

PREBIÓTICOS NA DIETA DE LEITÕES RECÉM-DESMAMADOS MODULAM A PRODUÇÃO DE PROTEÍNAS DE FASE AGUDA E CITOCINAS PRÓ-INFLAMATÓRIAS

PATRICIA V. A. ALVARENGA¹, MARCOS L. P. TSE¹; RICARDO O. ORSI¹; MAYRA A. D. SALEH¹; RAFAEL F. NALIATO²; VINICIUS R. C. PAULA¹; SILVIA L. FERREIRA¹; CARLOS. R. PADOVANI³; FABIANA G. LUIGGI⁴; DIRLEI A. BERTO¹

¹Depto. Produção Animal, FMVZ/UNESP, Botucatu, SP; ²Depto. Melhoramento e Nutrição Animal, FMVZ/UNESP, Botucatu, SP; ³Depto. Bioestatística, IBB/UNESP, Botucatu, SP; ⁴YES Synergy, Campinas, SP
Contato: patyversuti@gmail.com

Resumo: Foram utilizados 40 leitões (21 dias e peso vivo médio de 7,22kg) alojados num delineamento de blocos ao acaso, com cinco tratamentos e oito repetições com objetivo de avaliar diferentes combinações de prebióticos na dieta, em substituição à antimicrobiano melhorador de desempenho, sobre a produção de proteínas de fase aguda e citocinas, sendo os tratamentos: T1 = dieta basal (DB) + 120ppm de halquinol; T2 = DB + MOS e β -glucano (3,0kg/t); T3 = DB + MOS e β -glucano (2,0kg/t) + GOS e FOS (1,0kg/t) (relação GOS:FOS de 1:9); T4 = DB + MOS e β -glucano (2,0kg/t) + GOS e FOS (1,0kg/t) (relação GOS:FOS de 3:7); T5 = DB + MOS e β -glucano (2,0kg/t) + GOS e FOS (1,0kg/t) (relação GOS:FOS de 5:5). No 14º dia do experimento, os leitões receberam via intramuscular LPS de *E. coli* e mensurou-se a produção de TNF- α , IL-1 β , proteína C-reativa (PCR) e haptoglobina no soro. Houve aumento na produção de PCR ($P < 0,05$) nos leitões que receberam T1, T2 e T3, entre os momentos antes e pós aplicação. Após o desafio, houve aumento ($P < 0,05$) no nível de TNF- α nos animais do T3 e T5, em comparação aos do T1, e aumento na produção de PCR ($P < 0,05$) nos animais do T2 e T3, em comparação aos animais do T4 e T5. Conclui-se que os animais alimentados com T2 e T3 apresentaram resposta imunológica mais eficiente.

Palavras Chave: aditivos; desmame; imunidade; saúde; suínos

PREBIOTICS IN DIET OF WEANLING PIGS MODULATE THE PRODUCTION OF ACUTE PHASE PROTEINS AND PROINFLAMMATORY CITOKINES

Abstract: It were used 40 weaned piglets (21-d-old and average body weight of 7.22kg) housed in a randomized complete block design with five treatments and eight replication to evaluate blends of prebiotics on diet, in replacement to an antimicrobial growth promoter, on the production of acute phase proteins and proinflammatory cytokines. The treatments were: T1= basal diet (BD) + 120ppm of halquinol; T2= BD + MOS and β -glucan (3.0kg/t); T3= BD + MOS and β -glucan (2.0kg/t) + GOS and FOS (1.0kg/t) (GOS:FOS ratio of 1:9); T4= BD + MOS and β -glucan (2.0kg/t) + GOS and FOS (1.0kg/t) (GOS:FOS ratio of 3:7); T5= BD + MOS and β -glucan (2.0kg/t) + GOS and FOS (1.0kg/t) (GOS:FOS ratio of 5:5). On the 14th day of experiment, the piglets received an intramuscular injection of LPS from *E. coli* and it was measured the production of TNF- α , IL-1 β , C-reactive protein (CRP) and haptoglobin in serum. The CRP concentration increased ($P < 0.05$) in the piglets fed T1, T2 and T3, between the moments before and after inoculation. After the inoculation, TNF- α increased ($P < 0.05$) in animals fed T3 and T5, compared to those fed T1, and a higher production of CRP ($P < 0.05$) in the animals fed T2 and T3, compared to animals fed T4 and T5. In conclusion, animals fed T2 and T3 demonstrated more efficient immune response.

Keywords: additives; weaning; immunity; health; swine

Introdução: A preocupação quanto ao surgimento de cepas bacterianas resistentes aos fármacos existentes, em função da utilização de antimicrobianos como melhoradores de desempenho animal, tem resultado em restrições ou banimento de uso em alguns países. Este fato tem imposto o desafio de busca por substâncias capazes de substituir os antimicrobianos, dentre as quais destacam-se os prebióticos, os quais servem como substrato às bactérias benéficas no intestino grosso dos animais, indiretamente trazendo melhorias à saúde. Além disso, alguns destes compostos têm a capacidade de diretamente ativar fagócitos, promovendo maior proteção inata (Kogan e Kocher, 2007), o que é particularmente importante para leitões desmamados precocemente, por serem imaturos fisiologicamente à idade de desmame e susceptíveis à infecções oportunistas. Assim, o objetivo foi avaliar os efeitos da adição de prebióticos em dietas de leitões sobre a concentração de proteínas de fase aguda e citocinas no soro dos animais.

Material e Métodos: O experimento foi realizado na Área de Suinocultura da FMVZ – UNESP, Botucatu/SP, e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (nº 133/2016). Foram utilizados 40 leitões recém-desmamados (21 dias, $7,22 \pm 0,65$ kg) num delineamento experimental de blocos ao acaso, com cinco tratamentos (T) e oito repetições, sendo: T1 = dieta basal (DB) + 120ppm de halquinol; T2 = DB + mananoligossacarídeo (MOS) e β -glucano (3,0 kg/t); T3 = DB + MOS e β -glucano (2,0kg/t) + galacto-oligossacarídeo (GOS) e frutoligossacarídeo (FOS) (1,0kg/t) (relação GOS:FOS de 1:9); T4 = DB + MOS e β -glucano (2,0kg/t) + GOS e FOS (1,0kg/t) (relação GOS:FOS de 3:7); T5 = DB + MOS e β -glucano (2,0kg/t) + GOS e FOS (1,0kg/t) (relação GOS:FOS de 5:5) (Tabela 1). As dietas foram formuladas acordo com Rostagno et al. (2011). No 14º dia do experimento, os leitões receberam via intramuscular 30 μ g kg⁻¹ de peso vivo de lipopolissacarídeo (LPS) de *E. coli* (O55:B5 Sigma Aldrich L2630) dissolvidos em 1mL de solução salina. Foram coletados 8mL de sangue por animal da veia cava, com uso de tubos à vácuo com ativador de coágulo, para posterior centrifugação e obtenção do soro, nos momentos imediatamente antes, três e 24 horas após a aplicação de LPS. Mensurou-se a produção de TNF- α e IL-1 β por método ELISA por meio de kits comerciais. As quantificações de proteína C-reativa (PCR) e haptoglobina foram realizadas por turbidimetria e por fracionamento eletroforético, respectivamente. Os dados

foram submetidos à análise multivariada e as médias comparadas por teste de Bonferroni ($P < 0,05$).

Resultado e Discussão: A aplicação de LPS determinou aumento ($P < 0,05$), entre os momentos antes e após aplicação, nas concentrações de IL-1 β , TNF- α e haptoglobina nos animais de todos os tratamentos e elevação na concentração de PCR ($P < 0,05$) nos leitões que receberam os tratamentos 1, 2 e 3 (Tabela 2), demonstrando ação efetiva do LPS em induzir resposta imune. Após o desafio com LPS, houve aumento ($P < 0,05$) no nível de TNF- α nos animais que receberam os tratamentos 3 e 5, em comparação aos leitões do T1, e aumento na produção de PCR ($P < 0,05$) nos animais submetidos aos tratamentos 2 e 3, em comparação aos animais nos tratamentos 4 e 5, não diferindo ($P > 0,05$) dos animais que receberam o T1 (Tabela 2). A PCR se liga à membrana celular de muitas células, como fagócitos, ativando-os, promovendo assim a fagocitose. Ainda, a PCR é capaz de reduzir danos teciduais, de modo que o aumento na sua concentração promove cicatrização mais eficiente (Tizard, 2014). O aumento na concentração de PCR após aplicação de LPS verificada nos animais dos tratamentos 1, 2 e 3, é coerente com o aumento também verificado na produção de TNF- α , pois essa citocina induz a produção de proteínas de fase aguda. Contudo, considerando que a produção exacerbada de TNF- α pode ser prejudicial por induzir imunossupressão (Tizard, 2014), é provável que o maior teor sanguíneo de TNF- α verificado nos leitões do T5 tenha sido responsável pela ausência de efeito na concentração de PCR após o desafio com LPS, ou seja, o T5 determinou alta secreção de TNF- α após o desafio, porém, não resultou em efeito benéfico na produção de PCR.

Tabela 1. Níveis de inclusão (%) de mananoligossacarídeos (MOS), β -glucano, galactoligossacarídeo (GOS), frutoligossacarídeo (FOS) e do antimicrobiano melhorador de desempenho nas dietas experimentais de leitões recém-desmamados

	Tratamentos, %				
	T1	T2	T3	T4	T5
MOS + β -glucano	-	0,300	0,200	0,200	0,200
GOS	-	-	0,01	0,03	0,05
FOS	-	-	0,09	0,07	0,05
Halquinol (Clorohidroxiquinolina 60%)	0,020	-	-	-	-

Tabela 2. Citocinas (IL-1 β e TNF- α) e proteínas de fase aguda (proteína C-reativa e haptoglobina) no soro dos leitões nos momentos antes e após o desafio com LPS¹

Variáveis	Momentos	Tratamentos ²				
		T1	T2	T3	T4	T5
IL-1 β^3 , pg/mL	Antes	<1,56*	<1,56*	<1,56*	<1,56*	<1,56*
	Após (3h)	3,86*	4,40*	9,70*	6,03*	3,70*
TNF- α^4 , pg/mL	Antes	<15,6*	<15,6*	<15,6*	<15,6*	<15,6*
	Após (3h)	43,10 ^{ab*}	64,33 ^{ab*}	86,83 ^{bc*}	64,05 ^{ab*}	103,53 ^{c*}
PCR ⁵ , mg/dL	Antes	0,10*	0,10*	0,05*	0,00	0,10
	Após (24h)	0,42 ^{ab*}	0,50 ^{a*}	0,49 ^{a*}	0,32 ^b	0,28 ^b
Haptoglobina, g/dL	Antes	0,137*	0,101*	0,130*	0,098*	0,136*
	Após (24h)	0,260*	0,225*	0,261*	0,234*	0,260*

¹Médias seguidas de letras diferentes na linha, diferem entre si pelo teste de Bonferroni ($P < 0,05$); Médias seguidas na coluna por *, diferem entre os momentos antes após desafio com LPS pelo teste de Bonferroni ($P < 0,05$).

²T1 = dieta basal (DB) + 120ppm de halquinol; T2 = DB + MOS e β -glucano (3,0 kg/t); T3 = DB + MOS e β -glucano (2,0kg/t) + GOS e FOS (1,0kg/t) (1:9); T4 = DB + MOS e β -glucano (2,0kg/t) + GOS] e FOS (1,0kg/t) (3:7); T5 = DB + MOS e β -glucano (2,0kg/t) + GOS e FOS (1,0kg/t) (5:5); ³IL-1 β = Inter leucina 1- β ; ⁴TNF- α = fator de necrose tumoral- α ; ⁵PCR = Proteína C-reativa.

Conclusão: Leitões alimentados com dietas com adição de maior quantidade de MOS e β -glucano (3,0kg/t) ou a combinação da mistura de MOS e β -glucano (2,0kg/t) + GOS e FOS (1,0kg/t), com maior proporção de FOS, apresentam resposta imunológica mais eficiente após o desafio com LPS.

Referências Bibliográficas: KOGAN, G.; KOCHER, A. Role of yeast cell wall polysaccharides in pig nutrition and health protection. *Livestock Science*; v.109, p.161–165, 2007. ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos** – Composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa: Imprensa Universitária/UFV, 2011, 252 p. TIZARD, I.R. **Imunologia veterinária**. 9 ed. São Paulo: Elsevier, 568p. 2014.