A SOLUBILIDADE DAS PREPARAÇÕES DE PAREDE CELULAR DE LEVEDURA AFETA SUAS PROPRIEDADES PREBIÓTICAS EM CÃES

Stephanie S. Theodoro[1], Thaila C. Putarov[1], Caroline T. Ikuda[1], Lara M. Volpe[1], Fernanda S. Mendonça[1], Camila Goloni[1], Amanda V. Takahashi[1], Leticia G. Pacheco[1], Peterson D. G. Pacheco[1], Caroline A. Garcia[1], Erico M. Ribeiro[1], Aulus C. Carciofi[1]

[1]Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/Unesp, Jaboticabal - SP
Contato: sstheodoro@gmail.com

Resumo: Uma formulação recebeu 0% (CON), 0,3% de parede celular de levedura (PCL) convencional ou 0,3% de parede de celular de levedura solúvel (PCLs). Foram utilizados 24 cães beagle com oito repetições por dieta, em delineamento em blocos casualizados. Cada bloco durou 32 dias, foram coletados sangue e fezes no início e final para análise das citocinas, produção de intermediários reativos de oxigênio e nitrogênio, atividade fagocítica de neutrófilos e monócitos e concentração de IgA fecal. Foi avaliado a digestibilidade dos nutrientes e produtos de fermentação microbiana nas fezes. Os dados imunológicos foram avaliados por análise de covariância, os demais por análise de variância, sendo comparadas pelo teste de Tukey ($p<0,05$). Foi verificado aumento da concentração de butirato e putrescina, com diminuição de lactato nas fezes e menor concentração plasmática de IL-6 nos cães alimentados com PCLs ($p<0,05$). O consumo da dieta PCL aumentou a atividade fagocítica dos monócitos ($p<0,05$), com tendência de redução da IL-6 comparada a dieta controle. Concluiu-se que a PCLs, devido à maior fração de mananoligossacarídeos solúveis (MOSs), foi mais fermentada alterando o ambiente intestinal e reduzindo a atividade inflamatória dos cães, enquanto a PCL estimulou da imunidade inata dos animais.
Palavras Chave: Mananoligossacarídeos, prebiótico, imunidade, saúde intestinal

THE SOLUBILITY OF YEAST CELL WALL PREPARATIONS INFLUENCE ON THEIR PREBIOTIC PROPERTIES IN DOGS

Abstract: A single formulation received 0% (control, CON), 0.3% of conventional yeast cell wall (PCL) or 0.3% of soluble yeast cell wall (PCLs). Twenty-four beagle dogs with eight replications per diet were used, in a randomized blocks. Each block lasted 32 days and blood and feces was collected at the beginning and end to analyze cytokines, reactive oxygen and nitrogen intermediates production, neutrophil and monocyte phagocytic activity and fecal IgA. Nutrients digestibility, and fermentation products in feces was also evaluated. The immunological data were analyzed by covariance analysis and the others by ANAVA, means were compared by the Tukey's test ($p <0.05$). Higher butyrate and putrescine, and lower lactate on feces with reducedIL-6 on plasma ($p<0,05$) were verified for dogs fed the PCLs diet. The intake of the PCL diet increased monocyte phagocytic activity with a tendency to reduce IL-6 compared to the control diet. It was concluded that the PCLs, with higher soluble mannooligosaccharides (MOSs), was more fermented altering the gut environment and reducing the inflammatory activity of dogs, while the intake of the conventional PCL stimulated the innate immunity of the animals.
Keywords: Mannanoligosaccharides, prebiotic, immunity, intestinal health

Introdução: A saúde intestinal é dependente da inter-relação entre microbiota e nutrição, que se reflete no status imunológico e saúde geral de cães (Maria et al., 2017). A PCL é fonte de energia para os microorganismos intestinais, reconhecida como prebiótico para cães (Spring et al., 2015), agindo na produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), regulação do pH do cólon e competição com patógenos (Park et al., 2017). A PCLs é produto purificado, com maior concentração de mananoligossacarídeos solúveis (MOSs), menor tamanho de partícula e alta solubilidade em água; características que podem expor a PCLs à microbiota intestinal e induzir diferentes respostas biológicas (Spring et al., 2015). Assim, objetivou-se avaliar os efeitos da adição de duas preparações de parede celular de leveduras, com diferentes quantidades de MOSs sobre a digestibilidade dos nutrientes, produtos de fermentação microbiana e parâmetro imunológicos de cães adultos.

Material e Métodos: Foram utilizados 24 cães beagle (3,5±0,91), divididos em três dietas extrusadas: controle (CON), 0,3% PCL (composição: MOSs 2,1%, glucanas 25,1% e índice de solubilidade em água 19,6%) e 0,3% PCLs (composição: MOSs 22,2%, glucanas 24,9% e índice de solubilidade em água 42,3%). O experimento seguiu delineamento em blocos casualizados, com dois blocos de oito cães por tratamento. Nos dias zero, 15 e 30 amostras de sangue foram coletadas para avaliar a atividade fagocítica de monócitos e neutrófilos. Nos dias zero e 30 foi coletado sangue para análises de citocinas IL-6, IL-10 e FNT-α e determinação da produção de intermediário reativos de oxigênio e nitrogênio. Fezes frescas foram coletadas para quantificação de IgA. Adicionalmente foi avaliada a digestibilidade dos nutrientes e as concentrações de AGCC, aminas biogênicas, lactato e amônia das fezes A atividade fagocítica das células foi avaliada por citômetro de fluxo. A análise de citocinas e quantificação de IgA foram realizadas por ELISA. As células mononucleares e polimorfonucleares foram obtidas por gradientes de separação, cultivadas e avaliadas por ELISA. Os AGCC e ácidos graxos de cadeia ramificada nas fezes foram avaliados por cromatografia gasosa, lactato em destilador de nitrogênio, amônia em espectofotômetro, pH em leitura de pHmêtro e a aminas por HPLC. As análises estatísticas foram realizadas pelo software R. Os dados foram submetidas a análise de variância, para parâmetros imunológicos os dados iniciais foram utilizados como covariável.. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p\leq0,05$).

Resultado e Discussão: A inclusão de PCLs reduziu a digestiblidade da gordura ($p<0,05$), o que poderia ser atribuído ao seu efeito de fibra solúvel no trato intestinal (de-Oliveira et al., 2012). A ingestão da PCLs, por sua

maior concentração de mananoligossacarídeos solúveis alterou o metabolismo e a fermentação da microbiota intestinal, evidenciado pela maior produção de butirato e putrescina e menor lactato nas fezes ($p<0,05$). Maior produção de AGCC, em especial de butirato, é efeito benéfico esperado dos prebióticos. O consumo da PCLs reduziu a concentração de IL-6 no plasma ($p<0,05$), indicando redução da atividade inflamatória dos animais. O consumo da dieta PCL demonstrou tendência a redução da IL-6 e levou ao aumento da atividade fagocítica dos monócitos de sangue periférico ($p<0,05$), importante critério para avaliação da imunidade inata (Oliveira et al., 2019). Este resultado pode ser relacionado a interação direta da fração de mananoligossacarídeos e/ou 1,3/1,6-β glucanos da PCL com as células dendríticas da mucosa intestinal. Algumas limitações a serem consideradas são o uso somente de animais saudáveis e não se saber o efeito a longo prazo do uso destes produtos (Tabela 1).

Tabela 1. Digestiblidade (%), ácidos graxos voláteis (mMol/g na matéria seca), ácido lático (mMol/kg na matéria seca) e concentração de amina biogênica (mg/100g em matéria seca) em fezes e concentração de citocinas (pg/mL) e índice de atividade fagocitária de monócitos em sangue de cães alimentados com dietas com adição de diferentes preparações da parede celular de levedura (média e erro padrão da média).

	Dietas[1]			*p-valor*
	CON	PCL	PCLs	
Digestibilidade				
Extrato etéreo	$94,3^{a}\pm0,2$	$92,4^{ab}\pm0,6$	$91,6^{b}\pm0,7$	0,007
Produtos de fermentação				
Ácido butírico	$46,8^{b}\pm1,8$	$43,7^{b}\pm2,3$	$55,6^{a}\pm2,5$	0,012
Ácido lático*	$2,7^{a}\pm0,3$	$2,9^{a}\pm0,3$	$1,7^{b}\pm0,1$	0,008
Aminas				
Putrescina*	$9,5^{b}\pm1,6$	$10,3^{b}\pm1,9$	$17,0^{a}\pm3,4$	0,002
Citocinas				
IL-6*	$21,3^{a}\pm1,5$	$16,7^{ab}\pm1,3$	$16,0^{b}\pm1,3$	0,037
Atividade fagocítica				
Monócitos*	$54,6^{b}\pm5,1$	$74,8^{a}\pm5,1$	$64,5^{ab}\pm5,0$	0,030

[1] CON = preparação sem parede celular de levedura; PCL = parede celular de levedura convencional; PCLs = parede celular de levedura com 20% de mananoligossacarídeo solúvel.

* Valores transformados para log x + 1 na análise estatística.

[a, b] = médias da linha com diferença estatística ($p<0,05$).

Conclusão: Efeito imunomodulador positivo foi verificado nas dietas com inclusão da PCL convencional e solúvel. A PCLs alterou o metabolismo da microbiota intestinal, com o aumento de butirato e putrescina e redução de lactato, bem como reduziu a resposta inflamatória pela diminuição da IL-6. A PCL tendeu a reduzir a IL-6 e estimulou a imunidade inata, pelo aumento da atividade fagocítica dos monócitos.

Agradecimentos: À CAPES e FAPESP pelo auxílio financeiro. À Affinity e Manfrim pelo suporte ao Laboratório. À Biorigin pelo financiamento do projeto.

Referências Bibliográficas: Maria APJ, Ayane L, Putarov TC, Loureiro BA, Neto BP, Casagrande MF, Gomes MOS, Glória MBA, Carciofi AC.The effect of age and carbohydrate and protein sources on digestibility, fecal microbiota, fermentation products, fecal IgA, and immunological blood parameters in dogs. Journal Animal Science. 2017; 95(6): 2452-2466. Spring P, WenK C, Connolly A, Kiers A. A review of 733 published trials on Bio-Mos®, a mannan oligosaccharide, and Actigen®, a second generation mannose rich fraction, on farm and companion animals. Journal Applied Animal Nutrition. 2015; 3 (7): 1-11. Park SH, Lee SI, Kim SA, Christensen K, Ricke SC. Comparison of antibiotic supplementation versus a yeast-based prebiotic on the cecal microbiome of commercial broilers. PLOS ONE. 2017; 12(8). de-Oliveira LD, Takakura FS, Kienzle E, Brunetto MA, Teshima E, Pereira GT, Vasconcellos RS, Carciofi AC. Fibre analysis and fibre digestibility in pet foods – a comparison of total dietary fibre, neutral and acid detergent fibre and crude fibre. Animal Physiology and Animal Nutrition. 2012; 96: 895-906.Oliveira CAF, Vetvicka V, Zanuzzo FS. β-Glucan successfully stimulated the immune system in different jawedvertebrate species. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases. 2019; 62: 1–6.