

IMPACTO DE PEPTÍDEOS BIOATIVOS SOBRE A FUNCIONALIDADE INTESTINAL E INDICATIVOS IMUNOLÓGICOS E ANTIOXIDANTES EM CÃES

HELOÍSA LARA SILVA¹, LUANA Z. MASSIRER¹, RENATA B. M. S. SOUZA¹, FELIPE S. DALOLIO², VANESSA R. OLSZEWSKI¹, LAIANE S. LIMA¹, THAINÁ B. MEDEIROS¹, SIMONE G. OLIVEIRA¹, ANANDA P. FÉLIX¹

¹Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil. ²Inbra nutrição animal, Jardim Primavera, Brasil.

Contato: heloisalara@ufpr.br / Apresentador: HELOÍSA LARA SILVA¹

Resumo: O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos de peptídeos bioativos (PBA) sobre a digestibilidade da dieta, metabólitos de fermentação, microbiota fecal e marcadores imunológicos e do sistema antioxidante em cães adultos. Dezesesseis cães foram divididos em dois grupos de oito cães cada: controle, sem, e teste, com suplementação de 1 g de PBA/kg de dieta durante 60 dias. A ingestão de PBA não influenciou a digestibilidade da dieta ($P < 0,05$). O grupo teste apresentou maiores concentrações fecais de acetato, propionato, ácidos graxos de cadeia curta totais, putrescina e cadaverina, em relação ao controle ($P < 0,05$). Cães do grupo teste apresentaram maior riqueza bacteriana (número de ASVs) e menor concentração fecal de tiramina, em relação ao grupo controle ($P < 0,05$). Ainda, o grupo teste apresentou menor permeabilidade intestinal e concentração de linfócitos T-auxiliares e interleucina-6 e maior de linfócitos T-reguladores e glutatona S-transferase, em relação ao grupo controle ($P < 0,05$). As demais variáveis não diferiram entre os grupos ($P > 0,05$). Os resultados indicam que a ingestão de PBA pode ter efeitos benéficos à funcionalidade intestinal e saúde geral de cães.

PalavrasChaves: Inflamação; ingredientes funcionais; microbiota; produtos de fermentação.

IMPACT OF BIOACTIVE PEPTIDES ON GUT FUNCTIONALITY AND IMMUNOLOGICAL AND ANTIOXIDANT MARKERS IN DOGS

Abstract: The present study's objective was to evaluate the effects of bioactive peptides (BAP) over diet digestibility, fermentation metabolites, fecal microbiota and immunological and antioxidant markers on adult dogs. Sixteen dogs were distributed in two groups of eight dogs each: control, without, and test, with supplementation of 1 g of BAP/kg of diet for 60 days. The ingestion of BAP did not influence diet digestibility ($P > 0,05$). The test group presented greater fecal concentrations of acetate, propionate, total short-chained fatty acids (SCFA), putrescine and cadaverine when compared to control ($P < 0,05$). Test group presented higher bacterial richness (number of ASVs) and smaller concentrations of fecal tyramine, in comparison to the control ($P < 0,05$). Also, gut permeability and the and concentration of T-auxiliary lymphocytes and interleukin-6 were smaller on the test group, and concentration of T-regulatory lymphocytes and glutathione S-transferase were greater when compared to the control ($P < 0,05$). Other variables did not differ between groups ($P > 0,05$). These results indicate that the ingestion of BAP may have beneficial effects over dogs' gut functionality and overall health.

Keywords: Inflammation, functional ingredients; microbiota fermentation products.

Introdução: O sistema gastrointestinal exerce função na resposta imunológica e na barreira intestinal de cães (Ziese; Suchodolski, 2021). Parte dessas funções é mediada pelo microbioma intestinal e sua produção de metabólitos, como os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e ramificada (AGCR) (Blake; Suchodolski, 2016; Rowland et al., 2018). Ao modular a microbiota pode-se influenciar a saúde do hospedeiro (Mayorgas; Dotti; Salas, 2021), sendo os peptídeos bioativos (PBA) potenciais aditivos com efeitos modulatórios. Definidos como moléculas pequenas com sequências específicas de aminoácidos, os peptídeos podem apresentar efeitos benéficos sobre a funcionalidade intestinal e saúde geral do organismo (Hou et al., 2017). Dessa forma, este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da suplementação de PBA sobre a digestibilidade da dieta, metabólitos de fermentação, microbiota fecal e marcadores imunológicos em cães adultos.

Material e Métodos: O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais. Foram utilizados 16 cães adultos castrados da raça Beagle, com peso corporal médio de $12,20 \pm 1,33$ kg. Foram avaliados dois tratamentos: controle, sem inclusão de PBA, e teste, contendo 1 g de PBA/kg de dieta, totalizando 8 cães por tratamento, durante 60 dias. Os animais foram alimentados com dietas secas extrusadas para cães adultos e o aditivo contendo PBA foi aplicado por recobrimento na dieta teste. Foi analisada a digestibilidade da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE) e a energia metabolizável (EM) das dietas. Amostras de fezes frescas foram coletadas no dia 60 para análise de escore (1=líquido a 5=seco), matéria seca (MSf), pH, amônia, AGCC, AGCR, aminas biogênicas e microbiota, analisada por sequenciamento do gene 16S rRNA. Foi coletado sangue no dia 60 para análises de resposta inflamatória: NF-KB, interleucinas (IL-6 e IL-10) e fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa) por ELISA; imunológica (linfócitos t-auxiliares e t-reguladores por citometria de fluxo); sistema antioxidante: glutatona S-transferase (GST) e reduzida (GSH), superóxido dismutase (SOD), catalase e lipoperoxidação e permeabilidade intestinal (marcador FITC-dextran). Dados com distribuição normal foram submetidos ao teste t-Student ($P < 0,05$). Os dados não-paramétricos foram analisados pelo teste Mann-Whitney ($P < 0,05$).

Resultado e Discussão: Os PBA não afetaram os CDA dos nutrientes, escore, pH, amônia, AGCR ou MSf ($P < 0,05$, dados não apresentados). O grupo teste apresentou menor concentração fecal de tiramina, mas maior de cadaverina e putrescina ($P < 0,05$, Tabela 1). A maior concentração de acetato, propionato e AGCC totais nas fezes do grupo teste ($P < 0,05$, Tabela 1) sinaliza atividade fermentativa de bactérias com potencial benéfico à funcionalidade intestinal que, também, podem modular o sistema imune associado ao intestino (Brestoff; Artis, 2013; Félix et al., 2022). Esses resultados também podem estar

relacionados à maior riqueza de microrganismos encontrado nas fezes do grupo teste ($P<0,05$) - Controle = 458,9 e Teste = 475,25 (número de ASVs). Apesar disso, não houve diferenças na abundância de gêneros bacterianos entre os grupos ($P>0,05$, dados não apresentados). Cães do grupo teste apresentaram redução na IL-6 e nos linfócitos T-auxiliares e aumento dos linfócitos T-reguladores ($P<0,05$, Tabela 2). Essas alterações podem indicar maior controle de processos inflamatórios no intestino destes animais. Ainda, houve aumento na GST – Controle = 9,56 e Teste = 10,58 nmol/min/ml ($P<0,05$), o que indica possível modulação do sistema antioxidante no grupo teste. As demais citocinas (Tabela 2) e enzimas antioxidantes (não apresentado) não diferiram ($P>0,05$). Houve diminuição da permeabilidade intestinal no grupo teste ($P<0,05$, Tabela 2), indicando que os peptídeos podem contribuir com a barreira da mucosa intestinal (Allenspach et al., 2021; Sacoer et al., 2020).

Tabela 1. Médias dos metabólitos de fermentação intestinal de cães alimentados (teste) ou não (controle) com peptídeos bioativos.

Item	Controle	Teste	EPM	P
AGCC (mmol/kg de matéria seca)				
Acetato	107,44	171,75	10,00	0,004
Propionato	33,72	51,94	3,10	0,013
Butirato	11,52	11,83	1,27	0,904
AGCC totais	152,68	235,51	13,80	0,006
Aminas biogênicas (mg/kg de matéria seca)				
Tiramina	44,94	13,27	4,10	0,034
Espermidina	29,03	32,77	1,68	0,834
Cadaverina	149,17	288,70	33,60	0,047
Putrescina	114,47	211,54	39,50	0,014

EPM: erro padrão da média.

Tabela 2. Médias dos linfócitos e permeabilidade (ug/mL) e medianas de citocinas de cães alimentados (teste) ou não (controle) com peptídeos bioativos.

Item	Controle	Teste	EPM/min-max	P
Linfócitos (%)				
T-auxiliares	95,52	95,10	0,36	0,012
T-reguladores	3,94	4,88	0,34	0,001
Citocinas (pg/mL)				
IL-6	24,81	6,10	6,1-119,4	0,003
IL-10	6,10	6,10	6,1-93,4	0,704
TNF- α	10,00	6,10	6,1-73,3	0,073
Permeabilidade	0,32	0,26	0,02	0,016

EPM: erro padrão da média; Min: mínimo; Max: máximo; IL: interleucina; TNF- α : fator de necrose tumoral α .

Conclusão: A ingestão de PBA não altera a digestibilidade da dieta ou a consistência fecal, mas modula indicadores de melhora da funcionalidade intestinal, como maior produção de AGCC e riqueza da microbiota fecal, além de redução da permeabilidade intestinal. Ainda, os PBA podem modular a resposta imunológica, controlando mediadores inflamatórios em cães.

Agradecimentos: Agradecimentos à Inbra por financiar o projeto e à VB alimentos pelo apoio ao laboratório.

Referências Bibliográficas: ALLENSPACH, K.; MOCHEL, J. P. Current diagnostics for chronic enteropathies in dogs. *Vet. Clin. Pathol.*, v. 50, n. 1, 18-28, 2021. BLAKE, A. B.; SUCHODOLSKI, J. S. Importance of gut microbiota for the health and disease of dogs and cats. *Anim. Front.*, v. 6, n. 3, 37-42, 2016. BRESTOFF, J. R.; ARTIS, D. Commensal bacteria at the interface of host metabolism and the immune system. *Natu. Immunol.*, [S.L.], v. 14, n. 7, 676-684, 18 jun. 2013. FÉLIX, A. P.; SOUZA, C. M. M.; DE OLIVEIRA, S. G. Biomarkers of gastrointestinal functionality in dogs: A systematic review and meta-analysis. *Anim. Feed Sci. and Tech.*, v. 283, 115-183, 2022. HOU, Y. et al. Protein hydrolysates in animal nutrition: industrial production, bioactive peptides, and functional significance. *J. Anim. Sci. Biotech.* 8-24, 2017. MAYORGAS, A.; DOTTE, I.; SALAS, A. Microbial Metabolites, Postbiotics, and Intestinal Epithelial Function. *Molec. Nutri. and Food Res.*, v. 65, n. 5, 1-17, 2021. ROWLAND, I. et al. Gut microbiota functions: metabolism of nutrients and other food components. *Europ. Journ. of Nutr.*, v. 57, n. 1, 1-24, 2018. SACOOR, C.; BARROS, L. M.; MONTEZINHO, L. What are the potential biomarkers that should be considered in diagnosing and managing canine chronic inflammatory enteropathies? *Open Vet. Journal*, v. 10, n. 4, 412-430, 2021. ZIESE, A. L.; SUCHODOLSKI, J. S. Impact of Changes in Gastrointestinal Microbiota in Canine and Feline Digestive Diseases. *Vet. Clin. of North Am. - Small Anim. Pract.*, v. 51, n. 1, 155-169, 2021.