threonine	proline	glutamate
arginine	glutamine	cysteine
tryptophan	glycine	aspartate
Paramètres liés à la santé intestinale		
diarrhoea	development	inflammation
microbiota	permeability	immunity
microflora	integrity	health
mucin	barrier	
mucosa	physiology	

Les articles récupérés ont ensuite été inclus ou exclus en fonction des critères ci-dessous sur la base de la lecture de leur titre, de leur résumé et de leur contenu. Critères d'inclusion : 1) articles publiés dans une revue à comité de lecture avant Décembre 2017 ; 2) études conduites sur des porcelets autour du sevrage faisant face à un challenge ou non ; 3) études portant sur la morphologie, les fonctions immunitaires et digestives (ci-après nommées « fonctions ») et l'intégrité de l'intestin ; 4) études portant sur les effets des composés suivants : acides aminés, dipeptides ou dérivés d'acides aminés. Critères d'exclusion : 1) article non publié en langue anglaise ; 2) lettres, commentaires, documents de conférence ; 3) acide aminé non supplémenté oralement.

### 1.2. Liste des paramètres liés à la santé intestinale

Les paramètres de la santé intestinale les plus souvent étudiés dans les articles identifiés ont été associés aux différentes fonctions de la santé intestinale comme suit :

Morphologie intestinale :

- Hauteur des villosités
- Profondeur des cryptes
- Rapport Hauteur des villosités/Profondeur des cryptes
- Poids de l'intestin grêle
- Nombre de cellules calciformes
- Abondance de mucines
- Pourcentage de protéines dans l'intestin
- Activité de la caspase-3

Fonctions immunitaires et digestives:

- Activité ou concentration ou expression de disaccharidases
- Concentration ou expression d'immunoglobulines
- Concentration ou expression de cytokines
- Abondance de lymphocytes intraépithéliaux

Intégrité intestinale :

- Sévérité des diarrhées
- Résistance transépithéliale
- Concentration ou expression de jonctions serrées

### 1.3. Extraction des données

Les effets de la supplémentation des différents composés sur ces paramètres ont ensuite été extraits. Pour cela, lorsque la différence entre le groupe supplémenté et le groupe témoin était significative, le pourcentage de différence entre les valeurs des deux groupes était extrait.

Des données supplémentaires telles que la durée de l'essai, le nombre de porcelets par groupe, les caractéristiques de population (y compris l'âge et le poids), le niveau et le type de supplémentation, les caractéristiques nutritionnelles du régime contrôle, le gain moyen quotidien, la prise alimentaire, le type et la durée du challenge, ont aussi été extraites.

Nous avons ensuite suivi deux méthodes afin de résumer les effets de la supplémentation en différents composés : la synthèse des preuves et le 'scoring'.

### 1.3.1. Synthèse des preuves

Cette méthode a été adaptée d'une revue systématique publiée (Chalvon-Demersay *et al.*, 2017). Nous avons considéré que les preuves de l'effet d'un composé étaient solides ou modérément solides si au moins les trois quarts ou la moitié respectivement des études rapportaient des résultats cohérents sur un paramètre spécifique, à la condition que le composé ait été testé au minimum quatre fois dans quatre essais différents. En dessous de ces seuils, les résultats ont été considérés comme non concluants, comme cela est décrit dans la figure 1.

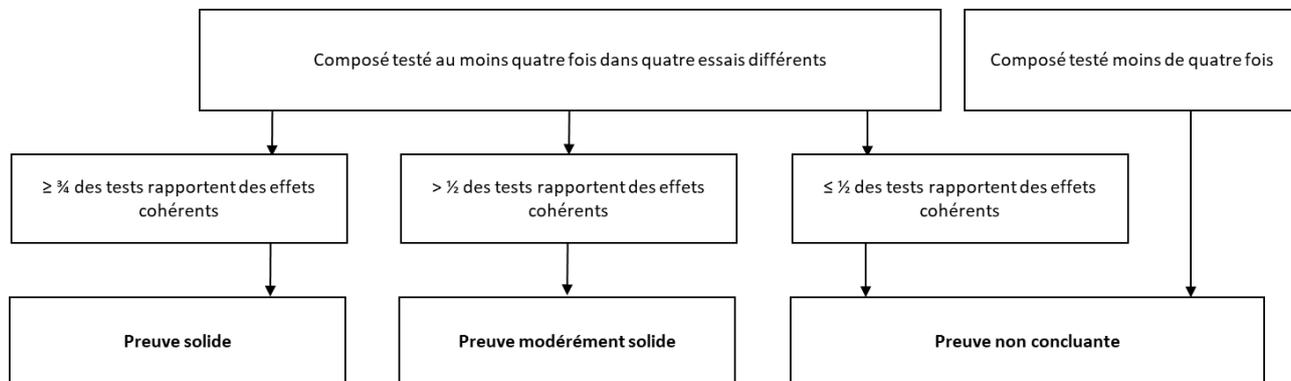


Figure 1 – Description de la méthodologie de synthèse des preuves

### 1.3.2. Méthodologie de 'scoring'

Nous avons d'abord établi quelle variation du paramètre lié à la santé intestinale était considérée comme bénéfique (augmentation ou diminution du paramètre) et ensuite établi un « scoring » pour chaque composé : un effet bénéfique de la supplémentation sur un des paramètres de morphologie, d'intégrité ou de fonction de l'intestin s'est vu attribuer une valeur de '1' ; aucun effet, une valeur de '0' ; un effet délétère, une valeur de '-1'.

Nous avons ensuite calculé la moyenne des valeurs pour chaque composé pour la morphologie, l'intégrité et la fonction de l'intestin à condition qu'au moins huit paramètres minimum par fonction aient été étudiés. Ce premier score a ensuite été exprimé en pourcentage du score maximal obtenu par un composé dans chaque catégorie. En cas de score négatif, un score de '0' a été attribué au composé. Cette méthodologie de « scoring » est résumée dans la figure 2.

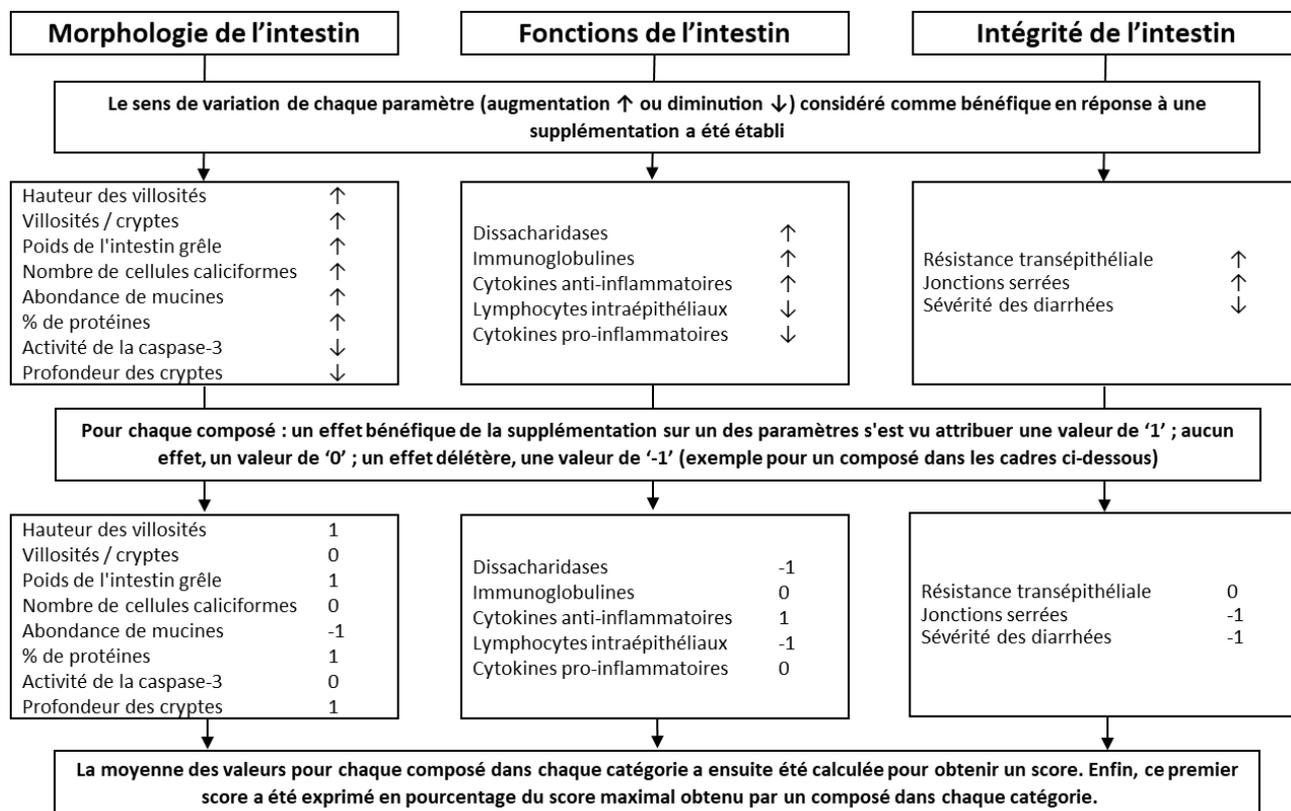


Figure 2 - Description de la méthodologie de 'scoring'

## 2. RESULTATS

### 2.1. Caractéristiques des études incluses

La recherche systématique dans PubMed a permis de récupérer un total de 548 références, parmi lesquelles 208 ont été sélectionnées sur la base de la lecture de leur titre. Les 89 articles issus de la recherche manuelle ont été ajoutés aux 208 précédents. Parmi ces 297 articles, 58 articles remplissaient les critères d'inclusion (la liste des références est disponible auprès de l'auteur) et 239 ont été exclus pour les raisons suivantes : duplicat, 138 ; revues, 25 ; n'utilisant pas le porcelet comme modèle, 16 ; paramètres étudiés non liés à la santé intestinale, 52 ; articles complets non trouvés, 7. Les différents composés testés étaient des acides aminés (tryptophane, thréonine, arginine, leucine, aspartate, glutamine, asparagine, ornithine, citrulline, glutamate, méthionine, proline), des mélanges d'acides aminés (glutamine + glutamate, lysine + thréonine + tryptophane + méthionine + tryptophane + isoleucine + valine + phénylalanine, valine + isoleucine + leucine [acides aminés à chaîne ramifiée AACR]), des dipeptides (glycyl-glutamine, alanyl-glutamine) et des dérivés d'acides aminés (polyamine, N-acétylcystéine,  $\alpha$ -cétoglutarate). Le niveau de supplémentation dans l'aliment variait de 0,02% à 7%. Les articles ont été publiés entre 1989 et 2017. Les porcelets étaient âgés de  $19,9 \pm 9,2$  (min-max 1-35) jours et pesés  $6,5 \pm 2,5$  (min-max 1,45-11,6) kg

en moyenne. La durée de l'essai était en moyenne de  $15,9 \pm 7,3$  (min-max 3-42) jours. Les porcelets étaient en conditions normales ou challengées (*E. coli*, rotavirus porcine, *Cryptosporidium parvum*, transport + stress thermique, faible hygiène, injection intrapéritonéale d'un herbicide (diquat)) dans 71% et 29% des études respectivement.

### 2.2. Morphologie intestinale

#### 2.2.1. Synthèse des preuves

Seuls trois composés (arginine, glutamine, tryptophane) ont été testés au moins quatre fois dans quatre essais différents, ce qui rend difficile toute conclusion pour les autres composés. Nous avons observé dans plusieurs études que la supplémentation en arginine préserve l'intestin de l'atrophie villositaire dans le duodénum et le jéjunum mais pas dans l'iléon. En effet, 75% et 54% de ces études rapportent une augmentation de la hauteur des villosités en réponse à la supplémentation en arginine dans le duodénum et le jéjunum respectivement mais seulement 50% dans l'iléon (Figure 3). Trois études différentes parmi quatre ont également signalé que la supplémentation en arginine augmentait le poids de l'intestin grêle.

Nous avons également observé que la supplémentation en glutamine, à l'inverse de celle en tryptophane, montre des effets bénéfiques sur la morphologie intestinale, en particulier sur la hauteur des villosités dans le jéjunum (Figure 3).

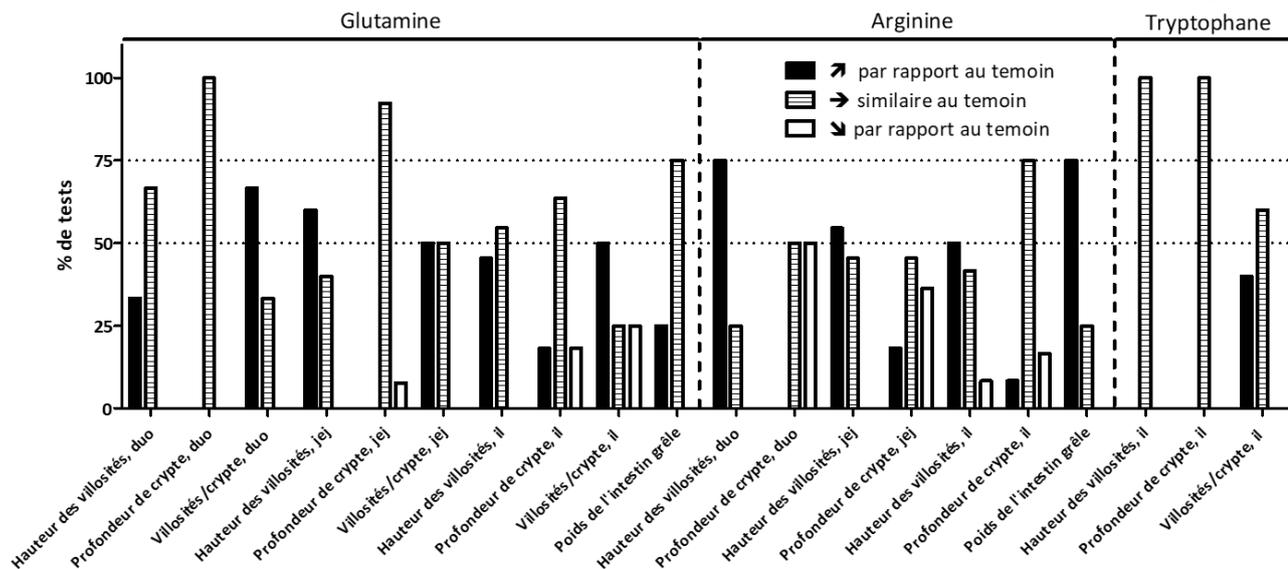


Figure 3 – Synthèse des preuves des effets de la glutamine, de l'arginine et du tryptophane sur les paramètres de la morphologie intestinale dans le duodénum (duo), le jéjunum (jej) et l'iléon (il)

Seuls sont présentés les paramètres testés au minimum quatre fois dans quatre essais différents

#### 2.2.2 Méthodologie de scoring

Nous avons pu calculer un score pour la morphologie intestinale pour la plupart des acides aminés, comme indiqué dans le tableau 2. Les scores les plus importants (> 70) ont été attribués aux dérivés d'acides aminés (N-acétylcystéine,  $\alpha$ -cétoglutarate), au dipeptide alanyl-glutamine et à la leucine. En effet, deux études différentes ont rapporté que la supplémentation en N-acétylcystéine, précurseur stable de la cystéine, à un niveau de 0,05% ou 0,5%, améliorait des paramètres liés à la morphologie intestinale (Hou *et al.*, 2012 ; Zhu *et al.*, 2013).

La supplémentation en leucine a quant à elle été associée dans deux études à une amélioration de la morphologie intestinale et une augmentation de l'abondance de cellules calciformes (Mao *et al.*, 2015 ; Sun *et al.*, 2015).

### 2.3. Fonctions intestinales

L'effet des composés individuels n'a pas pu être évalué à l'aide de la méthodologie de la synthèse des preuves en raison de l'absence de composé testé au moins quatre fois dans quatre essais différents sur un paramètre spécifique de la fonction intestinale. Nous avons tout de même pu calculer le score de la fonction intestinale pour les acides aminés suivants : l'aspartate, les AACR (valine, isoleucine, leucine), l'arginine et la glutamine (Tableau 2). L'aspartate et les AACR ont obtenu un score très élevé. Deux études différentes ont montré qu'une supplémentation en aspartate à 0,5 ou 1% améliorerait les fonctions digestive et immunitaire de l'intestin comme indiqué par l'augmentation de l'activité des disaccharidases et la diminution de la cytokine pro-inflammatoire TNF- $\alpha$  (Pi *et al.*, 2014 ; Wang *et al.*, 2017).

La supplémentation en AACR permet quant à elle d'améliorer certains marqueurs de la fonction immunitaire (réduction des lymphocytes intraépithéliaux, augmentations des IgA totales et sécrétées) (Ren *et al.*, 2015).

#### 2.4. Intégrité intestinale

La synthèse des preuves n'a pas permis de conclure quant à l'effet de la supplémentation en acides aminés ou autres composés étudiés du fait du faible nombre d'études sur les paramètres de l'intégrité intestinale. Nous avons pu en revanche calculer le score d'intégrité intestinale pour l'arginine, le tryptophane, la méthionine, l'aspartate, la glutamine et l'asparagine, comme indiqué dans le tableau 2. Trois études différentes ont également mis en évidence des effets bénéfiques de la glutamine sur l'intégrité de l'intestin, montrant qu'elle pouvait réduire l'incidence des diarrhées tout en augmentant l'expression des jonctions serrées (Zou *et al.*, 2006 ; Wang *et al.*, 2015 ; Xing *et al.*, 2017). Le score de l'arginine était au contraire de '0'. Ce résultat provient de deux études différentes rapportant que la supplémentation en L-arginine à fortes doses (1,2% chez des porcelets de 5 kg ou 2,4% chez des porcelets âgés de 3 jours) augmente l'incidence des diarrhées (Zhan *et al.*, 2008 ; Gookin *et al.*, 2008). Fait intéressant, la première de ces deux études indiquait qu'une supplémentation de 0,7% avait, à l'inverse, un effet bénéfique sur l'incidence des diarrhées. De même, le tryptophane avait un score de '0' car deux études différentes ont indiqué que des supplémentations excessives en L-tryptophane (0,2% et 0,75%) étaient associées à une diminution de l'abondance des jonctions serrées (Li *et al.*, 2016).

**Tableau 2** - Scores calculés pour les différents composés (%)

Acides aminés	Morphologie	Fonctions	Intégrité
N-acétylcystéine	100		
Alanyl-glutamine	88,3		
$\alpha$ -cétoglutarate	77,3		
Leucine	73,6		
Arginine	61,4	17	0
Asparagine	60,5		100
Glutamine	52,1	15,5	70
Méthionine	49,5		32
Thréonine	47,6		
Aspartate	44,7	100	40
Glutamine+Glutamate	40,9		
Proline	38,6		
Polyamine	29,7		
AACR <sup>1</sup>	29,4	77,3	
Tryptophane	15,8		0
Glycyl-glutamine	14		

<sup>1</sup>AACR : acides aminés à chaîne ramifiée (valine, isoleucine, leucine)

### 3. DISCUSSION

Cette revue systématique visait à faire la synthèse de l'effet de la supplémentation des acides aminés et des dérivés d'acides aminés sur la morphologie, la fonction et l'intégrité de l'intestin chez les porcelets à partir des données disponibles dans la littérature. D'une part, la synthèse des preuves a montré qu'une supplémentation en glutamine et en arginine avait un effet bénéfique sur la morphologie de l'intestin.

D'autre part, la méthodologie de 'scoring' a montré que la N-acétyl-cystéine, l'aspartate et l'asparagine étaient les acides aminés les plus efficaces pour améliorer la morphologie, la fonction et l'intégrité de l'intestin, respectivement.

Cette même méthodologie a montré que la leucine promouvait la morphologie intestinale lorsque cette dernière était supplémentée seule et ciblait les fonctions digestive et immunitaire lorsqu'elle était associée aux deux autres AACR, valine et isoleucine. Nous avons également observé que des ajouts excessifs de certains AA (arginine, tryptophane) pouvaient avoir des effets délétères sur l'intégrité de l'intestin au-delà d'une certaine dose. Dans la présente partie, à la lumière de la littérature publiée, nous tenterons d'expliquer les principaux résultats décrits dans la section précédente. La glutamine et l'arginine jouent de nombreux rôles dans l'immunité, le développement et l'homéostasie énergétique (Wu, 2009) des fonctions clés liées à la santé intestinale. L'asparagine peut servir de donneur de carbone pour la synthèse de la glutamine et pourrait donc imiter l'effet de la glutamine ce qui expliquerait les hauts scores observés concernant cet acide aminé. Conformément à cette hypothèse, il a été montré que l'asparagine était efficace pour limiter l'apoptose induite par la déplétion en glutamine chez des entérocytes de rats (Papaconstantinou *et al.*, 1998). Notre travail a montré que la N-acétylcystéine était utile pour maintenir la morphologie de l'intestin. Toutefois, si l'on se réfère à des études utilisant d'autres modèles, les résultats de la N-acétylcystéine sur l'intestin sont contradictoires. Chez le rongeur, certaines études ont montré que la N-acétylcystéine exerçait un effet bénéfique sur la barrière intestinale (Oz *et al.*, 2007) tandis que d'autres ont montré que l'exposition intestinale à la N-acétylcystéine augmentait la perméabilité intestinale, diminuait la hauteur des villosités et la couche de mucus (Sharpe *et al.*, 2010). Cette incohérence peut s'expliquer par le fait que, d'une part, la N-acétylcystéine peut avoir une action mucolytique en hydrolysant les liaisons disulfures des mucines (Rubin, 2007) et d'autre part que la N-acétylcystéine est un précurseur stable de la cystéine qui est un composant très abondant des mucines (Lallès *et al.*, 2009) et qui sert également à la synthèse du glutathion, une molécule antioxydante (Wu *et al.*, 2004). Ces résultats suggèrent que l'effet de la supplémentation en N-acétylcystéine dépend de la balance entre les propriétés mucolytique et antioxydante de ces acides aminés.

Comme rapporté dans cette revue systématique, la leucine et les AACR en général exercent des effets bénéfiques sur la morphologie et les fonctions intestinales. En plus de leur rôle de précurseurs de la glutamine, les AACR, et la leucine en particulier, peuvent augmenter la synthèse protéique et diminuer la protéolyse via l'activation de la voie de signalisation mTOR dans l'intestin (Coëffier *et al.*, 2011). De plus, des études récentes ont montré que la supplémentation en leucine diminuait la concentration plasmatique de thréonine sans en altérer la digestibilité, suggérant ainsi que la leucine pourrait augmenter l'utilisation de la thréonine pour la synthèse des mucines (Mao *et al.*, 2015). Concernant l'effet sur l'immunité, de nombreuses preuves indiquent que cette fonction est modulée par l'effet des acides aminés sur mTOR (Powell *et al.*, 2012). L'effet bénéfique de la supplémentation en aspartate, en glutamate et en  $\alpha$ -cétoglutarate sur l'intestin est principalement basé sur leur capacité à alimenter les entérocytes en énergie. En effet, il a été démontré que presque tout l'aspartate et le glutamate alimentaires est oxydé par les entérocytes (Wu, 1998). De même, l' $\alpha$ -cétoglutarate, produit par transamination du glutamate, peut entrer dans la mitochondrie et rejoindre le cycle de l'acide tricarboxylique (TCA) pour fournir de l'ATP aux cellules de l'intestin (Blachier *et al.*, 2009).

L'effet bénéfique de l' $\alpha$ -cétoglutarate et du glutamate peut également reposer sur le fait que ces deux molécules peuvent éviter l'utilisation de la glutamine en inhibant son oxydation dans les entérocytes (Blachier *et al.*, 1999).

Ce travail confirme que la supplémentation en acides aminés fonctionnels ou leurs dérivés peut contribuer à la santé et au

développement de l'intestin des porcelets, en particulier autour du sevrage.

En outre, chaque acide aminé ciblant différents paramètres liés à la santé de l'intestin, ceci suggère des synergies potentielles entre ces molécules qui devront être vérifiées lors d'essais *in vivo*.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Blachier F., Guihot-Joubrel G., Vaugelade P., Le Boucher J., Bernard F., Dué P., Cynober L., 1999. Portal hyperglutamemia after dietary supplementation with monosodium glutamate in pigs. *Digestion*, 60, 349–357.
- Blachier F., Boutry C., Bos C., Tomé D., 2009. Metabolism and functions of L-glutamate in the epithelial cells of the small and large intestines. *Am. J. Clin. Nutr.*, 90, 814S–821S.
- Chalvon-Demersay T., Azzout-Marniche D., Arfsten J., Egli L., Gaudichon C., Karagounis L.G., Tomé D., 2017. A systematic review of the effects of plant compared with animal protein sources on features of metabolic syndrome. *J. Nutr.*, 147, 281–292.
- Coëffier M., Claeysens S., Bensifi M., Leclaire S., Boukhettala N., Maurer B., Donnadiou N., Lavoine A., Cailleux A.-F., Déchelotte P., 2011. Influence of leucine on protein metabolism, phosphokinase expression, and cell proliferation in human duodenum1,3. *Am. J. Clin. Nutr.*, 93, 1255–1262.
- Gookin J.L., Foster D.M., Coccaro M.R., Stauffer S.H., 2008. Oral delivery of L-arginine stimulates prostaglandin-dependent secretory diarrhea in *Cryptosporidium parvum*-infected neonatal piglets. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 46, 139–146.
- Gresse R., Chaucheyras-Durand F., Fleury M.A., Van de Wiele T., Forano E., Blanquet-Diot S., 2017. Gut microbiota dysbiosis in postweaning piglets: understanding the keys to health. *Trends Microbiol.*, 25, 851–873.
- Hou Y., Wang L., Zhang W., Yang Z., Ding B., Zhu H., Liu Y., Qiu Y., Yin Y., Wu G., 2012. Protective effects of N-acetylcysteine on intestinal functions of piglets challenged with lipopolysaccharide. *Amino Acids*, 43, 1233–1242.
- Lallès J.-P., Boudry G., Favier C., Le Floc'h N., Luron I., Montagne L., Oswald I.P., Pié S., Piel C., Sève B., 2004. Gut function and dysfunction in young pigs: physiology. *Anim. Res.*, 53, 301–316.
- Lallès J.P., Bosi P., Janczyk P., Koopmans S.J., Torrallardona D., 2009. Impact of bioactive substances on the gastrointestinal tract and performance of weaned piglets: a review. *Anim. Int. J. Anim. Biosci.*, 3, 1625–1643.
- Li X., Jiang M., Ruan Z., Mi S., Wu X., Yao K., Xiong X., Zhou Y., Yin Y., 2016. Tryptophan increases intestinal permeability and decreases intestinal tight junction protein expression in weanling piglets. *J. Anim. Sci.*, 94, 87–90.
- Liberati A., Altman D.G., Tetzlaff J., Mulrow C., Gøtzsche P.C., Ioannidis J.P.A., Clarke M., Devereaux P.J., Kleijnen J., Moher D., 2009. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate health care interventions: explanation and elaboration. *PLoS Med.*, 6, e1000100.
- Mao X., Liu M., Tang J., Chen H., Chen D., Yu B., He J., Yu J., Zheng P., 2015. Dietary leucine supplementation improves the mucin production in the jejunal mucosa of the weaned pigs challenged by porcine rotavirus. *PLoS One*, 10, e0137380.
- Oz S., Okay E., Karadenizli A., Cekmen M.B., Ozdogan H.K., 2007. N-acetylcysteine improves intestinal barrier in partially hepatectomized rats. *ANZ J. Surg.*, 77, 173–176.
- Papaconstantinou H.T., Hwang K.O., Rajaraman S., Hellmich M.R., Townsend C.M., Ko T.C., 1998. Glutamine deprivation induces apoptosis in intestinal epithelial cells. *Surgery*, 124, 152–160.
- Pluske J.R., Hampson D.J., Williams I.H., 1997. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. *Livest. Prod. Sci.*, 51, 215–236.
- Pi D., Liu Y., Shi H., Li S., Odle J., Lin X., Zhu H., Chen F., Hou Y., Leng W., 2014. Dietary supplementation of aspartate enhances intestinal integrity and energy status in weanling piglets after lipopolysaccharide challenge. *J. Nutr. Biochem.*, 25, 456–462.
- Powell J.D., Pollizzi K.N., Heikamp E.B., Horton M.R., 2012. Regulation of immune responses by mTOR. *Annu. Rev. Immunol.*, 30, 39–68.
- Ren M., Zhang S., Zeng X., Liu H., Qiao S., 2015. Branched-chain amino acids are beneficial to maintain growth performance and intestinal immune-related function in weaned piglets fed protein restricted diet. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.*, 28, 1742.
- Rubin B.K., 2007. Mucolytics, expectorants, and mucokinetic medications. *Respir. Care*, 52, 859–865.
- Sharpe S.M., Qin X., Lu Q., Feketeova E., Palange D.C., Dong W., Sheth S.U., Lee M.A., Reino D., Xu D.-Z., 2010. Loss of the intestinal mucus layer in the normal rat causes gut injury but not toxic mesenteric lymph nor lung injury. *Shock Augusta Ga*, 34, 475–481.
- Sun Y., Wu Z., Li W., Zhang C., Sun K., Ji Y., Wang B., Jiao N., He B., Wang W., 2015. Dietary L-leucine supplementation enhances intestinal development in suckling piglets. *Amino Acids*, 47, 1517–1525.
- Wang H., Zhang C., Wu G., Sun Y., Wang B., He B., Dai Z., Wu Z., 2017. Aspartate attenuates intestinal injury and inhibits TLR4 and NODs/NF- $\kappa$ B and p38 signaling in weaned pigs after LPS challenge. *Eur. J. Nutr.*, 56, 1433–1443.
- Wang H., Liu Y., Shi H., Wang X., Zhu H., Pi D., Leng W., Li S., 2015. Glutamine enhances tight junction protein expression and modulates corticotropin-releasing factor signaling in the jejunum of weanling piglets. *J. Nutr.*, 145, 25–31.
- Wu G., 2009. Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. *Amino Acids*, 37, 1–17.
- Wu G., 1998. Intestinal mucosal amino acid catabolism. *J. Nutr.*, 128, 1249–1252.
- Wu G., Fang Y.-Z., Yang S., Lupton J.R., Turner N.D., 2004. Glutathione metabolism and its implications for health. *J. Nutr.*, 134, 489–492.
- Xing S., Zhang B., Lin M., Zhou P., Li J., Zhang L., Gao F., Zhou G., 2017. Effects of alanyl-glutamine supplementation on the small intestinal mucosa barrier in weaned piglets. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.*, 30, 236–245.
- Zhan Z., Ou D., Piao X., Kim S.W., Liu Y., Wang J., 2008. Dietary arginine supplementation affects microvascular development in the small intestine of early-weaned pigs. *J. Nutr.*, 138, 1304–1309.
- Zhu L., Cai X., Guo Q., Chen X., Zhu S., Xu J., 2013. Effect of N-acetyl cysteine on enterocyte apoptosis and intracellular signalling pathways' response to oxidative stress in weaned piglets. *Br. J. Nutr.*, 110, 1938–1947.
- Zou X.T., Zheng G.H., Fang X.J., Jiang J.F., 2006. Effects of glutamine on growth performance of weanling piglets. *Czech J. Anim. Sci. - UZPI Czech Repub.*, 51, 444.