

EFEITOS DA FARINHA DE VÍSCERAS DE AVES HIDROLISADA SOBRE PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS, IMONOLÓGICOS E LIPÍDICOS DE CAES.

THAÍS DE SOUZA ÁVIDA, LUCAS BASSI SCARPIM, CAROLINA CRISTINA DE OLIVEIRA, ANA PAULA GARCIA GONÇALVES, PALOMA RICARDO, STEPHANIE SOUZA THEODORO, CAMILA GOLONI, ELOISE CRISTINA DE RAMOS, AULUS CAVALIERI CARCIOFI.

Faculdade de Ciência Agrárias e Veterinárias - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – FCAV/Unesp, Jaboticabal – SP

Contato: thais.avida@unesp.br / Apresentador: THAÍS DE SOUZA ÁVIDA

Resumo: Os Hidrolisados proteicos apresentam peptídeos bioativos que podem alterar respostas metabólicas e fisiológicas. Dieta controle com farinha de vísceras de aves convencional (FVA) como fonte proteica foi comparada com dietas teste obtidas pela substituição de 25%, 50% e 100% da proteína por farinha de vísceras de aves hidrolisada (FVH). Foram utilizados 32 cães, 8 por dieta. Estes receberam as rações por 30 dias. Foram coletadas fezes no início e final do período para a análise de IgA, e sangue no final do período para análises lipídicas e de citocinas. Os dados de IgA foram submetidos à análise de covariância, os dados lipídicos e de citocinas à análise de variância e os efeitos destes comparados por contrastes polinomiais ($P < 0,05$). Citocinas e LDL não atenderam às suposições da análise de variância e foram comparados usando o teste de Kruskal-Wallis ($P < 0,05$). Cães alimentados com a dieta 100% de FVH apresentaram menor concentração sérica de LDL ($P = 0,03$), IL-2 e TNF- α ($P < 0,05$), com maior concentração fecal de IgA ($P = 0,004$). Conclui-se que cães saudáveis alimentados com a dieta com FVH como fonte proteica apresentaram alterações em lipoproteínas séricas, redução da inflamação e melhor preparo da imunidade intestinal pela elevação da IgA nas fezes.

PalavrasChaves: peptídeos bioativos; imunoglobulina A; citocinas

THE EFFECTS OF HYDROLYZED POULTRY BY-PRODUCT MEAL ON INFLAMMATORY, IMMUNOLOGIC, AND LIPID PARAMETERS IN DOGS.

Abstract: Protein hydrolysates may contain bioactive peptides that can alter metabolic and physiological responses. A control diet with conventional poultry by-product meal as a protein source was compared with test diets obtained by replacing 25%, 50% and 100% of the protein source by hydrolyzed poultry by-product meal (HPM). A total of 32 dogs were used, 8 per diet. Animals received the diets for 30 days. Feces were collected at the beginning and end of the period for IgA analysis, and blood was collected at the end of the period for lipid and cytokine analysis. IgA data were subjected to analysis of covariance, lipid and cytokine data to analysis of variance and their effects were compared using polynomial contrasts ($P < 0.05$). Cytokines and LDL did not meet the assumptions of analysis of variance and were compared using the Kruskal-Wallis test ($P < 0.05$). Dogs fed the 100% HPM diet had lower serum concentrations of LDL ($P = 0.03$), IL-2 and TNF- α ($P < 0.05$), with a higher fecal concentration of IgA ($P = 0.004$). It is concluded that healthy dogs fed a diet with HPM as a protein source showed changes in serum lipoproteins, reduced inflammation and better preparation of intestinal immunity due to the increase in IgA in feces.

Keywords: Bioactive peptides; immunoglobulin A; cytokines.

Introdução: Hidrolisados proteicos possuem baixo peso molecular e podem conter peptídeos bioativos que modificam respostas metabólicas e fisiológicas (PARK et al., 2017). Esses peptídeos são considerados benéficos ao organismo, com potencial de contribuir para a melhora da saúde dos animais, apresentando possível atividade imunomoduladora e hipocolesterolêmica (SAADI et al., 2015; ERDMANN et al., 2008). Estudo ex vivo em cães com enteropatia suspeita ou confirmada (KATHRANI, et al., 2019) confirmou a relação entre o consumo de hidrolisado proteico e as concentrações séricas de citocinas. Foi também evidenciada redução da lipoproteína de baixa densidade (LDL) em ratos alimentados com hidrolisado de fígado de frango (WU et al., 2020). O objetivo deste estudo foi comparar o consumo de dietas com quantidades crescentes de FVH em substituição a FVA, verificando possíveis efeitos nas concentrações de IgA fecal, concentrações séricas de colesterol total e frações e de citocinas em cães saudáveis.

Material e Métodos: A substituição da FVA por FVH como fonte de proteína foi avaliada em quatro dietas extrusadas com composições químicas semelhantes: Controle (FVA) e substituição de 25%, 50% e 100% de FVA por FVH como fonte proteica. Trinta e dois cães Beagle saudáveis ($13,3 \pm 0,4$ kg; $4,1 \pm 1,5$ anos; escore de condição corporal 5/9) foram distribuídos em delineamento em blocos casualizados, com quatro blocos de dois animais, totalizando oito cães por dieta. Estes receberam as rações por 30 dias. Foram coletadas fezes frescas no início e final do período para a quantificação de IgA. No final do período sangue foi coletado da veia jugular após jejum de 8 horas para análise das concentrações séricas de colesterol total e frações (HDL, LDL, triglicerídeos; Labtest Diagnóstica S.A, Lagoa Santa, Brasil) e de citocinas. Para detecção de citocinas foi utilizado painel comercial espécie-específico para detecção simultânea de TNF- α , IL-2, IL-6, IL-10 (MILLIPLEX MAP Canine Cytokine/Chemokine Magnetic Bead Panel, Merck Millipore). A quantificação da IgA foi realizada utilizando-se kit de ELISA específico para cães (Bethyl Laboratories, Montgomery, TX, EUA). Os dados de IgA fecal foram submetidos à análise de covariância, os parâmetros lipídicos à análise de variância e os efeitos de ambos foram comparados por contrastes polinomiais segundo o nível de inclusão da FVH ($P < 0,05$). As citocinas séricas e o LDL não atenderam às suposições da análise de variância e foram comparados pelo teste de Kruskal-Wallis ($P < 0,05$). Número de aprovação: 7511/2022.

Resultado e Discussão: Cães alimentados com a dieta com 100% FVH como fonte proteica apresentaram menores

concentrações séricas de LDL que cães alimentados com FVA (P=0,03). Esse mesmo efeito na concentração de LDL foi observado em camundongos alimentados com hidrolisado de fígado de frango (WU et al., 2020). Não foram observadas outras diferenças nos parâmetros lipídicos (P>0,05). Cães alimentados com 100% FVH tiveram menores concentrações séricas de IL-2 e TNF-a (P<0,05). As concentrações de IL-6 e IL-10 foram menores em cães alimentados com 100% FVH do que em animais alimentados com 25% FVH e 50% FVH (P<0,05), apresentando os alimentados com a dieta controle valores intermediários. Em cães com enteropatia crônica suspeita ou confirmada alimentados com dieta comercial com proteína hidrolisada, foi observado menor produção ex vivo de IL-10 e TNF-a quando comparados aos animais que receberam a dieta comercial com proteína intacta (KATRHANI et al., 2019). Peptídeos presentes na proteína hidrolisada podem prevenir a alergia alimentar ao evitar a ligação cruzada de dois receptores de IgE em um mastócito. O presente estudo, no entanto, abriu um potencial mecanismo adicional de ação das proteínas hidrolisadas, uma vez que esta induziu redução da inflamação sistêmica em cães saudáveis. As concentrações de IgA foram maiores nas fezes de cães que receberam a dieta 100% FVH (P=0,004). A IgA secretada pelas mucosas é importante marcador de imunidade e exerce papel importante na proteção das mucosas contra agentes infecciosos (LYCKE et al., 1999; NORRIS E GERSHWIN, 2003).

Tabela 1. Concentração sérica de LDL (mg/dL) e citocinas (pg/mL) e IgA fecal (mg/g de matéria seca das fezes) de cães alimentados com dietas com inclusões crescentes de farinha de vísceras de aves hidrolisada.

Item	Dietas experimentais ¹				EPM ²	P valor	Contraste ³	
	CON	25,0%	50,0%	100,0%			Linear	Quadrático
IgA*	1,29	0,49	1,14	9,12	1,42	0,004	0,081	0,003
Citocinas séricas⁴								
IL2	1822,0 (110,16-16540) a	12098,5 (72,66-24098,5) a	7806,8 (77,26-13567) a	23,1 (1,6-97,91) b	1160,07	0,003	-	-
IL6	1232,7 (67,1-8374) ab	6358,0 (180,9-12504) a	4572,5 (1314-7243) a	49,3 (17,3-88,6) b	656,29	0,007	-	-
IL10	428,9 (253-3945) ab	1588,0 (37-3935) a	956,7 (931-2263) a	87,1 (7,22-506,2) b	230,02	0,020	-	-
TNFa	816,6 (10,8-5171) a	4037,5 (7,5-6150) a	2969,0 (7,8-4149,5) a	5,5 (1,19-22,2) b	230,02	0,040	-	-
Colesterol LDL⁴	94,29 (31,03-149,29) a	72,00 (19,58-210,39) a	43,61 (11,64-142,8) a	27,77 (3,91-44,10) b	8,32	0,030	-	-

¹CO, dieta controle a base de farinha de vísceras de aves convencional; 25% da farinha de vísceras de aves hidrolisada; 50% da farinha de vísceras de aves hidrolisada; 100% da farinha de vísceras de aves hidrolisada como fonte proteica.

² Erro Padrão da Média (n= 8 cães por dieta).

³ Efeito linear ou quadrático da inclusão da farinha de vísceras de aves hidrolisada.

* Valores transformados para valor de *Lambda* para análise estatística.

⁴Para variáveis não-paramétricas são apresentados os valores de mediana (mínimo – máximo).

a, b Medianas nas linhas sem uma letra em comum diferem pelo teste de Kruskal-Wallis P<0,05).

Conclusão: As menores concentrações séricas de LDL, IL-2, TNF-a, IL-6 e IL-10 e maiores concentrações de IgA fecal em animais alimentados com dieta à base de FVH como fonte proteica sugerem efeitos fisiológicos deste hidrolisado, com alterações em lipídeos séricos, redução da inflamação e preparo da imunidade de mucosa.

Agradecimentos: A BRF Ingredients pelo financiamento do estudo e doação da farinha de aves hidrolisada. À ADIMAX Petfood, ADM Pet Food e à BRF Petfood por sua colaboração e suporte ao Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos “Prof. Dr. Flávio Prada”. A Manzoni Industrial pela doação da extrusora usada no estudo. À bolsa de estudos fornecida pelo CNPq.

Referências Bibliográficas: PARK, E. et al. Beneficial Effects of Hydrolysates of Whey Proteins in Spontaneously Hypertensive Rats. *Journal of Food and Nutrition Research*, v. 5, p. 794–800, 2017. SAADI S, SAARI N, ANWAR F, HAMID AA, MOHD-GHAZALI H. Recent advances in food biopeptides: Production, biological functionalities and therapeutic applications. *Biotechnology Advances* 33:80–116, 2015. ERDMANN, K.; CHEUNG, B. W. Y.; SCHRÖDER, H. The possible roles of food-derived bioactive peptides in reducing the risk of cardiovascular disease. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 19, n. 10, p. 643–654, 2008. KATHRANI, Aarti; HALL, Edward. A preliminary study assessing cytokine production following ex vivo stimulation of whole blood with diet in dogs with chronic enteropathy. *BMC veterinary research*, v. 15, p. 1-10, 2019. WU, Y. H. S. et al. Cardiac protection of functional chicken-liver hydrolysates on the high-fat diet induced cardio-renal damages via sustaining autophagy homeostasis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 100, n. 6, p. 2443–2452, 2020. Lycke N, Erlandsson L, Ekman L, et al. Lack of J chain inhibits the transport of gut IgA and abrogates the development of intestinal antitoxic protection. *J Immunol* 1999; 163:913–919. Norris CR e Gershwin LJ. Evaluation of systemic and secretory IgA concentrations and immunohistochemical stains for IgA-containing B cells in mucosal tissues of an Irish setter with selective IgA deficiency. *J Am Anim Hosp Assoc*. 2003; 39, 247–250.