

## O QUE HÁ ALÉM DA IMUNOMODULAÇÃO NA INGESTÃO DE B-GLUCANOS DE LEVEDURA OU DE ALGÁS MARINHAS EM CÃES?

STEPHANIE S. THEODORO<sup>1</sup>, MARIA EDUARDA G. TOZATO<sup>1</sup>, LETÍCIA W. LUIS<sup>1</sup>, CAMILA GOLONI<sup>1</sup>, LUCAS B. SCARPIMI<sup>1</sup>, JHENNIFER C. FENERICK<sup>1</sup>, DÉBORA A. EUGÊNIO<sup>1</sup>, CLAUDIA A. NOGUEIRA<sup>1</sup>, CONNIE ROJAS<sup>2</sup>, ANDREA J. FASCETTI<sup>2</sup>, AULUS C. CARCIOFI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/Unesp, Jaboticabal/SP; <sup>2</sup> University of California – Davis/EUA  
Contato: sstheodoro@gmail.com / Apresentador: STEPHANIE S. THEODORO<sup>1</sup>

**Resumo:** Uma dieta controle (CON) foi suplementada com  $\beta$ -glucano extraído de levedura (BLEV; 0,115%) ou da alga *Euglena gracilis*: BA15 (0,155% de  $\beta$ -glucano); BA31 (0,31% de  $\beta$ -glucano). Foram utilizados 32 cães, 8 por ração. Estes receberam as rações por 42 dias, sendo coletados sangue e fezes no início e final do período para análise microbiota e parâmetros lipêmicos. No meio deste período foi realizado ensaio de digestibilidade e curva pós-prandial de insulina e glicose. No tempo final, fezes frescas foram coletadas para avaliar produtos de fermentação. Os dados foram avaliados por análise de variância e comparados por teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). Cães alimentados com BA15 apresentaram maior digestibilidade aparente de matéria seca, matéria orgânica e energia bruta ( $p < 0,05$ ). Cães alimentados com BLEV tenderam a menor média de glicose e menor tempo para pico da resposta insulínica ( $p < 0,1$ ). A beta diversidade da microbiota fecal de cães na dieta BA31 diferiu das dietas BLEV e BA15. Concluiu-se que o  $\beta$ -glucano de levedura tendeu a diminuir a média da concentração de glicose e antecipar o pico da ação de insulina endógena. A dieta BA31 apresentou maior capacidade em alterar a microbiota fecal.

**Palavras-Chaves:** microbioma, glicose, lipêmicos, *Euglena gracilis*

## WHAT IS BEYOND IMMUNOMODULATION IN THE INGESTION OF YEAST AND SEAWEED B-GLUCANS IN HEALTHY ADULT DOGS?

**Abstract:** A control diet (CON) was supplemented with  $\beta$ -glucan extracted from yeast BLEV (0.115% of yeast  $\beta$ -glucan) or  $\beta$ -glucan from algae: BA15 (0.155% seaweed  $\beta$ -glucan); BA31 (0.31%  $\beta$ -glucan of seaweed). Thirty two dogs was used, 8 per diet. These received the treatments for 42 days, with blood and feces collected at the beginning and end of the experimental period for microbiota analysis and lipemic parameters. In the middle of this period, a digestibility test was carried out and after a postprandial curve of insulin and glucose. At the final time, also, fresh feces were collected for fermentation products. Data were evaluated by analysis of variance and compared by Tukey's test ( $p < 0.05$ ). Dogs fed BA15 showed higher apparent digestibility of dry matter, organic matter and gross energy ( $p < 0.05$ ). The BLEV diet tended to lower mean glucose and shorter time to peak of insulin response ( $p < 0.1$ ). The beta diversity of the fecal microbiota of dogs on the BA31 diet differed from the BLEV and BA15 diets. It was concluded that yeast  $\beta$ -glucan tended to decrease mean glucose concentration and anticipate peak of endogenous insulin action. The BA31 diet has a greater ability to alter the fecal microbiota.

**Keywords:** microbioma, glucose, lipemic, *Euglena gracilis*

**Introdução:** O  $\beta$ -glucano é ingrediente funcional potencialmente implicado em atuar na microbiota intestinal, inflamação, imunidade e metabolismo de glicose e lipídeos. Diferenças na estrutura e peso molecular determinam sua atividade biológica (Steenwijk et al., 2021). Os  $\beta$ -1,3/1,4-glucanos de cereais podem reduzir glicemia e colesterol em situações de obesidade, enquanto  $\beta$ -1,3/1,6-glucanos de microorganismos podem apresentar atividade antitumoral, anti-inflamatória e antiviral, mediada por receptores de membrana em células imunes (Bai et al. 2019). Com base em estudo que verificou modulação da imunidade inata pelo  $\beta$ -glucano de *Saccharomyces cerevisiae* e indução de resposta inata humoral pelo  $\beta$ -glucano de *Euglena gracilis* (Theodoro et al., 2022), foram avaliadas outras possíveis ações destes  $\beta$ -glucanos, incluindo digestibilidade dos nutrientes, produtos de fermentação e composição microbiana das fezes, respostas pós-prandiais de insulina e glicose e parâmetros lipêmicos de cães saudáveis.

**Material e Métodos:** Foram utilizadas 4 dietas extrusadas: controle (CON, sem adição de B-glucano); BLEV (0,115% de  $\beta$ -glucano de *Saccharomyces cerevisiae*); BA15 (0,155% de  $\beta$ -glucano de *Euglena gracilis*); BA31 (0,31% de  $\beta$ -glucano de *Euglena gracilis*). Os produtos foram analisados previamente e a inclusão estabelecida visando consumo de 15mg (dose 1) ou 30mg (dose 2) de  $\beta$ -glucano/kg/dia. Foram utilizados 32 cães, divididos em 2 blocos de 16 animais, 4 cães por ração em cada bloco e 8 repetições por ração. Cada bloco teve duração de 84 dias, com 42 dias de washout e 42 dias de consumo das rações experimentais. Previamente ao consumo das rações e ao final do período amostras de fezes frescas foram coletadas para se avaliar microbiota fecal e amostras de sangue para avaliar parâmetros lipêmicos (colesterol, triglicérides, HDL, LDL e VLDL). Após 15 dias de adaptação foi realizado o ensaio de digestibilidade aparente dos nutrientes e em seguida a curva pós-prandial de insulina e glicose. Também no período final, fezes frescas foram coletadas para análise de produtos de fermentação microbiana. Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey. Nas respostas pós-prandiais de glicose e insulina, análise de variância de medidas repetidas no tempo foi utilizada. Para microbiota fecal foi realizado o sequenciamento do gene 16S rRNA. A diversidade beta foi analisada utilizando as abundâncias relativas de gêneros bacterianos (Aitchison distance). Valores de  $p < 0,05$  foram significativos e  $p < 0,1$  tendência.

**Resultado e Discussão:** Maior coeficiente da digestibilidade aparente da energia bruta, matéria orgânica e matéria seca foi observado na dieta BA15 em relação à BA31 ( $p < 0,05$ ). Não foi encontrando diferença nos parâmetros lipêmicos. Houve

tendência à menor glicemia média e tempo para o pico de resposta insulínica nos cães alimentados com BLEV ( $p < 0,05$ ) (Gráfico 1 e 2). Aumento da viscosidade luminal e, conseqüente menor velocidade de digestão e absorção de carboidratos pode ser o responsável por este efeito (Granfeldt et al., 2007). Não foram identificadas diferença entre as dietas quanto a produção de fezes e produtos de fermentação microbiana. Em indivíduos saudáveis, a concentração fecal de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) pode refletir melhor a absorção sistêmica do que a produção em si (Raposo et al., 2016). Os filos predominantes nas fezes foram Firmicutes, Fusobacteria e Bacteroides (Suchodolski et al., 2021). A dieta foi responsável por 12,6% da variação no microbioma fecal, e somente no tempo final foram identificadas alterações em sua composição ( $p < 0,05$ ). A microbiota de cães alimentados com BA31 foi diferente da dos cães alimentados com BLEV ou BA15 (Figura 1). A dieta BA31 parece proporcionar maior abundância relativa de *Erysipelotrichaceae*, *Ligilactobacillus* e *Turicibacter* do que em BLEV e BA15. Essa família apresentou correlação positiva com níveis de acetato, propionato e butirato (Bermingham et al., 2017), e embora não significativo, houve maior produção de AGCC (Figura 2) nesta mesma dieta. Como limitações temos o número de animais empregados e o uso somente de cães saudáveis.

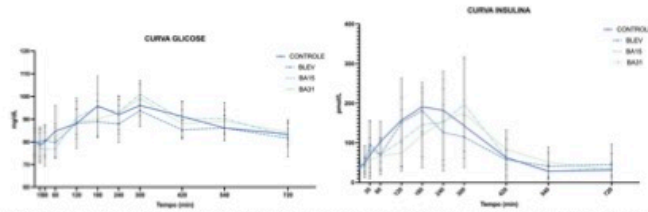


Gráfico 1 e 2: Resposta pós-prandial de glicose e de insulina após consumo de dietas extrusadas com  $\beta$ -glucanos de levedura ou algas marinhas.

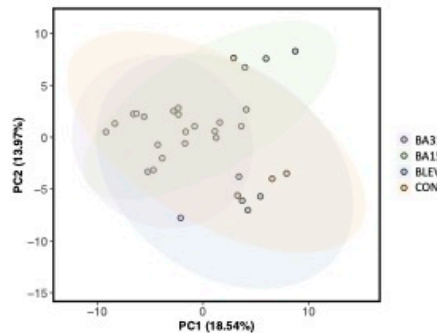


Figura 1: Diversidade beta da microbiota de cães após 30 dias de consumo de dietas extrusadas com  $\beta$ -glucanos de levedura ou algas marinhas.

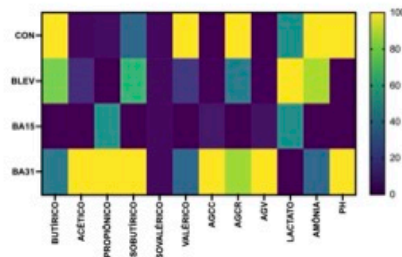


Figura 2: Heatmap dos valores médios ( $n = 8$ ) de produtos de fermentação microbiana nas fezes de cães após consumo de dietas extrusadas com  $\beta$ -glucanos de levedura ou algas marinhas ( $p > 0,05$ ). Médias normalizadas para escala de zero a 100.

**Conclusão:** O  $\beta$ -glucano de levedura tendeu a diminuir a glicemia média e antecipar o pico da ação da insulina endógena, modulando a resposta glicêmica endógena. O consumo da dieta com maior quantidade de  $\beta$ -glucano de algas marinhas resultou em maior alteração na microbiota fecal, promovendo maior abundância de bactérias envolvidas na saúde intestinal de cães saudáveis e responsáveis pela produção de AGCC.

**Agradecimentos:** À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001 e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) - processo 2020/04120-4 pelo auxílio financeiro. À BRF feed, BRF ingredient e Adimax pelo suporte ao Laboratório. À Kemin Industries pelo financiamento do projeto.

**Referências Bibliográficas:** Steenwijk HP; Bast A; de Boer A. Immunomodulating Effects of Fungal Beta-Glucans: From Traditional Use to Medicine. *Nutrients* 2021,13,1333. <https://doi.org/10.3390/nu13041333>. Bai J; Ren Y; Fan M; Qian H;

Wang L; Wu G; Zhang H; Qi X; Xu M; Rao Z. Physiological functionalities and mechanisms of B-glucans. 2019. Trends in Food Science & Technology. 88; 57-66. Theodoro SS; Tozato MEG; Luis LW; Goloni C; Scarpim LB; Fenerick J; Eugênio DA; Cruz N; Nogueira CA; Carciofi AC. Efeitos imunes e inflamatórios de dietas para cães com B-glucanos extraídos de leveduras ou de algas marinhas. 2022. Anais: XXI Congresso CBNA Pet. Granfedt Y; Nyberg L; Bjorck I. Muesli with 4g oat b-glucans lowers glucose and insulin responses after a bread meal in healthy subjects. 2008. European Journal of Clinical Nutrition. 62; 600-607. Raposo MFJ; Morais AMMB; Morais RMSC. Emergent Sources of Prebiotics: Seaweeds and Microalgae. 2016. Marine Drugs. 14; 27. Suchodolski. Analysis of the gut microbiome in dogs and cats. 2021. Veterinary Clinical Pathology. Bermingham E; Maclen P; Thomas DG; Cave NJ; Young W. Key bacterial families (Clostridiaceae, Erysipelotrichaceae and Bacteroidaceae) are related to the digestion of protein and energy in dogs. 2017. Peer J.