

## EFEITOS DAS BETA-1,3/1,6- GLUCANAS DE LEVEDURA SOBRE VARIÁVEIS IMUNES E ANTIOXIDANTES EM CÃES FILHOTES SUBMETIDOS A CIRURGIA DE CASTRAÇÃO

RENATA B. M. S. SOUZA<sup>1</sup>, LAIANE S. LIMA<sup>1</sup>, THAINÁ B. MEDEIROS<sup>1</sup>, MARCELLE PONS<sup>1</sup>, HELOÍSA L. SILVA<sup>1</sup>, VANESSA R. OLSZEWSKI<sup>1</sup>, THAILA C. PUTAROV<sup>2</sup>, SIMONE G. OLIVEIRA<sup>1</sup>, ANANDA P. FÉLIX<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Paraná, UFPR, Campus Ciências Agrárias, Curitiba, PR, Brasil. <sup>2</sup>Biorigin, Lençóis Paulistas, Brasil.

Contato: renata.bacila@ufpr.br / Apresentador: RENATA B. M. S. SOUZA

**Resumo:** Objetivou-se avaliar o impacto do consumo de beta-1,3/1,6-glucanas (BG) sobre variáveis imunes e antioxidantes em cães filhotes antes e após desafio cirúrgico. Dois tratamentos foram avaliados: controle, sem, e teste, com suplementação oral de 65 mg/kg de peso corporal/dia de BG purificadas de *Saccharomyces cerevisiae* por 60 dias. Para isso, foram usados 16 cães filhotes da raça Beagle (idade inicial de 3 meses) distribuídos inteiramente ao acaso (n=8/tratamento). No dia 31, os cães foram submetidos a cirurgia de castração. Amostras de fezes (dias 0, 15, 30, 34 e 60) e sangue (dias 0, 30, 34 e 60) foram coletadas para avaliação de imunoglobulina A (IgA) fecal, concentração sérica de NF- $\kappa$ B e atividade das enzimas superóxido dismutase, catalase (CAT), glutatona reduzida (GSH) e peroxidação lipídica. Como resultado, observou-se que a suplementação de BG promoveu aumento nas concentrações fecais de IgA no dia 15 (P<0,05), bem como maiores atividades de GSH e CAT, em comparação ao grupo controle (P<0,05), independente do dia. Em conclusão, a suplementação de BG estimula o sistema imune e a atividade das enzimas antioxidantes endógenas em cães filhotes independentemente do desafio cirúrgico.

**PalavrasChaves:** Catalase, IgA, *Saccharomyces cerevisiae*.

## EFFECTS OF YEAST BETA-1,3/1,6- GLUCANS ON IMMUNE AND ANTIOXIDANT VARIABLES IN GROWING DOGS SUBMITTED TO SPAY OR NEUTERING SURGERY

**Abstract:** This study aimed to assess the impact of yeast beta-1,3/1,6-glucans (BG) on immune and antioxidant variables in puppies before and after surgical challenge. Two treatments were evaluated: control, without, and test, with oral supplementation of 65 mg/kg body weight/day of purified BG from *Saccharomyces cerevisiae* for 60 days. For this, 16 growing Beagle dogs (initial age of 3 months) were distributed in a completely randomized design (n = 8/treatment). On day 31, the dogs were submitted for spaying or neutering surgery. Fecal (days 0, 15, 30, 34, and 60) and blood (days 0, 30, 34, and 60) samples were collected to evaluate fecal immunoglobulin A (IgA), serum concentrations of NF- $\kappa$ B and serum antioxidant markers by measuring superoxide dismutase, catalase (CAT), reduced glutathione (GSH), and lipid peroxidation. As a result, the supplementation of BG promoted an increase in fecal IgA concentrations on day 15 (P<0.05). The GSH and CAT activities were higher in the BG group (P<0.05), regardless of the day. In conclusion, the supplementation of BG stimulates the immune system and the activity of antioxidant enzymes in growing dogs regardless of the surgical challenge.

**Keywords:** Catalase, IgA, *Saccharomyces cerevisiae*.

**Introdução:** Os cães enfrentam uma série de desafios ambientais durante a fase de crescimento. Esses desafios, aliados à imaturidade imunológica, podem causar desequilíbrios no sistema antioxidante e anti-inflamatório (Topol; Kamysny, 2013). Nesse contexto, dietas balanceadas, associadas a aditivos, podem ser uma estratégia interessante. Dentre os aditivos estudados, destacam-se as beta-1,3/1,6-glucanas (BG) purificadas da levedura *S. cerevisiae*, conhecidas por ativarem o sistema imune ao se ligarem a receptores celulares. Essa interação modula a imunidade inata e adaptativa, incluindo mecanismos anti-inflamatórios (Rychlik et al., 2013) e antioxidantes (Tang et al., 2017) em cães adultos. Entretanto, não foram encontrados estudos avaliando o efeito oral das BG em filhotes submetidos a desafios. Assim, objetivou-se analisar os efeitos de BG de levedura sobre a imunoglobulina A (IgA) fecal e marcadores inflamatórios e antioxidantes em cães filhotes submetidos a cirurgia de castração.

**Material e Métodos:** O estudo foi aprovado pela Comissão de ética no uso de animais. Foram avaliados dois tratamentos: controle, sem, e teste, com fornecimento via oral de 65 mg/kg de peso corporal/dia de BG purificadas da levedura *S. cerevisiae* por 60 dias. O produto foi pesado diariamente em balança de precisão e adicionado sobre o alimento no momento do fornecimento. A dieta base foi um alimento seco extrusado, sem aditivos funcionais, atendendo as recomendações para cães em crescimento da FEDIAF (2024). Para isso, foram utilizados 16 cães filhotes saudáveis da raça Beagle (8 machos e 8 fêmeas), com idade inicial de 3 meses e peso corporal médio de 4,06  $\pm$  0,50 kg, distribuídos inteiramente ao acaso. Os cães foram submetidos a cirurgia de castração no dia 31 do experimento. Amostras de fezes frescas (dias 0, 15, 30, 34 e 60) foram coletadas para avaliar IgA. Para a análise da resposta anti-inflamatória e antioxidante, foi coletado sangue nos dias 0, 30, 34 e 60 para a mensuração da expressão de NF- $\kappa$ B p65 por ELISA e da atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutatona reduzida (GSH) e peroxidação lipídica (LPO) por ensaios enzimáticos. Os dados foram testados quanto a sua normalidade e, quando atendida essa premissa, analisados por análise de covariância (ANCOVA) em parcela subdividida no tempo, utilizando o dia 0 como covariável (P<0,05). Quando foi observado efeito de dia, ou interação tratamento x dia, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (P<0,05). A IgA fecal foi analisada pelo teste de Mann-Whitney (P<0,05).

**Resultado e Discussão:** As BG possuem estrutura molecular que permite seu reconhecimento pelas células B, produtoras de IgA (De Marco Castro; Calder; Roche, 2021). Nesse sentido, no dia 15, observou-se aumento na IgA fecal do grupo BG em

comparação ao controle ( $P < 0,05$ , Figura 1). Esse resultado é relevante, pois a IgA é a principal Ig secretada na mucosa intestinal, essencial para proteção contra microrganismos invasores (Woof; Kerr, 2006). No entanto, esse aumento foi temporário, uma vez que nos dias 30, 34 e 60 essa diferença não foi mais observada ( $P > 0,05$ , Figura 1). Isso sugere uma resposta inicial intensa, seguida de estabilização, provavelmente devido à estimulação contínua dos receptores Dectina-1 e TLR2, que direcionam a resposta para a produção de outras células imunes (Gantner et al., 2003). Essa capacidade de modulação pode também conferir às BG efeito anti-inflamatório e antioxidante. Nesse estudo, não observamos aumento do NF- $\kappa$ B ( $P < 0,05$ , dados não apresentados). Apesar disso, a atividade da GSH no dia 60 e da CAT nos dias 30 e 60 (em relação ao dia zero), foram maiores no grupo BG, em comparação ao grupo controle ( $P < 0,05$ , Figura 2). Do mesmo modo, quando avaliado apenas o efeito de tratamento, independente do dia, o grupo BG apresentou maior GSH (62,3 vs. 45,9 pmol/mL) e CAT (10,3 vs. 8,09 U/mL), que o grupo controle, respectivamente ( $P < 0,05$ ). Resultados semelhantes em outras espécies já foram documentados, demonstrando possível efeito das BG como estimulantes do sistema antioxidante (Liu et al., 2018). Não houve diferença nas demais variáveis ( $P > 0,05$ , dados não apresentados).

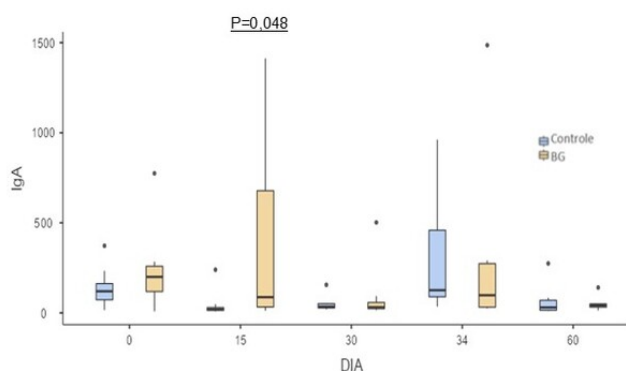


Figura 1. Valores médios da concentração de IgA fecal ( $\mu\text{g/ml}$ ) de cães sem (controle) ou com suplementação de BG nos dias 0, 15, 30 (antes da cirurgia), 34 (após cirurgia) e 60.  $P=0,048$  no dia 15 pelo teste de Mann-Whitney.

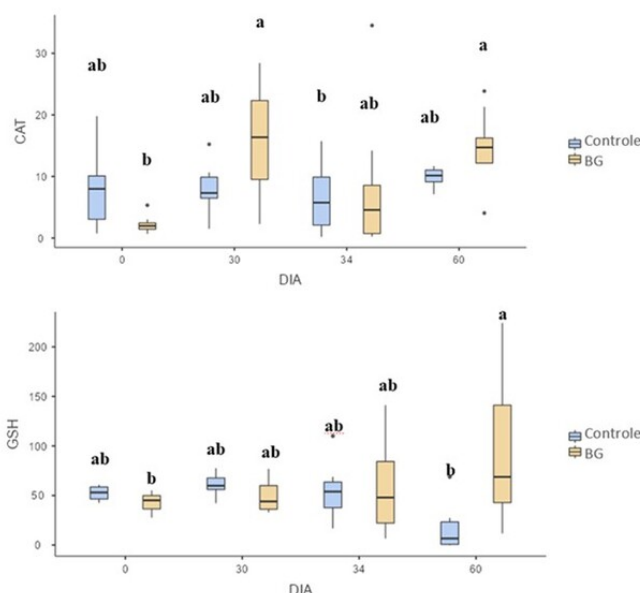


Figura 2. Valores médios da atividade de catalase (CAT, U/mL) e glutatona reduzida (GSH, pmol/mL) em cães sem (controle) ou com suplementação de BG nos dias 0, 15, 30 (antes da cirurgia), 34 (após cirurgia) e 60. <sup>a,b</sup>Médias seguidas por letras distintas diferem pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

**Conclusão:** A ingestão de BG purificadas de *Saccharomyces cerevisiae* pode modular o sistema imune, como evidenciado pelo aumento da IgA fecal após 15 dias de suplementação. Além disso, foi observado efeito antioxidante, com aumento da atividade das enzimas GSH e CAT em cães filhotes independentemente do desafio cirúrgico.

**Agradecimentos:** Agradecimento ao CNPQ pela bolsa do primeiro autor, Biorigin pelo apoio à pesquisa e VB alimentos pelo suporte ao laboratório.

**Referências Bibliográficas:** DE MARCO CASTRO et al.  $\beta$ -1,3/1,6-Glucans and Immunity: State of the Art and Future Directions. *Molecular Nutrition & Food Research*, v. 65, n. 1, 2021. FEDIAF. (2024) European Pet Food Industry Federation. Nutritional Guidelines: for complete and complementary pet food for cats and dogs. GANTNER, B. N. et al. Collaborative Induction of Inflammatory Responses by Dectin-1 and Toll-like Receptor 2. *The Journal of Experimental Medicine*, v. 197, n. 9, p. 1107–1117, 2003. LIU, N. et al. Effect of supplemental yeast cell walls on growth performance, gut mucosal glutathione pathway, proteolytic enzymes and transporters in growing broiler chickens. *Journal of Animal Science*, v. 96, n. 4, p. 1330–1337, 2018. RYCHLIK, A. et al. The effectiveness of natural and synthetic immunomodulators in the treatment of inflammatory bowel disease in dogs. *Acta Veterinaria Hungarica*, v. 61, n. 3, p. 297–308, 2013. TANG, Q. et al. The antioxidant activities of six (1 ? 3)- $\beta$ -D-glucan derivatives prepared from yeast cell wall. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 98, p. 216–221, 2017. TOPOL, I.; KAMYSHNY, A. Study of expression of TLR2, TLR4 and transcription factor NF- $\kappa$ B structures of gait of rats in the conditions of the chronic social stress and modulation of structure of intestinal microflora. *Georgian medical news*, n. 225, p. 115–122, 2013. WOOF, J. M.; KERR, M. A. The function of immunoglobulin A in immunity. *The Journal of Pathology*, v. 208, n. 2, p. 270–282, 2006.