



LÍVIA GERALDI FERREIRA

**BETA-GLUCANO DE AVEIA COMO
SUPLEMENTO DIETÉTICO PARA CÃES**

**LAVRAS – MG
2017**

LÍVIA GERALDI FERREIRA

**BETA-GLUCANO DE AVEIA COMO SUPLEMENTO
DIETÉTICO PARA CÃES**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Fisiologia e Metabolismo Animal, para a obtenção do título de Doutor.

Prof. Dr. Márcio Gilberto Zangeronimo
Orientador
Prof^a. Dr^a. Flávia Maria de Oliveira Borges Saad
Coorientadora

**LAVRAS – MG
2017**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Ferreira, Livia Geraldi.

Beta-glucano de aveia como suplemento dietético para cães /
Livia Geraldi Ferreira. - 2017.
62 p. : il.

Orientador(a): Márcio Gilberto Zangeronimo.

.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2017.
Bibliografia.

1. citocinas. 2. digestibilidade. 3. saciedade. I. Zangeronimo,
Márcio Gilberto. . II. Título.

LÍVIA GERALDI FERREIRA

**BETA-GLUCANO DE AVEIA COMO SUPLEMENTO
DIETÉTICO PARA CÃES**

Tese apresentada à
Universidade Federal de
Lavras, como parte das
exigências do Programa de
Pós-Graduação em
Ciências Veterinárias, área
de concentração em
Fisiologia e Metabolismo
Animal, para a obtenção
do título de Doutor.

APROVADA em 7 de março de 2017.

Prof. Dr. Flávia Maria de Oliveira Borges Saad UFLA

Prof. Dr. Ana Paula Peconick UFLA

Prof. Dr. Raimundo Vicente de Souza UFLA

Prof. Dr. Janine França UFU

Prof. Dr. Márcio Gilberto Zangeronimo
Orientador

**LAVRAS – MG
2017**

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Regina e Marco Aurélio que são minha base, minha força para continuar seguindo nesse caminho muitas vezes difícil. Obrigada, por não me deixarem cair, por não me deixarem desistir dos meus sonhos e por me apoiarem, sempre incentivando-me a seguir em frente. Vocês são meu maior exemplo de força de vontade e de otimismo mesmo em frente a tantas adversidades.

Ao meu irmão Pedro, meu orgulho e meu exemplo de competência e responsabilidade. Obrigada, por seguir junto comigo, sempre na torcida.

Ao meu companheiro, Bruno, por ser meu porto seguro e minha paz nos momentos de aflição. Obrigada pelo apoio incondicional ao longo dessa trajetória.

A minha avó Tinhá (*in memoriam*), minha maior referência de bondade e amor ao próximo, e à minha avó Elza, pelo carinho, pelas risadas tão gostosas e pelas orações diárias.

À Universidade Federal de Lavras e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, pela oportunidade concedida para a realização do doutorado.

À Fundação de Amparo a Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão da bolsa de doutorado e à CAPES, pelo financiamento da pesquisa.

Ao meu orientador, Prof. Márcio Zangeronimo, pela disponibilidade e pelo comprometimento com o trabalho, por me apresentar oportunidades e propor desafios, sempre visando ao meu crescimento profissional. Aprendi muito com você e foi uma honra ter sido sua orientada ao longo de quase seis anos. Obrigada por tudo!

A minha coorientadora, Prof^a. Flávia Saad, pela orientação ao longo de toda a minha trajetória na UFLA, por me conceder a oportunidade de trabalhar

no CENAC e por abrir caminhos tão importantes para o meu crescimento profissional. Muito obrigada!

À Prof^a. Ana Paula Peconick, pela disponibilidade e pelo auxílio na condução das análises de parâmetros imunológicos.

A todos os integrantes do NENAC, pela amizade, pelo companheirismo, pelo compromisso com o trabalho, pelo aprendizado e por me mostrarem a importância de uma equipe. O apoio de vocês foi fundamental!

Aos médicos veterinários residentes do Hospital Veterinário da UFLA, em especial ao Luiz Eduardo Duarte, pelas contribuições ao longo da execução do projeto.

Ao Seu Ednaldo, pelo carinho e cuidado com os animais do CENAC.

Aos animais do CENAC, por contribuírem de forma tão significativa para a realização deste projeto e por tornarem os meus dias de trabalho muito mais felizes. Meu amor e gratidão serão eternos!

A Eva, pelos anos de amor e trabalho dedicados à nossa família.

A todos os tios e primos, pela amizade e torcida.

Às amigas de Belo Horizonte, que mesmo à distância acompanham todos os meus passos e torcem sempre pelo meu sucesso.

Aos amigos de Lavras, minha segunda família.

RESUMO

Objetivou-se, com esse estudo, avaliar os efeitos da suplementação dietética com beta-glucano de aveia sobre parâmetros metabólicos, fisiológicos, imunológicos e nutricionais em cães adultos. Para isso, 14 cães receberam uma dieta controle ou uma dieta suplementada com 1% de beta-glucano durante 71 dias. Foram determinadas as concentrações séricas de glicose, colesterol total (CT) e frações lipoprotéicas, assim como as concentrações plasmáticas de peptídeo YY e grelina. Além disso, avaliou-se o coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) dos nutrientes, o consumo de alimento, a produção, o escore e o pH fecal. Para a avaliação dos parâmetros imunológicos, os animais foram vacinados e determinaram-se as concentrações séricas de interleucina-4 (IL-4) e interferon gama (INF γ), bem como o hemograma completo nos dias 0, 7 e 21 (7 dias após a segunda dose da vacina), após o desafio vacinal. Os animais que receberam a dieta suplementada apresentaram menores concentrações séricas de CT e lipoproteínas de densidade baixa e muito baixa, menores CDA de matéria seca, matéria orgânica, matéria mineral e lipídeos, maior produção de fezes e menor consistência fecal ($P < 0,05$). Adicionalmente, a dieta suplementada resultou em maior número de hemácias, de porcentagem do hematócrito e de concentração de hemoglobina 21 dias após a primeira dose da vacina, assim como menores concentrações séricas de IL-4 sete dias após a primeira dose da vacina ($P < 0,05$). Conclui-se que o beta-glucano de aveia, na dose utilizada, é capaz de influenciar, positivamente, parâmetros metabólicos, nutricionais e imunológicos em cães, apresentando potencial para que seja empregado na alimentação de animais obesos.

Palavras-chave: Citocinas. Colesterol. Digestibilidade. Fibra funcional. Glicemia. Hormônios. Saciedade.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effects of oat beta-glucan supplementation on metabolic, physiological, immunological and nutritional parameters in adult dogs. Fourteen dogs were fed a control diet or a diet supplemented with 1% of beta-glucan during 71 days. Serum concentrations of glucose, total cholesterol (TC) and lipoprotein fractions, as well as plasma concentrations of peptide YY and ghrelin were determined. In addition, coefficients of total tract apparent digestibilities (CTTAD), feed consumption and fecal production, score and pH were also evaluated. For evaluating the immunological parameters, animals were vaccinated and serum concentrations of interleukin-4 (IL-4) and interferon gamma (INF γ) were determined, as well as blood cell count on days 0, 7 and 21 (7 days after the second dose of vaccine) after the vaccine challenge. Animals fed the supplemented diet showed lower serum concentrations of TC and low and very low density lipoproteins, lower CTTAD of dry matter, organic matter, mineral matter and lipids, higher fecal production and lower fecal consistency ($P < 0,05$). Moreover, the supplemented diet resulted in higher number of red blood cells, hematocrit percentage and hemoglobin concentration 21 days post-vaccination, as well as lower serum concentration of IL-4 seven days post-vaccination ($P < 0,05$). It is concluded that oat beta-glucan, at the dose used, is able to positively influence metabolic, nutritional and immunological parameters in dogs, presenting potential to be used in obese animals feeding.

Keywords: Cholesterol. Cytokines. Digestibility. Functional fiber. Glycemia. Hormones. Satiety.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma do experimento	69
Figura 2. Variação do peso corporal, aos 28 e aos 71 dias de experimento e avaliação do consumo de alimento (g/kg de peso vivo), realizada entre os dias 35 e 45 de experimento, de cães recebendo dieta com ou sem suplementação de beta-glucano (BG).....	70
Figura 3. Características fecais de cães entre os dias 24 e 28 de experimento, recebendo dietas com ou sem suplementação de beta-glucano (BG).....	71
Figura 4. Glicemia, peptídeo YY (PYY) e grelina em cães recebendo dietas com ou sem suplementação de beta-glucano (BG).....	72
Figura 5. Frações lipídicas em jejum no plasma de cães recebendo dietas com ou sem suplementação de beta-glucano (BG) por 28 dias.....	73
Figura 6. Concentrações séricas de interleucina-4 de cães recebendo dietas com ou sem suplementação de beta-glucano (BG) avaliado antes e depois do início do programa de vacinação com Pneumodog® com duas doses em intervalos de 14 dias	74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição química do alimento comercial utilizado	63
Tabela 2. Composição química analisada do alimento comercial suplementado ou não com beta-glucano (BG) e da preparação comercial de BG utilizada, com base na matéria seca.....	65
Tabela 3. Coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) dos nutrientes (\pm erro padrão da média) de dietas para cães com ou sem suplementação de beta-glucano (BG)	66
Tabela 4. Hemograma (\pm erro padrão da média) de cães recebendo dieta com ou sem suplementadas de beta-glucano (BG) avaliado antes e após o início do programa de vacinação *	67
Tabela 5. Leucograma (\pm erro padrão da média) de cães recebendo dieta com ou sem suplementação de beta-glucano (BG) avaliado antes e após o início do programa de vacinação *	68

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	8
1 INTRODUÇÃO	9
2 REFERENCIAL TEÓRICO	10
2.1 Uso de beta-glucanos na alimentação animal	10
2.2 Efeitos dos beta-glucanos sobre a digestibilidade de nutrientes e as características fecais	13
2.3 Efeitos fisiológicos e metabólicos dos beta-glucanos	17
2.4 Influência dos beta-glucanos sobre o sistema imune	23
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS	28
REFERÊNCIAS	29
SEGUNDA PARTE – ARTIGO	38
Resumo	39
Abstract	40
1. Introdução	41
2. Material e métodos	42
<i>2.1. Animais, instalações e delineamento experimental</i>	42
<i>2.2. Dietas experimentais</i>	43
<i>2.3. Determinação de parâmetros metabólicos e fisiológicos</i>	44
<i>2.4. Características fecais, digestibilidade dos nutrientes e consumo</i>	45
<i>2.5. Determinação de parâmetros imunológicos</i>	47
<i>2.6. Análise estatística</i>	47
3. Resultados	48
<i>3.1. Peso dos animais, consumo e características fecais</i>	48
<i>3.2. Digestibilidade dos nutrientes</i>	48

<i>3.3. Parâmetros sanguíneos</i>	48
4. Discussão	49
5. Conclusão	56
Agradecimentos	56
Referências	56

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

Os beta-glucanos correspondem a polissacarídeos não amiláceos encontrados na parede celular de fungos, leveduras, grãos de cereais e algumas bactérias e algas. A atuação desses compostos sobre processos metabólicos e fisiológicos no organismo, principalmente aqueles extraídos de cereais, os quais são caracterizados como fibras solúveis, vêm sendo bastante estudada, demonstrando-se efeitos positivos sobre as concentrações sanguíneas de glicose, colesterol e frações lipoprotéicas. Além disso, alguns estudos demonstram a capacidade dos beta-glucanos de cereais em estimular a saciedade, assim como reduzir a digestibilidade de nutrientes, contribuindo para programas de perda ou manutenção do peso corporal.

No entanto, a maior parte dos estudos dessa natureza foi conduzida em humanos, ratos e camundongos. Embora os cães pudessem se beneficiar dos efeitos relacionados aos beta-glucanos de cereais, uma vez que, frequentemente, são acometidos por distúrbios nutricionais como a obesidade, há uma escassez de estudos na literatura que tenham avaliado os efeitos da inclusão de beta-glucanos na alimentação desses animais.

Adicionalmente, diversos estudos demonstram a capacidade imunomoduladora de beta-glucanos, principalmente daqueles extraídos de fungos e leveduras. Tal capacidade é atribuída ao fato dos beta-glucanos serem reconhecidos como padrões moleculares associados a patógenos por diferentes receptores presentes em células do sistema imune. Entretanto, é importante destacar que a organização estrutural dos beta-glucanos derivados de fungos e

leveduras e daqueles derivados de cereais é diferente, sendo que essas diferenças estruturais poderiam implicar em padrões distintos de modulação da resposta imune. Dessa forma, estudos que avaliem os efeitos imunológicos de beta-glucanos de cereais são necessários, uma vez que ainda não se tem um conhecimento claro acerca desse assunto.

Como os cães, frequentemente, são submetidos a situações estressantes, que podem interferir em parâmetros imunológicos, resultando em prejuízos para a saúde de uma maneira geral, a inclusão de compostos imunomoduladores na alimentação desses animais poderia trazer grandes benefícios. Além disso, cães obesos, muitas vezes, apresentam um comprometimento da função imune, sendo mais suscetíveis ao desenvolvimento de processos infecciosos. Assim, os beta-glucanos de cereais apresentam considerável potencial para que sejam mais explorados na nutrição de cães, principalmente se forem comprovados efeitos metabólicos, fisiológicos e imunológicos positivos, o que possibilitaria a utilização de um único composto que atua em diferentes processos no organismo visando a melhorar o estado de saúde geral dos animais.

Dessa forma, no presente estudo, objetivou-se avaliar o uso de beta-glucano extraído de aveia sobre o peso corporal, consumo alimentar, digestibilidade de nutrientes, características fecais e parâmetros fisiológicos, metabólicos e imunológicos em cães.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Uso de beta-glucanos na alimentação animal

Historicamente, os estudos demonstram que a utilização de cereais ricos em fibras solúveis, como cevada e aveia, na alimentação de animais de produção é relacionada a uma diminuição do desempenho, uma vez que o beta-glucano,

um polissacarídeo não-amiláceo presente em elevadas concentrações nesses cereais, interfere na ação de enzimas digestivas sobre os nutrientes, reduzindo os valores de digestibilidade (ALMIRALL et al., 1995; GRAHAM; AMAN, 1991). Além disso, os beta-glucanos também são relacionados a problemas de manejo em sistemas de produção animal, pois podem aumentar a ocorrência de fezes viscosas e pegajosas. Assim, para tentar reverter esses efeitos antinutricionais, diversas preparações enzimáticas comerciais contendo beta-glucanase vêm sendo desenvolvidas nos últimos 30 anos (SLOMINSKI, 2011).

No entanto, o aumento da preocupação por parte dos consumidores no que se refere ao uso de antimicrobianos na alimentação animal, bem como a proibição da utilização de alguns antibióticos como aditivos alimentares pela União Europeia, deu início a uma intensa busca por alternativas que fossem capazes de exercer os mesmos efeitos dos antimicrobianos, porém, sem as adversidades associadas a estes (CASTANON, 2007). Dessa forma, os beta-glucanos deixaram de ser vistos apenas como compostos antinutricionais e passaram a ser considerados como possíveis substituintes para os antimicrobianos, uma vez que apresentam capacidades imunomodulatórias, assim como melhor aceitação pelos consumidores por se tratar de produtos naturais (COX et al., 2010a).

Nos últimos anos, inúmeras pesquisas vêm sendo realizadas, a fim de se avaliar os efeitos imunomodulatórios dos beta-glucanos tanto em animais saudáveis (CHAE et al., 2006; COX et al., 2010b, HAHN et al., 2006) quanto em animais desafiados com algum agente infeccioso (COX et al., 2010a; LOWRY et al., 2005; RIZWAN et al., 2016). No entanto, a maioria das pesquisas emprega beta-glucanos extraídos de leveduras, que apresentam organização estrutural diferente da dos beta-glucanos extraídos de cereais. Enquanto os primeiros são caracterizados como cadeias polissacarídicas ramificadas, nas quais os monômeros de glicose são unidos por ligações β -(1,3)

e β -(1,6), os últimos são caracterizados como cadeias polissacarídicas lineares, nas quais os monômeros de glicose são unidos por ligações β -(1,3) e β -(1,4) (BRENNAN; CLEARY, 2005; BROWN; GORDON, 2003; LAZARIDOU; BILIADERIS, 2007; VOLMAN, RAMAKERS; PLAT, 2008).

Diversos estudos demonstram que características físico-químicas relacionadas à organização estrutural dos beta-glucanos, como tipo de ligação, presença e grau de ramificações, peso molecular e solubilidade influenciam de formas distintas tanto a natureza quanto a intensidade dos efeitos imunomoduladores desses compostos (ADACHI et al., 1990; ADAMS et al., 2008; NOSS et al., 2012; OKAZAKI et al., 1995; QI et al., 2011; SONCK et al., 2010; VETVICKA; VETVICKOVA, 2007). Assim, os resultados dessas pesquisas ainda não são conclusivos, uma vez que variam de acordo com o tipo de beta-glucano utilizado, a espécie empregada no estudo e os parâmetros imunológicos avaliados. Dessa forma, ainda há um longo caminho a se percorrer para que se consiga determinar os reais efeitos imunomodulatórios dos beta-glucanos utilizados na alimentação animal.

Além dos efeitos imunomodulatórios, os beta-glucanos, principalmente aqueles extraídos de cereais, apresentam comprovada capacidade de influenciar positivamente processos metabólicos e fisiológicos em humanos, ratos e camundongos (ADAM et al., 2014; BAE et al., 2009; BIORKLUND et al., 2005; CHOI et al., 2010). Tais efeitos são atribuídos à maior solubilidade de beta-glucanos de cereais, característica resultante da presença de ligações β -(1,3) na estrutura desses compostos, as quais formam dobras na cadeia linear, permitindo que a água permeie por entre as cadeias (VASANTHAN; TEMELLI, 2008). Contudo, embora esses efeitos pudessem proporcionar grandes benefícios para os animais, especialmente animais de companhia, poucos estudos são encontrados na literatura. Dessa forma, de acordo com o exposto acima, pode-se

dizer que há ainda muito que se estudar com relação aos beta-glucanos na alimentação animal.

2.2 Efeitos dos beta-glucanos sobre a digestibilidade de nutrientes e as características fecais

A inclusão de beta-glucanos na dieta de animais pode alterar a digestibilidade de nutrientes, uma vez que, dependendo da origem, esse composto pode aumentar a viscosidade do conteúdo gastrintestinal, dificultando a atuação de enzimas digestivas e, conseqüentemente, reduzindo a digestibilidade dos nutrientes (O'SHEA et al., 2011). No entanto, os poucos estudos encontrados na literatura que avaliaram os efeitos da suplementação de beta-glucanos sobre a digestibilidade de nutrientes empregaram compostos de diferentes origens, que influenciam esse parâmetro de maneiras distintas.

Dessa forma, a suplementação de dietas para frangos de corte com 0,02% e 0,04% de beta-glucano extraído da levedura *Sacharomyces cerevisiae* resultou em aumento da digestibilidade de matéria seca em comparação a dietas sem suplementação (CHAE et al., 2006). Os autores destacam que, embora beta-glucanos de cereais sejam reconhecidos como fatores antinutricionais, influenciando o ganho de peso e o consumo em frangos de corte, beta-glucanos de origem microbiana apresentam efeito positivo sobre o desempenho dos animais. De maneira semelhante, a suplementação de dietas para leitões com o mesmo tipo de beta-glucano utilizado no estudo anterior, nos níveis de 0,01%, 0,02%, 0,03% e 0,04%, resultou em aumento linear dos valores de digestibilidade de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), cálcio e fósforo em relação a uma dieta sem suplementação (HAHN et al., 2006).

Já, a suplementação de dietas para suínos em terminação com beta-glucano de aveia, na concentração de 50g/kg de alimento, não influenciou a digestibilidade de MS, matéria mineral (MM), fibra em detergente neutro (FDN) e nitrogênio (N) em comparação a uma dieta sem suplementação (O'SHEA et al., 2010). Por outro lado, O'Shea et al. (2011), ao compararem os efeitos de uma dieta para suínos em terminação formulada à base de trigo e suplementada com beta-glucano de aveia, na concentração de 18g/kg de dieta, e uma dieta formulada à base de cevada, com a mesma concentração de beta-glucano, porém sem suplementação, observaram que o consumo da primeira dieta resultou em maiores valores de digestibilidade de energia bruta (EB) e N. Os autores sugerem que a presença de outras estruturas fibrosas na dieta formulada à base de cevada tenha levado aos menores valores de digestibilidade observados.

Em um delineamento semelhante ao do estudo anterior, Reilly et al. (2010) compararam os efeitos de uma dieta para suínos em terminação formulada à base de trigo e suplementada com beta-glucano de aveia, na concentração de 45,5g/kg de dieta, e uma dieta formulada à base de aveia, com a mesma concentração de beta-glucano, porém sem suplementação, e observaram que a segunda dieta apresentou menores valores de digestibilidade de MS, matéria orgânica (MO), FDN e EB em relação à primeira. Os autores acreditam que diferentes características físicas e de solubilidade entre os beta-glucanos endógeno e exógeno podem ter influenciado os resultados de digestibilidade dos nutrientes.

Em cães, a avaliação dos efeitos de preparações purificadas de beta-glucanos sobre a digestibilidade de nutrientes ainda não foi realizada. No entanto, a suplementação de um alimento para cães com diferentes níveis (0%, 0,05%, 0,25%, 0,45% e 0,65%) de uma preparação comercial de parede celular de levedura, um produto que, dentre outros constituintes, apresenta beta-(1,3),(1,6)-glucano em sua composição, promoveu uma resposta cúbica dos

coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) de MO, PB e EE, sendo os menores valores observados no nível de suplementação de 0,25% (MIDDELBOS et al., 2007).

Também em cães, Twomey et al. (2003) avaliaram os efeitos de três dietas contendo níveis crescentes de polissacarídeos não amiláceos (PNAs) solúveis (11, 16 e 20g/kg de dieta), o que foi feito por meio de substituições cada vez maiores do trigo por cevada, um ingrediente rico em beta-(1,3),(1,4)-glucano, assim como os efeitos da adição ou não de um complexo enzimático composto por xilanase, beta-glucanase e amilase. Os autores observaram que as dietas contendo 16g/kg e 20g/kg de PNAs solúveis reduziram as digestibilidades de amido, gordura, proteína e energia, mas que a adição do complexo enzimático reverteu esses efeitos. Tal observação é atribuída à ação das enzimas que hidrolisaram arabinoxilanos e beta-glucanos solúveis, formando polímeros menores com capacidade reduzida de aumentar a viscosidade da digesta no intestino delgado, permitindo assim que as enzimas digestivas tivessem maior acesso aos componentes dietéticos (CHOCT; ANNISON, 1992).

Com relação às características fecais, os parâmetros mais frequentemente avaliados em estudos com cães são volume de produção fecal, escore e pH fecal. Entretanto, assim como para a digestibilidade de nutrientes, ainda não foram realizados estudos que tenham avaliado os efeitos de preparações purificadas de beta-glucanos sobre as características fecais de cães. No estudo de Middelbos et al. (2007), citado anteriormente, a produção de fezes por grama de alimento consumido respondeu de forma quadrática à suplementação de parede celular de levedura, sendo que o nível de suplementação de 0,45% resultou no menor valor de produção fecal. Nesse mesmo nível de suplementação, observou-se o menor valor de pH fecal, sendo que esse parâmetro respondeu de forma cúbica à suplementação. Já, o escore fecal não foi influenciado pela suplementação da dieta.

Twomey et al. (2003), em um estudo também citado anteriormente, observaram que a consistência fecal de cães diminuiu à medida que o nível de PNAs solúveis na dieta aumentou. Tal observação é atribuída ao fato de que a natureza viscosa dos PNAs solúveis faz com que as moléculas retenham mais água na forma de gel na medida em que passam pelo trato gastrintestinal (FAHEY et al., 1992). Além disso, os produtos da fermentação, assim como as moléculas de carboidratos que escapam dos processos fermentativos exercem um efeito osmótico, atraindo água para o lúmen intestinal, o que, conseqüentemente, reduz a consistência das fezes (VERNIA et al., 1988). No entanto, a adição do complexo enzimático aumentou a consistência fecal dos animais. Adicionalmente, os autores observaram que as dietas contendo 16g/kg e 20g/kg de PNAs solúveis promoveram redução do pH fecal, o que foi atribuído a uma maior quantidade de substratos fermentáveis entrando no intestino grosso. No caso do pH fecal, a adição do complexo enzimático não exerceu efeito algum.

Em suínos, o consumo de uma dieta à base de cevada (22,9g de beta-glucano/kg de dieta) resultou em maior produção fecal (kg/dia) do que o consumo de uma dieta à base de trigo e suplementada com beta-glucano de aveia (22,7g de beta-glucano/kg de dieta) (O'SHEA et al., 2011). Também em suínos, Leek et al. (2007) compararam os efeitos de dietas à base de cevada (41,8g de beta-glucano/kg de dieta), de trigo (2,2g de beta-glucano/kg de dieta) ou de milho (0,2g de beta-glucano/kg de dieta) e observaram maior produção fecal (g/dia) e menor pH fecal como resultado do consumo da dieta à base de cevada. Adicionalmente, o consumo de dietas à base de cevada e aveia por suínos resultou em menores valores de pH tanto no conteúdo do intestino grosso quanto nas fezes em comparação ao consumo de uma dieta à base de trigo (BIRD et al., 2004).

Dessa forma, os efeitos da suplementação de beta-glucano sobre a digestibilidade de nutrientes e as características fecais em cães ainda são incertos, sendo necessários mais estudos para que se estabeleça a real dimensão da influência dos beta-glucanos sobre esses parâmetros.

2.3 Efeitos fisiológicos e metabólicos dos beta-glucanos

Os efeitos metabólicos e fisiológicos dos diferentes tipos de beta-glucanos utilizados na alimentação animal podem variar, dependendo da configuração estrutural das cadeias que os compõem. O β -(1,3),(1,4)-glucano presente nos cereais, por exemplo, pode ser classificado nutricionalmente como fibra solúvel (VASANTHAN; TEMELLI, 2008), conferindo ao animal efeitos benéficos à saúde. Por esse motivo, existe grande interesse na utilização dos beta-glucanos como uma fibra dietética funcional (BRENNAN; CLEARY, 2005; EL KHOURY et al., 2012).

De maneira geral, as fibras solúveis apresentam a capacidade de formar material viscoso no trato gastrointestinal dos animais, promovendo redução das concentrações sanguíneas de glicose, insulina, colesterol e triacilgliceróis, além de contribuir para o emagrecimento ou manutenção do peso corporal, em razão, principalmente, da estimulação da saciedade (EL KHOURY et al., 2012).

Diversos mecanismos são propostos para explicar a atuação de fibras solúveis sobre as concentrações séricas de glicose e insulina. Em primeiro lugar, o aumento da viscosidade do conteúdo luminal do estômago promove um atraso no esvaziamento gástrico, o que aumenta a sensação de saciedade e, conseqüentemente, reduz a quantidade de glicose ingerida (BRAATEN et al., 1991). No intestino, a viscosidade dificulta a ação das enzimas digestivas, bem como forma uma barreira sobre o substrato, reduzindo o transporte de glicose para os enterócitos (EASTWOOD; MORRIS, 1992; MARCIANI et al., 2001;

SCHEENEEMAN; GALLAHER, 1985). Dessa forma, a absorção mais lenta de glicose dificulta a ocorrência de picos glicêmicos no período pós-prandial, reduzindo a liberação de insulina (MAKELAINEN et al., 2007).

Hooda et al. (2010), ao compararem os efeitos de três níveis de beta-glucano de aveia (0%, 3% e 6%) na dieta de suínos, observaram que o maior nível de suplementação resultou em menor concentração de glicose no sangue portal aos 15, 30 e 45 minutos após o consumo do alimento. Em humanos, Björklund et al. (2005) observaram que o consumo diário de uma bebida contendo 5g de beta-glucano de aveia, durante cinco semanas reduziu as concentrações sanguíneas pós-prandiais de glicose e insulina em comparação aos indivíduos que consumiram a bebida sem suplementação. Já, a suplementação da bebida com beta-glucano de cevada não influenciou esses parâmetros. Essa observação sugere diferenças nos resultados dependendo do tipo de beta-glucano utilizado.

De maneira semelhante, Koegh et al. (2003) demonstraram que a suplementação da dieta de homens moderadamente hiperlipidêmicos com beta-glucano de cevada não influenciou os valores de glicemia, tanto em jejum quanto no período pós-prandial em comparação aos indivíduos que consumiram uma dieta controle, sem suplementação. Adicionalmente, Tiwari e Cummins (2011), em um estudo de meta-análise, concluíram que o efeito do consumo de beta-glucano de aveia ou de cevada sobre a glicemia em humanos é ainda incerto e requer mais estudos. Em cães, estudos que tenham avaliado os efeitos de beta-glucanos sobre a glicemia ainda não foram realizados.

Com relação à redução das concentrações séricas de colesterol, promovida pela adição de fibras solúveis à dieta, sabe-se que esse efeito também se deve ao aumento da viscosidade do bolo alimentar (BOURDON et al., 1999). Em humanos, tal viscosidade dificulta a formação de micelas, resultando em menor absorção de lipídeos, inclusive do colesterol, além de reduzir a

recirculação enterohepática de ácidos biliares, levando a um aumento da excreção fecal desses compostos (EL KHOURY et al., 2012). Essa maior perda de sais biliares é importante, já que representa a principal via de eliminação de colesterol do organismo (GOEL et al., 1999).

Em frangos de corte, Wang et al. (1992) observaram que o consumo de dietas formuladas à base de cevada, sem suplementação de beta-glucanase, resultou em menores concentrações de colesterol total (CT) e de colesterol em lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) em comparação com as mesmas dietas, porém suplementadas com beta-glucanase. Além disso, foi demonstrada uma correlação negativa entre a viscosidade do conteúdo do intestino delgado e as concentrações plasmáticas de CT e LDL-c. Em contrapartida, em humanos hiperlipidêmicos, a suplementação da dieta com beta-glucano de cevada não influenciou as concentrações plasmáticas de LDL-c e triacilgliceróis, sendo observada grande variação no perfil lipídico dos indivíduos que participaram do estudo (KOEGLH et al., 2003).

As fibras solúveis, incluindo os beta-glucanos, também estão relacionadas à indução da saciedade, sendo que dois mecanismos foram propostos para esse efeito. O primeiro corresponde à maior viscosidade do conteúdo estomacal, o que atrasa o esvaziamento gástrico, e o segundo corresponde à maior produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no intestino grosso (BURTON-FREEMAN, 2000). Os AGCC promovem uma redução da motilidade do trato gastrointestinal (TGI) ao estimular receptores de mucosa conectados ao nervo vago (YAJIMA, 1985), ao atuar diretamente sobre o tônus muscular intestinal (CHERBUT et al., 1996) e ao promover mudanças na secreção de peptídeos regulatórios, como o peptídeo YY (PYY) (CHERBUT et al., 1998). Todos esses efeitos desaceleram a taxa de passagem da digesta pelo TGI e, conseqüentemente, estimulam a sensação de saciedade (EL KHOURY et al., 2012).

O PYY, além de influenciar a motilidade do TGI, atua como um hormônio anorexigênico, sendo secretado pelas células L da mucosa intestinal (BALLANTYNE, 2006; DEGEN et al., 2005). Os efeitos dos AGCC sobre a secreção de peptídeo YY são atribuídos a uma interação direta entre esses ácidos graxos e as células responsáveis pela síntese e secreção desse hormônio (EL KHOURY et al., 2012). Estudos realizados com humanos verificaram aumento nas concentrações plasmáticas desse peptídeo, após o consumo de beta-glucanos de cereais (BECK et al., 2009; VITAGLIONE et al., 2009). Assim, Beck et al. (2009) avaliaram os efeitos do consumo de cereais contendo quatro níveis de beta-glucano de aveia (0g, 2,16g, 3,82g e 5,45g) e observaram aumento significativo na concentração plasmática de PYY de indivíduos que consumiram o cereal com o maior conteúdo de beta-glucano em comparação com os indivíduos que consumiram o cereal sem beta-glucano. De maneira semelhante, Vitaglione et al. (2009) observaram que o consumo de 100g de um pão suplementado com 3% de beta-glucano de cevada aumentou em 16% a área sob a curva de PYY em comparação ao consumo de 93g de um pão sem suplementação de beta-glucano. Por outro lado, em cães, Bosch et al. (2009) não encontraram diferenças significativas nas concentrações de PYY quando os animais receberam dietas contendo fibras altamente fermentáveis (8,5% de polpa de beterraba e 2% de inulina) ou pouco fermentáveis (8,5% de celulose).

Além do peptídeo YY, a grelina também é um hormônio relacionado ao controle do apetite. Entretanto, contrariamente ao primeiro, a grelina tem ação orexigênica, sendo secretada por células localizadas na mucosa fúndica do estômago (DATE et al., 2000). Acredita-se que o aumento dos níveis circulantes de peptídeo YY decorrente da fermentação de substratos fibrosos no intestino grosso, além de outros fatores como, por exemplo, o consumo de uma dieta rica em lipídeos, reduza as concentrações de grelina, diminuindo assim seu efeito sobre a estimulação do apetite (SLOTH et al., 2007; WOODS; D'ALESSIO,

2008). Vitaglione et al. (2009) observaram, em humanos, uma redução de 23% na área sob a curva de grelina entre os tempos de 60 e 180 minutos após o consumo de 100g de um pão suplementado com 3% de beta-glucano de cevada.

Com relação à grelina em cães, Jeusette et al. (2005) observaram que animais obesos apresentam menor concentração plasmática desse hormônio em relação aos animais magros, indicando que seus níveis sejam regulados negativamente pelo excesso de energia na dieta ou de energia estocada no organismo. Além disso, os autores constataram que a concentração plasmática de grelina aumentou em 163% em animais submetidos a um protocolo de emagrecimento, sugerindo uma relação positiva desse hormônio como balanço energético negativo. Por outro lado, Yokoyama et al. (2005) observaram maior concentração plasmática de grelina em cães obesos em comparação a animais magros ou com peso corporal normal, demonstrando que a relação desse hormônio com a obesidade em cães ainda é incerta. Adicionalmente, os autores constataram que a administração de grelina resultou em aumento do consumo diário dos animais e que a concentração plasmática de grelina apresentou um pico imediatamente antes do horário da refeição e depois retornou aos níveis basais. Entretanto, em outro estudo, tal comportamento não foi observado em cães que receberam macronutrientes (carboidrato, proteína, lipídeo e água) de forma isolada (LUBBS et al., 2010). Embora os autores estivessem esperando uma diminuição nas concentrações de grelina, principalmente após o fornecimento de carboidratos, esse resultado não foi observado. Além desses estudos, Bosch et al. (2009) não verificaram diferenças nas concentrações de grelina em cães que receberam dietas com diferentes tipos de fibras (altamente fermentáveis – 8,5% de polpa de beterraba e 2% de inulina; pouco fermentáveis – 8,5% de celulose). Assim, a associação entre o consumo de fibras solúveis e as concentrações de PYY e grelina em cães, bem como o padrão de secreção desses

hormônios em animais obesos, ainda não estão bem estabelecidos, sendo necessários mais estudos dessa natureza.

A estimulação da saciedade pelos beta-glucanos pode resultar em redução do consumo e consequente perda de peso, sendo esses efeitos observados principalmente em humanos, ratos e camundongos. De fato, o consumo de dietas suplementadas com beta-glucanos de aveia de diferentes pesos moleculares reduziu, significativamente, o peso corporal de camundongos em comparação ao consumo de uma dieta sem suplementação (BAE et al., 2009). De maneira semelhante, o consumo de uma dieta suplementada com 10% de beta-glucano de aveia reduziu o consumo de ratos em 10% e o peso corporal em 37% em comparação a uma dieta controle (ADAMet et al., 2014). O consumo de dietas suplementadas com 2% e 4% de beta-glucano de cevada também resultou em perda de peso em camundongos (CHOI et al., 2010). Em humanos, o consumo de 100g de um pão suplementado com 3% de beta-glucano de cevada reduziu significativamente a sensação de fome, levando a um consumo de energia 19% menor em comparação aos indivíduos que consumiram um pão sem suplementação de beta-glucano (VITAGLIONE et al., 2009). No entanto, estudos que tenham avaliado os efeitos da suplementação de beta-glucano sobre o consumo alimentar e a perda de peso em cães ainda não foram realizados.

Por fim, a inclusão de fibras solúveis na dieta pode alterar alguns parâmetros hematológicos, uma vez que a fermentação desses substratos pela microbiota intestinal aumenta a produção de ácido fólico pelos microrganismos, o qual é essencial para a síntese de hemácias (BARROS et al., 2009; HOUGHTON et al., 1997; KEAGY; OACE, 1984). Além disso, esses processos fermentativos também estão relacionados a um aumento da absorção de ferro no TGI, sendo esse mineral essencial para a produção de hemoglobina (FREITAS et al., 2006; SHIGA; HARA; OKANO, 2003; VAISMAN; FIBACH; KONJIN, 1997). Os mecanismos propostos para tal efeito compreendem a redução do pH

intestinal e consequente conversão do íon férrico em íon ferroso, o qual é mais facilmente absorvido no TGI, a proliferação de células epiteliais com expansão da superfície de absorção e a maior expressão de proteínas de transporte de minerais nas células epiteliais (YEUNG et al., 2006). No entanto, estudos que tenham avaliado os efeitos de beta-glucanos sobre parâmetros hematológicos são raros, especialmente em cães. Em peixes, a suplementação da dieta com 0,5% ou 2,0% de um beta-glucano extraído de cogumelo aumentou a porcentagem de hematócrito, sendo que o maior nível de suplementação também aumentou a concentração de hemoglobina em relação aos animais que consumiram uma dieta sem suplementação (DOBSIKOVA et al., 2013).

Atualmente, sabe-se que os efeitos metabólicos e fisiológicos propiciados pelos beta-glucanos podem contribuir de forma significativa na prevenção e tratamento da obesidade em humanos (BIORKLUND et al., 2005; CAVALLERO et al., 2002; MAKELAINEN et al., 2007) e em ratos e camundongos (ADAM et al., 2014; BAE et al., 2009; CHOI et al., 2010). No entanto, em cães, espécie amplamente afetada pela obesidade, há escassez de informações relacionadas aos efeitos metabólicos e fisiológicos dos beta-glucanos, indicando a necessidade de mais estudos nessa área.

2.4 Influência dos beta-glucanos sobre o sistema imune

Os beta-glucanos são reconhecidos como padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs), ligando-se aos receptores de reconhecimento de padrões (RRPs) presentes em células do sistema imune inato. Dentre os receptores capazes de reconhecer os beta-glucanos destaca-se o receptor dectina-1, expresso em macrófagos, neutrófilos e células dendríticas (CHAN; CHAN; SZE, 2009). Embora esse receptor tenha sido considerado específico para beta-

glucanos provenientes de fungos e leveduras, foi comprovado que este também é capaz de reconhecer beta-glucanos provenientes de cevada (TADA et al., 2008).

Outros RRP's também podem estar envolvidos no reconhecimento de beta-glucanos pelo sistema imune inato. Assim, Rice et al. (2002) observaram que receptores *scavenger* presentes em monócitos e macrófagos de humanos são capazes de reconhecer a estrutura básica de beta-glucanos. Já, Zimmerman et al. (1998) observaram que o beta-(1,3)-glucano extraído da levedura *S. cerevisiae* se liga a lactosilceramida, um glicolípido presente na membrana de leucócitos, principalmente de neutrófilos.

Além disso, outro RRP também capaz de reconhecer os beta-glucanos é o CR3, um receptor específico para o fragmento C3b do sistema complemento. Esse receptor é expresso principalmente em neutrófilos, monócitos e células *natural killers* (células NK) e apresenta dois sítios de ligação em sua estrutura, um para o beta-glucano e o outro para o C3b (XIA et al., 1999). A ativação do CR3 requer uma dupla ligação com o beta-glucano e com o C3b depositado na parede de microrganismos pelo sistema complemento, resultando em fagocitose e citotoxicidade (HONG et al., 2004). Assim, os beta-glucanos são úteis na preparação dos receptores CR3 para se ligarem ao C3b presente na superfície de células reativas como, por exemplo, células tumorais (CHAN; CHAN; SZE, 2009). Entretanto, beta-glucanos de alto peso molecular são capazes de se ligar de forma cruzada ao CR3 de neutrófilos e monócitos, desencadeando a secreção de citocinas (ROSS et al., 1999).

Adicionalmente, é importante destacar que beta-glucanos administrados por via oral também apresentam imunidade imunomoduladora. Para isso, os beta-glucanos devem interagir com células M, as quais são especializadas no transporte de macromoléculas para as placas de Peyer, onde células do sistema imune inato e adaptativo residem. Uma vez na placa de Peyer, os beta-glucanos são reconhecidos por macrófagos e células dendríticas, por meio de RRP's, sendo

internalizados e quebrados em fragmentos menores. As células apresentadoras de antígenos, então, migram para linfonodos e baço, locais onde apresentam os fragmentos para outras células do sistema imune, resultando em uma cascata de respostas imunológicas (LEE; KIM, 2014).

O reconhecimento dos beta-glucanos pelos RRP, bem como a estimulação do sistema imune adaptativo por esses compostos resultam na ativação celular e consequente secreção de citocinas (CHAN; CHAN; SZE, 2009). No entanto, como dito anteriormente, as características físico-químicas de beta-glucanos de diferentes origens podem influenciar de maneiras distintas os efeitos desses compostos sobre o sistema imune, sendo os resultados encontrados na literatura bastante variados (ADACHI et al., 1990; ADAMS et al., 2008; NOSS et al., 2012; OKAZAKI et al., 1995; QI et al., 2011; SONCK et al., 2010; VETVICKA; VETVICKOVA, 2007).

A ativação celular pode ser avaliada por meio da realização de leucograma, embora não tenham sido encontrados muitos estudos que tenham avaliado os efeitos de beta-glucanos sobre o sistema imune por meio dessa avaliação. Em cães, a suplementação da dieta com diferentes níveis (0%, 0,05%, 0,25%, 0,45% e 0,65%) de uma preparação comercial de parede celular de levedura não influenciou as contagens de neutrófilos e linfócitos, porém, a contagem de monócitos diminuiu linearmente com o aumento da dose de beta-glucano utilizada (MIDDELBOSS et al., 2007). O mesmo resultado foi observado em ratos quando da administração de laminarin, um beta-glucano extraído de alga marrom, nas concentrações de 5% durante quatro dias e 10% durante 21 dias, 24 horas após o desafio com lipopolissacarídeo (LPS) de *Escherichia coli* (NEYRICK; MOUSON; DELZENNE, 2007). Por outro lado, a suplementação da dieta de camundongos com beta-glucano de cevada, nos níveis de 0,7%, 3,5% e 7,0%, não influenciou a contagem de células brancastotal e diferencial (DELANEY et al., 2003). Já, a administração intraperitoneal de beta-glucano

extraído do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* aumentou significativamente o número de leucócitos no sangue periférico de camundongos sete dias após a administração (HASHIMOTO et al., 1990). Dessa forma, pode-se dizer que os efeitos dos beta-glucanos sobre as células sanguíneas da série branca são influenciados por diversos fatores como tipo de beta-glucano, vias de administração do composto e espécie empregada no estudo.

Alguns estudos utilizaram a vacinação como forma de desafio para avaliar os efeitos dos beta-glucanos sobre a resposta imune, assim como foi feito no presente estudo. Em peixes, a administração via parenteral de bacterina de *Yersina ruckeri* associada a 100µg de beta-glucano de cevada resultou em aumento significativo no número de leucócitos 72 a 240 horas após a administração em comparação à administração da bacterina de forma isolada (JENEY; ANDERSON, 1993). De maneira semelhante, a administração oral de uma vacina contra vibriose associada a uma preparação comercial de beta-glucano de levedura para peixes resultou em aumento do número de leucócitos 21 dias após a administração em comparação à administração da vacina isoladamente (BAULNY et al., 1996).

Com relação à produção de citocinas, são encontrados poucos estudos que avaliaram os efeitos específicos de beta-glucanos de cereais, sendo que a maior parte dos estudos utiliza beta-glucanos extraídos de fungos e leveduras. Além disso, não foram encontrados estudos que tenham avaliado o padrão de secreção de citocinas frente a administração de beta-glucanos em cães.

Assim, a estimulação *in vitro* de macrófagos peritoneais de camundongos com beta-glucano de aveia, nas concentrações de 10 a 1000µg/mL e tempos de incubação de três, seis, 24 e 48 horas, resultou na produção de interleucina-1 (IL-1) de maneira dose e tempo-dependente. Adicionalmente, a incubação de culturas de células esplênicas com o mesmo tipo de beta-glucano e nas mesmas condições descritas anteriormente induziu a produção de IL-2, IL-4

e interferon gama (INF γ) também de maneira dose-dependente (ESTRADA et al., 1997). Já a estimulação *in vitro* de macrófagos peritoneais de camundongos com beta-glucano particulado, derivado da levedura *S. cerevisiae*, resultou em aumento das concentrações de IL-6 e fator de necrose tumoral alfa (FNT α) no sobrenadante das culturas celulares, não sendo detectadas quantidades significativas de IL-4, IL-10, IL-12 e INF γ (LI et al., 2007). De maneira semelhante, preparações de beta-glucanos extraídos do cogumelo *Sparassis crispanão* estimularam a produção de IL-4 e INF γ , *in vitro*, por células dendríticas provenientes da medula óssea de camundongos (KIM et al., 2010).

Além disso, alguns estudos *in vivo* também avaliaram os efeitos da suplementação de beta-glucano sobre a produção de citocinas. Dessa forma, a suplementação da dieta de frangos de corte com diferentes níveis de beta-glucano derivado de *S. cerevisiae* (0, 25, 50, 75, 100 e 125mg/kg da dieta) levou a um aumento quadrático nas concentrações séricas de IL-1, IL-2, INF γ e FNT α (ZHANG; GUO; WANG, 2008). Em suínos desafiados com LPS de *E. coli*, a suplementação da dieta com beta-glucanos de *S. cerevisiae* (50ppm) também resultou em aumento das concentrações plasmáticas de algumas citocinas, como IL-6, FNT α e IL-10 (LI et al., 2006).

Entretanto, em alguns estudos, verificou-se que os beta-glucanos não influenciam ou influenciam de forma negativa a produção de citocinas. Assim, a exposição de leucócitos humanos ao PGG-glucano, um composto solúvel derivado de *S. cerevisiae*, não influenciou as concentrações de citocinas (WASKHULL et al., 1999).

Já, Bedirli et al. (2007) demonstraram que a administração intramuscular de beta-glucanos, na dose de 2mg/kg, em ratos resulta em bloqueio do aumento das concentrações plasmáticas de FNT α , IL-1 β e IL-6 induzido por lesão pulmonar decorrente de septicemia. Os autores acreditam que esse efeito esteja relacionado a uma menor mobilização de neutrófilos para o tecido pulmonar, em

razão de uma menor expressão da molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1), uma molécula importante para a migração de leucócitos para áreas lesionadas. No estudo, essa menor expressão de ICAM-1 também foi confirmada. Assim, os autores propõem a utilização de beta-glucanos como agentes terapêuticos no tratamento de lesões inflamatórias pulmonares relacionadas à sepse.

Da mesma forma, Bonfim-Mendonça et al. (2014) também observaram redução na produção de citocinas (FNT α , IL-1 β e IL-8) por neutrófilos pré-tratados com beta-glucanos extraídos da alga *Laminaria digitata* e expostos a cepas de *Candida albicans* e *C. glabrata*. Além disso, foi demonstrada maior produção de IL-1Ra, a qual é caracterizada como um antagonista do receptor de IL-1, uma vez que não induz nenhuma resposta intracelular. Assim, os autores destacam que o beta-glucano avaliado pode ter papel importante no controle da gravidade de processos inflamatórios, devido à indução da produção de IL-1Ra.

Dessa forma, de acordo com os resultados encontrados nos diferentes estudos, pode-se concluir que os beta-glucanos influenciam de forma distinta a produção de citocinas. Essa influência está diretamente relacionada às características intrínsecas dos beta-glucanos utilizados nos experimentos, as quais variam de acordo com a origem do composto. Além disso, esse parâmetro pode variar de acordo com o tipo celular avaliado, o tipo de desafio empregado e a espécie utilizada. Assim, embora a produção de citocinas represente um bom parâmetro para a avaliação dos efeitos da administração de beta-glucanos sobre o sistema imune, todos esses fatores devem ser considerados.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com o exposto nessa revisão de literatura, fica claro que os beta-glucanos apresentam a capacidade de influenciar processos metabólicos, fisiológicos, imunológicos e nutricionais em diferentes espécies. No entanto, a

natureza e a intensidade dessa influência variam amplamente de acordo com a origem do beta-glucano, bem como com a espécie empregada no estudo. Além disso, a escassez de estudos que tenham avaliado os efeitos da suplementação dietética com beta-glucanos em cães e que tenham avaliado os efeitos de beta-glucanos extraídos de aveia destaca a importância de se realizar estudos dessa natureza. Dessa forma, o presente estudo pode contribuir de forma significativa para a ampliação dos conhecimentos acerca dos efeitos proporcionados pela inclusão de beta-glucano de aveia na alimentação de cães. Adicionalmente, por ser um estudo inicial, pode também servir como uma base para a realização de outras pesquisas nessa área da nutrição animal.

REFERÊNCIAS

- BONFIM-MENDONÇA, P. S. et al. β -glucan induces reactive oxygen species production in human neutrophils to improve the killing of *Candida albicans* and *Candida glabrata* isolates from vulvovaginal candidiasis. **PLoS One**, San Francisco, v. 9, n. 9, p. 1-14, Sept. 2014.
- BOSCH, G. et al. The effect of dietary fibre type on satiety-related hormones and voluntary food intake in dogs. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 102, n. 2, p. 318-325, July 2009.
- BOURDON, I. et al. Postprandial lipid, glucose, insulin, and cholecystokinin responses in men fed barley pasta enriched with β -glucan. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 69, n. 1, p. 55-63, Jan. 1999.
- BRAATEN, J. T. et al. Oat gum lowers glucose and insulin after an oral glucose load. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 53, n. 6, p. 1425-1430, June 1991.
- BRENNAN, C. S.; CLEARY, L. J. The potential use of cereal (1 \rightarrow 3,1 \rightarrow 4)- β -D-glucans as functional food ingredients. **Journal of Cereal Science**, London, v. 42, n. 1, p. 1-13, July 2005.
- BROWN, G. D.; GORDON, S. Fungal β -glucans and mammalian immunity. **Immunity**, Cambridge, v. 19, n. 3, p. 311-315, Sept. 2003.

BURTON-FREEMAN, B. Dietary fiber and energy regulation. **Journal of Nutrition**, Springfield, v. 130, n. 2, p. 271-275, Feb. 2000. Supplement.

CASTANON, J. I. History of the use of antibiotic as growth promoters in European poultry feeds. **Poultry Science**, Champaign, v. 86, n. 11, p. 2466-2471, Nov. 2007.

CAVALLERO, A. et al. High (1 \rightarrow 3, 1 \rightarrow 4)- β -glucan barley fractions in bread making and their effects on human glycemic response. **Journal of Cereal Science**, London, v. 36, n. 1, p. 59-66, July 2002.

CHAE, B. J. et al. Effects of supplementation of β -glucan on the growth performance and immunity in broilers. **Research in Veterinary Science**, Oxford, v. 80, n. 3, p. 291-298, June 2006.

CHAN, G. C. F.; CHAN, W. K.; SZE, D. M. Y. The effects of β -glucan on human immune and cancer cells. **Journal of Hematology & Oncology**, London, v. 2, n. 25, p. 1-11, June 2009.

CHERBUT, C. et al. In vitro contractile effects of short chain fatty acids in the rat terminal ileum. **Gut**, London, v. 38, n. 1, p. 53-58, Jan. 1996.

CHERBUT, C. et al. Short-chain fatty acids modify colonic motility through nerves and polypeptide YY release in the rat. **The American Journal of Physiology**, Bethesda, v. 275, n. 6, p. 1415-1422, Dec. 1998.

CHOCT, M.; ANNISON, G. Anti-nutritive effects of wheat pentosans in broiler chickens: roles of viscosity and gut microflora. **British Poultry Science**, Edinburgh, v. 33, n. 4, p. 821-834, Sept. 1992.

CHOI, J. S. et al. Consumption of barley β -glucan ameliorates fatty liver and insulin resistance in mice fed a high-fat diet. **Molecular Nutrition & Food Research**, Weinheim, v. 54, n. 7, p. 1004-1013, July 2010.

COX, C. M. et al. Immune responses to dietary β -glucan in broiler chicks during an *Eimeria* challenge. **Poultry Science**, Champaign, v. 89, n. 12, p. 2597-2607, Dec. 2010a.

_____. Performance and immune responses to dietary β -glucan in broiler chicks. **Poultry Science**, Champaign, v. 89, n. 12, p. 1924-1933, Dec. 2010b.

DATE, Y. et al. Ghrelin, a novel growth hormone releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrinology cell type in the gastrointestinal tract of rats and humans. **Endocrinology**, Washington, v. 141, n. 11, p. 4255-4261, Nov. 2000.

DEGEN, L. et al. Effect of peptide YY₃₋₃₆ on food intake in humans. **Gastroenterology**, Baltimore, v. 129, n. 5, p. 1430-1436, Nov. 2005.

DELANEY, B. et al. Repeated dose oral toxicological evaluation of concentrated barley β -glucan in CD-1 mice including a recovery phase. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 41, n. 8, p. 1089-1102, Aug. 2003.

DOBSIKOVA, R. et al. The effect of oyster mushroom β -1.6/1.3-D-glucan and oxytetracyclin antibiotic on biometrical, haematological, biochemical, and immunological indices, and histopathological changes in common carp (*Cyprinus carpio* L.). **Fish & Shellfish Immunology**, Amsterdam, v. 35, p. 1813-1823, 2013.

EASTWOOD, M. A.; MORRIS, E. R. Physical properties of dietary fiber that influence physiological function: a model for polymers along the gastrointestinal tract. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 55, n. 2, p. 436-442, Feb. 1992.

EL KHOURY, D. et al. Beta-glucan: health benefits in obesity and metabolic syndrome. **Journal of Nutrition and Metabolism**, New York, v. 2012, n. 1, p. 1-27, 2012.

ESTRADA, A. et al. Immunomodulatory activities of oat β -glucan in vitro and in vivo. **Microbiology and Immunology**, Australia, v. 41, n. 12, p. 991-998, 1997.

FAHEY, G. C. et al. Dietary fiber for dogs. III: Effects of beet pulp and oat fiber additions to dog diets on nutrient intake, digestibility, metabolizable energy, and digesta mean retention time. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70, n. 4, p. 1169-1174, Apr. 1992.

FREITAS, K. C. et al. Partially hydrolyzed guar gum increases intestinal absorption of iron in growing rats with iron deficiency anemia. **Clinical Nutrition**, Edinburgh, v. 25, n. 5, p. 851-858, Oct. 2006.

GOEL, V. et al. Dietary rhubarb (*Rheum rhaponticum*) stalk fibre stimulates cholesterol 7 α -hydroxylase gene expression and bile acid excretion in

cholesterol-fed C57Bl/CJ mice. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 81, n. 1, p. 65-71, Jan. 1999.

GRAHAM, H.; AMAN, P. Nutritional aspects of dietary fibers. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 32, p. 143-158, 1991.

HAHN, T. W. et al. Effects of supplementation of β -glucans on growth performance, nutrient digestibility, and immunity in weanling pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 84, p. 1422-1428, 2006.

HASHIMOTO, H. et al. Enhancement of hematopoietic response in mice by intraperitoneal administration of a β -glucan, SSG, obtained from *Sclerotinia sclerotiorum*. **Journal of Pharmacobio-Dynamics**, Tokyo, v. 13, n. 8, p. 512-517, Aug. 1990.

HONG, F. et al. Mechanism by which orally administered β -1,3-glucans enhance the tumoricidal activity of antitumor monoclonal antibodies in murine tumor models. **Journal of Immunology**, Baltimore, v. 173, n. 2, p. 797-806, July 2004.

HOODA, S. et al. Dietary oat β -glucan reduces peak net glucose flux and insulin production and modulates plasma incretin in portal-vein catheterized grower pigs. **Journal of Nutrition**, Springfield, v. 140, n. 9, p. 1564-1569, Sept. 2010.

HOUGHTON, L. A. et al. Association between dietary fiber intake and the folate status of a group of female adolescents. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 66, n. 6, p. 1414-1421, Dec. 1997.

JENEY, G.; ANDERSON, D. P. Glucan injection or bath exposure given alone or in combination with a bacterin enhance the non-specific defense mechanisms in rainbow trout (*Onchorhynchus mynkiss*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 116, n. 4, p. 315-329, 1993.

JEUSETTE, I. C. et al. Effects of chronic obesity and weight loss on plasma ghrelin and leptin concentrations in dogs. **Research in Veterinary Science**, Oxford, v. 79, n. 2, p. 169-175, Oct. 2005.

KEAGY, P. M.; OACE, S. M. Folic acid utilization from higher fiber diets in rats. **Journal of Nutrition**, Springfield, v. 114, n. 7, p. 1252-1259, July 1984.

KIM, H. S. et al. Induction of dendritic cell maturation by β -glucan isolated from *Sparassis crispa*. **International Immunopharmacology**, Amsterdam, v. 10, n. 10, p. 1284-1294, Oct. 2010.

KOEGH, G. F. et al. Randomized controlled crossover study of the effect of a highly β -glucan-enriched barley on cardiovascular disease risk factors in mildly hypercholesterolemic men. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 79, n. 4, p. 711-718, Oct. 2003.

LAZARIDOU, A.; BILIADERIS, C. G. Molecular aspects of cereal β -glucan functionality: physical properties, technological applications and physiological effects. **Journal of Cereal Science**, London, v. 46, n. 2, p. 101-118, Sept. 2007.

LEE, D. H.; KIM, H. W. Innate immunity induced by fungal β -glucans via dectin-1 signaling pathway. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, New York, v. 16, n. 1, p. 1-14, 2014.

LEEK, A. B. G. et al. Apparent component digestibility and manure ammonia emission in finishing pigs fed diets based in barley, maize or wheat prepared without or with exogenous non-starch polysaccharide enzymes. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 135, n. 1-2, p. 86-99, May 2007.

LI, B. et al. Yeast glucan particles activate murine resident macrophages to secrete proinflammatory cytokines via MyD88- and Syk kinase-dependent pathways. **Clinical Immunology**, Orlando, v. 124, n. 2, p. 170-181, Aug. 2007.

LI, J. et al. Effects of β -glucan extracted from *Saccharomyces cerevisiae* on growth performance, and immunological and somatotropic responses of pigs challenged with *Escherichia coli* lipopolysaccharide. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 84, n. 9, p. 2374-2381, Sept. 2006.

LOWRY, V. K. et al. Purified β -glucan as an abiotic feed additive up-regulates the innate immune response in immature chickens against *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis*. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 98, n. 3, p. 309-318, Feb. 2005.

LUBBS, D. C. et al. Dietary macronutrients and feeding frequency affect fast and postprandial concentrations of hormones involved in appetite regulation in adult dogs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 88, n. 12, p. 3945-3953, Dec. 2010.

MAKELAINEN, H. et al. The effect of β -glucan on the glycemic and insulin index. **European Journal of Clinical Nutrition**, London, v. 61, n. 6, p. 779-785, June 2007.

MARCIANI, L. et al. Effect of meal viscosity and nutrients on satiety, intragastric dilution, and emptying assessed by MRI. **The American Journal of Physiology**, Bethesda, v. 280, n. 6, p. 1227-1233, June 2001.

MIDDELBOS, I. S. et al. A dose response evaluation of a spray-dried yeast cell wall supplementation of diets fed to dogs: effects on nutrient digestibility, immune indices, and fecal microbial populations. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 85, n. 11, p. 3022-3032, Nov. 2007.

NEYRINCK, A. M.; MOUSON, A.; DELZENNE, N. M. Dietary supplementation with laminarin, a fermentable marine β (1-3) glucan, protects against hepatotoxicity induced by LPS in rat by modulating immune response in the hepatic tissue. **International Immunopharmacology**, Amsterdam, v. 7, n. 12, p. 1497-1506, Dec. 2007.

NOSS, I. et al. Comparison of the potency of a variety of β -glucans to induce cytokine production in human whole blood. **Innate Immunity**, Los Angeles, v. 19, n. 1, p. 10-19, Feb. 2012.

O'SHEA, C. J. et al. Effect of supplementation of exogenous β -glucans and enzymes on nutrient digestibility, manure odour and ammonia emissions from finisher boars. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 134, n. 1-3, p. 190-193, Sept. 2010.

_____. The effect of introducing purified β -glucans to a wheat-based diet on total tract digestibility and gaseous manure emissions from pigs as compared with consumption of a β -glucan-rich, barley-based diet. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 165, n. 1-2, p. 95-104, Apr. 2011.

OKAZAKI, M. et al. Structure-activity relationship of (1 \rightarrow 3)- β -D-glucans in the induction of cytokine production from macrophages, in vitro. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 18, n. 10, p. 1320-1327, Oct. 1995.

QI, C. et al. Differential pathways regulating innate and adaptive anti-tumor immune responses by particulate and soluble yeast-derived β -glucans. **Blood**, New York, v. 117, n. 25, p. 6825-6836, June 2011.

REILLY, P. et al. The effect of cereal-derived beta-glucans and exogenous enzyme supplementation on intestinal microflora, nutrient digestibility, mineral

metabolism and volatile fatty acid concentrations in finisher pigs. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 158, n. 3-4, p. 165-176, June 2010.

RICE, P. J. et al. Human monocyte scavenger receptors are pattern recognition receptors for (1→3)- β -D-glucans. **Journal of Leukocyte Biology**, New York, v. 72, n. 1, p. 140-146, July 2002.

RIZWAN, M. et al. Silicon alleviates Cd stress of wheat seedlings (*Triticum turgidum* L. cv. Claudio) grown in hydroponics. **Environmental Science and Pollution Research International**, Landsberg, v. 23, n. 2, p. 1414–1427, Jan. 2016.

ROSS, G. D. et al. Therapeutic intervention with complement and β -glucan in cancer. **Immunopharmacology**, New York, v. 42, n. 1-3, p. 61-74, May 1999.

SCHENNEMAN, B. O.; GALLAHER, D. Effects of dietary fiber on digestive enzyme activity and bile acids in the small intestine. **Proceedings of the Society of Experimental Biology and Medicine**, Malden, v. 180, n. 3, p. 409-414, Dec. 1985.

SHIGA, K.; HARA, H.; OKANO, G. Ingestion of water-soluble soybean fiber prevents gastrectomy-induced iron malabsorption, anemia and impairment of voluntary running exercise performance in rats. **Journal of Nutrition**, Springfield, v. 133, n. 4, p. 1120-1126, Apr. 2003.

SLOMINSKI, B. A. Recent advances in research on enzymes for poultry diets. **Poultry Science**, Champaign, v. 90, n. 9, p. 2013-2023, Sept. 2011.

SLOTH, B. et al. Effect of subcutaneous injections of PYY1-36 and PYY3-36 on appetite, ad libitum energy intake, and plasma free fatty acid concentration in obese males. **The American Journal of Physiology**, Bethesda, v. 293, n. 2, p. 604-609, Aug. 2007.

SONCK, E. et al. The effects of β -glucans on porcine leukocytes. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v. 135, n. 3-4, p. 199-207, June 2010.

TADA, R. et al. Binding capacity of barley β -D-glucan to the β -glucan recognition molecule dectin-1. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 56, n. 4, p. 1442-1450, 2008.

TIWARI, U.; CUMMINS, E. Meta-analysis of the effect of β -glucan intake on blood cholesterol and glucose levels. **Nutrition**, Burbank, v. 27, n. 10, p. 1008-1016, Oct. 2011.

TWOMEY, L. N. et al. The effects of increasing level of soluble non-starch polysaccharides and inclusion of feed enzymes in dog diets on faecal quality and digestibility. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 108, n. 1-4, p. 71-82, Aug. 2003.

VAISMAN, B.; FIBACH, E.; KONIJN, A. M. Utilization of intracellular ferritin iron for hemoglobin synthesis in developing human erythroid precursors. **Blood**, New York, v. 90, n. 2, p. 831-838, July 1997.

VASANTHAN, T.; TEMELLI, F. Grain fractionation technologies for cereal beta-glucan concentration. **Food Research International**, Barking, v. 41, n. 9, p. 876-881, Nov. 2008.

VERNIA, A. et al. Organic anions and the diarrhea of inflammatory bowel disease. **Digestive Diseases and Sciences**, New York, v. 33, n. 11, p. 1353-1358, Nov. 1988.

VETVICKA, V.; VETVICKOVA, J. Physiological effects of different types of β -glucans. **Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacký, Olomouc, Czechoslovakia**, Prague, v. 151, n. 2, p. 225-231, Dec. 2007.

VITAGLIONE, P. et al. β -glucan-enriched bread reduces energy intake and modifies plasma ghrelin and peptide YY concentrations in the short term. **Appetite**, London, v. 53, n. 3, p. 338-344, Dec. 2009.

VOLMAN, J. J.; RAMAKERS, J. D.; PLAT, J. Dietary modulation of immune function by β -glucans. **Physiology & Behavior**, Oxford, v. 94, n. 2, p. 276-284, May 2008.

WANG, L. et al. Barley β -glucan alters intestinal viscosity and reduce plasma cholesterol concentrations in chicks. **Journal of Nutrition**, Springfield, v. 122, n. 11, 2292-2297, Nov. 1992.

WASKHULL, E. et al. PGG-Glucan, a soluble β -(1,3)-glucan, enhances the oxidative burst response, microbicidal activity, and activates an NF- κ B-like factor in human PMN: evidence for a glycosphingolipid β -(1,3)-glucan receptor. **Immunopharmacology**, New York, v. 41, n. 2, p. 89-107, Feb. 1999.

WOODS, S. C.; D'ALESSIO, D. A. Central control of body weight and appetite. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, Springfield, v. 93, n. 11, p. 37-50, Nov. 2008.

XIA, Y. et al. The β -glucan binding lectin site of mouse CR3 (CD11b/CD18) and its function in generating a primed state of the receptor that mediates cytotoxic activation in response to iC3b-opsonized target cells. **Journal of Immunology**, Baltimore, v. 162, n. 4, p. 2281-2290, Feb. 1999.

YAJIMA, T. Contractile effect of short chain fatty acids on the isolated colon of the rat. **Journal of Physiology**, London, v. 368, p. 667-678, Nov. 1985.

YEUNG, C. K. et al. Prebiotics and iron bioavailability – is there a connection? **Journal of Food Science**, Champaign, v. 70, n. 5, p. 88-92, June 2006.

YOKOYAMA, M. et al. Influencing the between-feeding and endocrine responses of plasma ghrelin in healthy dogs. **European Journal of Endocrinology**, Oslo, v. 152, n. 1, p. 155–160, Jan. 2005.

ZHANG, B.; GUO, Y.; WANG, Z. The modulating effect of β -1, 3/1, 6-glucan supplementation in the diet on performance and immunological responses of broiler chickens. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, Essex, v. 21, n. 2, p. 237-244, 2008.

ZIMMERMAN, J. W. et al. A novel carbohydrate-glycosphingolipid interaction between a β -(1,3)-glucan immunomodulator, PGG-glucan, and lactosylceramide of human leukocytes. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 273, n. 34, p. 22014-22020, Aug. 1998.

SEGUNDA PARTE – ARTIGO

Formatação de acordo com as normas do periódico *British Journal of Nutrition*

BETA-GLUCANO DE AVEIA COMO SUPLEMENTO DIETÉTICO PARA CÃES

Lívia Ferreira, Márcio Zangeronimo, et al.

Resumo

Objetivou-se com esse estudo avaliar os efeitos da suplementação dietética com beta-glucano de aveia sobre parâmetros metabólicos, fisiológicos, imunológicos e nutricionais em cães adultos. Para isso, 14 cães receberam uma dieta controle ou uma dieta suplementada com 1% de beta-glucano durante 71 dias. Foram determinadas as concentrações séricas de glicose, colesterol total (CT) e frações lipoprotéicas, assim como as concentrações plasmáticas de peptídeo YY e grelina. Além disso, avaliou-se o coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) dos nutrientes, o consumo de alimento, a produção, o escore e o pH fecal. Para avaliação dos parâmetros imunológicos, os animais foram vacinados e determinou-se as concentrações séricas de interleucina-4 (IL-4) e interferon gama (INF γ), bem como o hemograma completo nos dias 0, 7 e 21 (7 dias após a segunda dose da vacina) após o desafio vacinal. Os animais que receberam a dieta suplementada apresentaram menores concentrações séricas de CT e lipoproteínas de densidade baixa e muito baixa, menores CDA de matéria seca, matéria orgânica, matéria mineral e lipídeos, maior produção de fezes e menor consistência fecal ($P < 0,05$). Adicionalmente, a dieta suplementada resultou em maior número de hemácias, de porcentagem do hematócrito e de concentração de hemoglobina 21 dias após a primeira dose da vacina, assim como menores concentrações séricas de IL-4 sete dias após a primeira dose da vacina ($P < 0,05$). Conclui-se que o beta-glucano de aveia, na dose utilizada, é capaz de influenciar positivamente parâmetros metabólicos, nutricionais e imunológicos em cães,

apresentando potencial para que seja empregado na alimentação de animais obesos.

Palavras-chave: Citocinas. Colesterol. Digestibilidade. Fibra funcional. Glicemia. Hormônios. Saciedade.

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effects of oat beta-glucan supplementation on metabolic, physiological, immunological and nutritional parameters in adult dogs. Fourteen dogs were fed a control diet or a diet supplemented with 1% of beta-glucan during 71 days. Serum concentrations of glucose, total cholesterol (TC) and lipoprotein fractions, as well as plasma concentrations of peptide YY and ghrelin were determined. In addition, coefficients of total tract apparent digestibilities (CTTAD), feed consumption and fecal production, score and pH were also evaluated. For evaluating the immunological parameters, animals were vaccinated and serum concentrations of interleukin-4 (IL-4) and interferon gamma (INF γ) were determined, as well as blood cell count on days 0, 7 and 21 (7 days after the second dose of vaccine) after the vaccine challenge. Animals fed the supplemented diet showed lower serum concentrations of TC and low and very low density lipoproteins, lower CTTAD of dry matter, organic matter, mineral matter and lipids, higher fecal production and lower fecal consistency ($P < 0,05$). Moreover, the supplemented diet resulted in higher number of red blood cells, hematocrit percentage and hemoglobin concentration 21 days post-vaccination, as well as lower serum concentration of IL-4 seven days post-vaccination ($P < 0,05$). It is concluded that oat beta-glucan, at the dose used, is able to positively influence metabolic, nutritional and immunological parameters in dogs, presenting potential to be used in obese animals feeding.

Keywords: Cholesterol. Cytokines. Digestibility. Functional fiber. Glycemia. Hormones. Satiety.

1. Introdução

Os beta-glucanos representam um dos principais componentes estruturais da parede celular de fungos, leveduras e cereais, além de algumas bactérias e algas⁽¹⁾. Nos cereais, particularmente, os beta-glucanos se apresentam como polissacarídeos lineares, nos quais os monômeros de glicose são unidos por ligações β -(1,3) e β -(1,4) e são encontrados, principalmente, na cevada, na aveia e no trigo^(2,3,4). Essa organização estrutural faz com que os beta-glucanos provenientes de cereais sejam solúveis em água, sendo, portanto, classificados como fibras solúveis⁽⁵⁾.

Por esse motivo, diversos estudos têm avaliado a capacidade do beta-(1,3),(1,4)-glucano em influenciar de maneira positiva alguns processos fisiológicos e metabólicos no organismo, tais como estímulo da saciedade, redução das concentrações de glicose e colesterol no sangue e até mesmo redução do peso corporal^(6,7,8). Tais efeitos podem contribuir significativamente para a prevenção e tratamento de distúrbios como a obesidade⁽³⁾, problema nutricional mais comumente observado em cães⁽⁹⁾. Além disso, o fato do beta-glucano ser um produto natural extraído de vegetais pode servir como maior apelo para aqueles proprietários que se preocupam com a saúde e bem-estar de seus animais. No entanto, até o momento, os efeitos da suplementação com beta-glucanos provenientes de cereais em dietas para cães ainda não foram comprovados.

Adicionalmente, os cães, frequentemente, são submetidos a uma grande variedade de fatores estressantes que podem interferir em parâmetros hematológicos e imunológicos⁽¹⁰⁾. Além disso, a obesidade também é

relacionada à diminuição da função imune, sendo que cães obesos apresentam menor resistência ao desenvolvimento de infecções⁽⁹⁾. Assim, a utilização de compostos que sejam capazes de aliar tanto efeitos metabólicos e fisiológicos quanto efeitos imunológicos benéficos apresentam grande potencial para que sejam mais explorados na nutrição animal, especialmente na nutrição de animais de companhia.

Diversos estudos têm comprovado a atuação de beta-glucanos como agentes imunomoduladores^(11,12,13). Tal capacidade é associada ao reconhecimento dos beta-glucanos como padrões moleculares associados a patógenos por diferentes células do sistema imune⁽¹⁴⁾. Esse reconhecimento resulta na ativação dessas células e subsequente produção de citocinas⁽¹⁵⁾. No entanto, a maior parte desses estudos avalia os efeitos de beta-glucanos extraídos de fungos e leveduras, que apresentam os monômeros de glicose unidos por ligações β -(1,3) e β -(1,6), ou seja, são estruturalmente diferentes dos beta-glucanos provenientes de cereais⁽¹⁾. Dessa forma, estudos com beta-glucanos de cereais são necessários para que se possa determinar a natureza dos efeitos imunológicos desses compostos.

Assim, objetivou-se com esse estudo avaliar os efeitos da suplementação dietética com beta-glucano extraído de aveia sobre parâmetros fisiológicos, metabólicos, imunológicos e nutricionais em cães adultos.

2. Material e métodos

2.1. Animais, instalações e delineamento experimental

O experimento foi conduzido no Centro de Estudos em Nutrição de Animais de Companhia (CENAC) pertencente ao Departamento de Zootecnia (DZO) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), localizada em Lavras, Minas

Gerais, Brasil. Todo o procedimento experimental teve a aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais da instituição (protocolo número 005/2015).

Ao todo, 14 cães adultos da raça *Beagle*, com idades entre dois e dez anos e peso de $16,2 \pm 3,2$ kg, mantidos em baias individuais de $4,8 \text{ m}^2$ (1,2m de largura x 4,0m de comprimento) constituídas por área coberta (1,2 m de largura x 2,0 m de comprimento) e solário (1,2 m de largura x 2,0 m de comprimento) e equipadas com comedouros suspensos giratórios e bebedouros automáticos do tipo chupeta, foram utilizados. Ao longo do experimento, as temperaturas máxima e mínima foram de $30,3 \pm 2,8$ °C e $18,1 \pm 2,8$ °C, respectivamente, e os valores de umidade máximo e mínimo foram de $78,4 \pm 6,2\%$ e $44,2 \pm 4,2\%$, respectivamente. Os animais, todos em perfeitas condições de saúde, foram distribuídos em delineamento em blocos casualizados (peso x idade) com dois tratamentos (com e sem suplementação de beta-glucano) e sete repetições de um animal cada. O período experimental foi de 71 dias.

2.2. Dietas experimentais

As dietas experimentais consistiram em um alimento comercial seco (Tabelas 1 e 2) formulado para atender as necessidades nutricionais de cães adultos em manutenção⁽¹⁶⁾, com ou sem a suplementação de beta-glucano extraído de aveia. Essa suplementação foi feita com um produto comercial com 70% de pureza (Embrafarma®, São Paulo, Brasil) (Tabela 2).

O alimento foi fornecido sempre às 9 horas, após o manejo de higienização das baias. A quantidade de alimento fornecido, em gramas, foi calculada pela fórmula $130 \times PV^{0,75}$, recomendada para cães adultos em manutenção⁽¹⁶⁾. Antes da alimentação, os animais do grupo teste receberam por meio de uma seringa o beta-glucano dissolvido em 10mL de água. A quantidade de beta-glucano foi calculada para cada animal de acordo com a quantidade de alimento fornecido (10 g de beta-glucano/ kg de alimento). Já os animais do

grupo controle receberam apenas água, através do mesmo procedimento descrito para os animais do grupo teste.

Semanalmente, os animais foram pesados para o cálculo da quantidade de alimento e beta-glucano a ser fornecido. Água foi disponibilizada *ad libitum*.

2.3. Determinação de parâmetros metabólicos e fisiológicos

O fluxograma do procedimento experimental está apresentado na Figura 1. No primeiro dia do experimento, 10 mL de sangue de cada animal foram coletados em tubos de ensaio sem anticoagulante por meio de punção da veia jugular para determinação das concentrações séricas de glicose, colesterol total e colesterol em lipoproteínas de densidade alta (HDL-c), baixa (LDL-c) e muito baixa (VLDL-c) e triacilgliceróis. As coletas de sangue foram feitas em animais em jejum sólido por 12 horas, antes do fornecimento das dietas experimentais, e imediatamente encaminhadas para um laboratório de análises clínicas comercial. Aos 60 e aos 120 minutos após o início do fornecimento da dieta, novas coletas de sangue foram realizadas para a determinação das concentrações séricas de glicose. Esses parâmetros foram determinados através de método colorimétrico enzimático.

Aos 28 dias de experimento, novas coletas de sangue foram realizadas nas mesmas condições descritas anteriormente, antes e após 60 e 120 minutos do fornecimento do alimento para a mensuração dos mesmos parâmetros sanguíneos mencionados no início do experimento. Além disso, amostras de sangue também foram coletadas em tubos de ensaio com ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) para quantificação de peptídeo YY (PYY) e grelina. Nesse caso, imediatamente após a coleta, o sangue foi transferido para tubos de ensaio contendo aprotinina na concentração de 0,6 unidades inibidoras de tripsina (TIU)/mL. Em seguida, os tubos foram centrifugados a 1600 g durante 15 minutos a 4 °C. O plasma foi então pipetado e acondicionado em microtubos, os

quais foram armazenados em *freezer* a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a realização das análises. As concentrações plasmáticas de PYY e grelina foram determinadas por meio de ensaios imunoenzimáticos competitivos (ELISA), utilizando *kits* comerciais (Phoenix Pharmaceuticals[®], Burlingame, EUA).

2.4. Características fecais, digestibilidade dos nutrientes e consumo

Entre os dias 24 e 28 do experimento, o escore e o pH fecal, bem como a quantidade de fezes produzidas foram avaliados. O escore fecal foi realizado diretamente na baía de acordo com a seguinte escala⁽¹⁷⁾: 1 - fezes duras e secas; 2 - fezes bem formadas, secas, porém macias; 3 - fezes bem formadas, úmidas e macias; 4 - fezes mal formadas, úmidas e que assumem o formato do recipiente de coleta; 5 - fezes líquidas. O pH fecal foi mensurado em fezes frescas, coletadas no máximo 15 minutos após a defecação, utilizando um peagâmetro digital de bancada (modelo Q400A, Quimis, São Paulo, Brasil), cujo eletrodo foi inserido em três pontos distintos da amostra.

Após a avaliação do escore fecal, as fezes foram recolhidas diretamente do chão das baias, tanto no período da manhã quanto da tarde, limpas de qualquer material estranho, acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ao final do período de coleta, as fezes provenientes de cada animal foram descongeladas em temperatura ambiente por 12 horas, pesadas e homogeneizadas. Em seguida, foram colocadas em bandejas de alumínio, novamente pesadas, e secadas em estufa de ventilação forçada (MA035/5, Marconi[®], Piracicaba, São Paulo, Brasil) a $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 72 horas. Após atingirem equilíbrio com a temperatura ambiente, foram pesadas e moídas em um moinho de martelo do tipo Thomas-Wiley, utilizando peneira de 1,0 mm. As amostras foram acondicionadas em potes plásticos e armazenadas em temperatura ambiente para posterior análise.

As análises bromatológicas dos alimentos e das fezes foram realizadas no Laboratório de Pesquisa Animal do DZO/UFLA. As análises de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e matéria mineral (MM) do alimento e das fezes foram realizadas de acordo com metodologias descritas pela *Association of Official Analytical Chemists*⁽¹⁸⁾.

O coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) da MS foi calculado pela fórmula:

$$CDA_{MS} (\%) = [(a-b)/a] \times 100$$

Em que:

a = consumo de alimento na matéria seca

b = excreção de fezes na matéria seca

O CDA dos demais nutrientes foi calculado pela fórmula:

$$CDA_{nutriente} (\%) = \{[(a \times b - c \times d) / (a \times b)] \times 100$$

Em que:

a = consumo de alimento na matéria seca

b = porcentagem do nutriente no alimento

c = excreção de fezes na matéria seca

d = porcentagem do nutriente nas fezes

Entre os dias 35 e 45 do experimento foi realizada a avaliação do consumo. Para isso, procedeu-se à administração do beta-glucano misturado à água para os animais do grupo teste e somente da água para os animais do grupo controle, seguindo-se os mesmos procedimentos adotados anteriormente. Posteriormente, forneceu-se alimento a vontade para os animais. Após 30 minutos, os comedouros foram retirados e as sobras foram mensuradas para

determinação do consumo. Os dados de consumo foram transformados em gramas de alimento por quilo de peso vivo do animal.

2.5. Determinação de parâmetros imunológicos

No primeiro dia de experimento, foram coletadas amostras de sangue em tubos contendo EDTA para avaliação do hemograma completo. Nos dias 50 e 64 do experimento, os animais receberam a vacina Pneumodog[®] (Merial, Campinas, Brasil), seguindo o protocolo vacinal estabelecido pelo fabricante. Antes da primeira vacinação (50º dia), aos 57 (sete dias após a primeira dose da vacina) e aos 71 (sete dias após a segunda dose da vacina) dias de experimento, amostras de sangue foram coletadas para avaliação do hemograma completo e para a determinação das concentrações séricas de interferon gama (INF γ) e interleucina-4 (IL-4). Tanto a vacinação quanto a coleta de sangue foram sempre realizadas em animais em jejum, antes do fornecimento do alimento. Parte das amostras de sangue foi coletada em tubos de ensaio com EDTA e imediatamente encaminhada para o laboratório de análises clínicas comercial para realização do hemograma completo. A outra parte foi acondicionada em tubos de ensaio sem anticoagulante e centrifugada a 1000 g durante 15 minutos a 4 °C. O soro foi então pipetado e acondicionado em microtubos, que foram armazenados em *freezer* a -80 °C até a realização das análises. As concentrações séricas de INF γ e IL-4 foram determinadas por meio de ELISA do tipo sanduíche, utilizando *kits* comerciais (R&D Systems[®], Minneapolis, EUA).

2.6. Análise estatística

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk, homocedasticidade de variâncias pelo teste de Breusch Pagan e independência dos erros pelo teste de Durbin-Watson. Quando atendidas todas as condições ($P > 0,05$), a análise de variância (ANAVA) foi realizada e as

médias comparadas pelo teste F. Do contrário, análise não paramétrica foi realizada e as médias comparadas pelo teste Friedman. As concentrações séricas de glicose, colesterol total, HDL, LDL, VLDL e triacilgliceróis, bem como hemograma e leucograma, foram submetidas à análise de co-variância, sendo os valores de cada variável determinados antes do início do experimento assumidos como co-variável. Toda análise estatística foi realizada utilizando o pacote estatístico Action 3.1.

3. Resultados

3.1. Peso dos animais, consumo e características fecais

A variação de peso dos animais ao longo do experimento e o consumo de alimento pelos animais não foram influenciados ($P > 0,05$) pela suplementação dietética de beta-glucano (Figura 2). No entanto, a suplementação de beta-glucano aumentou ($P < 0,05$) a quantidade de fezes produzidas e diminuiu ($P < 0,05$) a consistência das fezes (Figura 3). Não houve efeito ($P > 0,05$) sobre o pH fecal.

3.2. Digestibilidade dos nutrientes

A suplementação de beta-glucano reduziu ($P < 0,05$) os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca, matéria orgânica, matéria mineral e lipídeos quando comparada à dieta controle. Não houve efeito ($P > 0,05$) da suplementação sobre a digestibilidade de proteína (Tabela 3).

3.3. Parâmetros sanguíneos

Não houve efeito ($P > 0,05$) da suplementação de beta-glucano sobre a glicemia e sobre as concentrações plasmáticas de PYY e grelina dos animais

(Figura 4). Entretanto, a suplementação reduziu ($P<0,05$) as concentrações séricas de colesterol total, LDL-c e VLDL-c (Figura 5).

Com relação ao hemograma e ao leucograma, a suplementação de beta-glucano não influenciou ($P>0,05$) os parâmetros relacionados a estes exames antes da vacinação dos animais (Tabelas 4 e 5). No entanto, sete dias após a segunda dose da vacina, observou-se aumento do número de hemácias, da concentração de hemoglobina e da porcentagem do hematócrito ($P<0,05$) nos animais que receberam a suplementação de beta-glucano. Não houve efeito ($P>0,05$) sobre as demais características do hemograma.

Adicionalmente, a suplementação de beta-glucano reduziu ($P<0,05$) as concentrações séricas de IL-4 sete dias após a primeira dose da vacina (Figura 6). O mesmo efeito não foi observado ($P>0,05$) após a administração da segunda dose da vacina. Não foram encontradas quantidades detectáveis de INF γ nas amostras de soro dos animais experimentais através da metodologia utilizada.

4. Discussão

Esse é o primeiro estudo a avaliar os efeitos da suplementação de beta-glucano extraído de aveia como suplemento dietético para cães. A dose testada foi próxima àquelas utilizadas para outros tipos de fibras funcionais em cães, como mananoligossacarídeo e frutoligossacarídeo⁽¹⁹⁾.

A redução dos coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca, matéria orgânica, matéria mineral e lipídeos propiciada pelo uso do beta-glucano é condizente com o fato de que tal substância, por ser considerada uma fibra solúvel⁽⁵⁾, aumenta a viscosidade do conteúdo do trato gastrointestinal e dificulta a ação de enzimas digestivas⁽²⁰⁾. Em cães, o efeito desse tipo de suplementação sobre a digestibilidade dos nutrientes tem sido pouco estudado. A utilização de uma preparação comercial de parede celular de levedura, um produto que, dentre

outros constituintes, apresenta beta-(1,3),(1,6)-glucano em sua composição, como suplemento dietético para cães, em quantidades variando de 0% a 0,65%, levou a uma resposta cúbica dos coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta e lipídeos⁽²¹⁾. Os menores coeficientes observados nesse estudo foram obtidos com 0,25% de suplementação. Adicionalmente, o consumo de dietas com níveis crescentes de polissacarídeos não amiláceos solúveis (11, 16 e 20g/kg), o que foi feito através de substituições cada vez maiores de trigo por cevada, um ingrediente rico em beta-(1,3),(1,4)-glucano, reduziu as digestibilidades de amido, gordura, proteína e energia em cães. No entanto, a adição de um complexo enzimático composto por xilanase, beta-glucanase e amilase às dietas reverteu esses efeitos⁽²²⁾. Tal observação é atribuída à ação das enzimas sobre arabinosilanos e beta-glucanos solúveis, formando polímeros menores com capacidade reduzida de aumentar a viscosidade da digesta no intestino delgado, permitindo que as enzimas digestivas tivessem maior acesso aos componentes dietéticos⁽²³⁾.

Essa redução da digestibilidade dos nutrientes resultou em maior produção fecal, com fezes de menor consistência quando comparadas ao grupo controle. Esse resultado está relacionado à maior quantidade de água nas fezes. Tais características podem ser consideradas indesejáveis, especialmente no caso de cães que vivem próximos aos seus proprietários⁽²⁴⁾. Entretanto, apesar da menor consistência fecal, os valores de escore fecal observados no presente estudo ainda estavam dentro da faixa considerada normal e desejável⁽¹⁷⁾. Uma menor consistência fecal também foi observada à medida em que os níveis de polissacarídeos não amiláceos solúveis aumentaram na dieta de cães⁽²²⁾. Essa observação foi atribuída ao fato de que a natureza viscosa dos polissacarídeos não amiláceos solúveis faz com que as moléculas retenham mais água na medida em que passam pelo trato gastrintestinal⁽²⁵⁾. Além disso, os produtos da fermentação, assim como as moléculas de carboidratos que escapam dos

processos fermentativos exercem um efeito osmótico, atraindo mais água para o lúmen intestinal, o que, conseqüentemente, reduz a consistência das fezes⁽²⁶⁾.

Embora tenha sido verificada redução da digestibilidade dos nutrientes, não houve diferenças na variação de peso dos animais ao longo do período experimental. Já em camundongos e ratos, a suplementação da dieta com beta-glucanos de cevada⁽⁸⁾ ou de aveia⁽²⁷⁾, respectivamente, resultou em perda de peso significativa, quando doses de 2% e 4% (cevada) ou 10% (aveia), consideradas maiores do que as avaliadas no presente estudo, foram utilizadas. Dessa forma, existe a necessidade de que estudos com maiores níveis de suplementação de beta-glucano em cães sejam realizados.

Em algumas espécies, como humanos, camundongos, suínos e frangos, estudos têm comprovado que a suplementação de dietas com beta-glucanos extraídos de cereais é capaz de reduzir a absorção de glicose, colesterol e lipídeos no trato gastrointestinal, contribuindo para a redução da glicemia^(6,28) e colesterolemia^(6,7,29). Tais resultados são atribuídos ao aumento da viscosidade do conteúdo luminal e à dificuldade de acesso de enzimas digestivas ao substrato alimentar. De fato, observou-se no presente estudo menor digestibilidade de lipídeos nos animais que receberam a dieta suplementada com beta-glucano. Esse resultado explica, em parte, as menores concentrações séricas de VLDL-c e LDL-c, bem como de colesterol total observadas nos animais. Além disso, o aumento da viscosidade do conteúdo intestinal também inibe a reabsorção de sais biliares na porção distal do íleo, aumentando a excreção fecal de colesterol^(30,31). De maneira semelhante, o consumo de uma dieta formulada à base de cevada, um ingrediente rico em beta-glucano, por frangos de corte resultou em menores concentrações de colesterol total e LDL-c em comparação ao consumo de uma dieta formulada à base de milho e farelo de soja⁽²⁹⁾.

Em suínos, a suplementação dietética com diferentes níveis de beta-glucano de aveia (0%, 3% e 6%) resultou em menor concentração de glicose na

circulação portal após o consumo do alimento⁽²⁸⁾. Da mesma forma, o consumo de bebidas suplementadas com 5g de beta-glucano de aveia por humanos resultou em menores valores de glicemia pós-prandial⁽⁶⁾. No entanto, no presente estudo, a concentração sanguínea de glicose dos animais não foi influenciada pela suplementação dietética com beta-glucano, indicando que a dose utilizada pode não ter sido suficiente para influenciar os processos digestivos e absorptivos da glicose nos animais.

Com relação à influência do uso de beta-glucano como suplemento dietético sobre a regulação do apetite, no presente estudo, não se observou diferenças nas concentrações plasmáticas de PYY e grelina entre os grupos experimentais, o que justifica, em parte, os resultados obtidos no teste de avaliação do consumo. Sabe-se que o PYY tem efeito anorexigênico⁽³²⁾, enquanto a grelina tem efeito orexigênico⁽³³⁾. Estudos realizados em humanos demonstraram que o consumo de beta-glucano de aveia resulta em aumento das concentrações plasmáticas de PYY⁽³⁴⁾, assim como o consumo de beta-glucano de cevada que, além de aumentar as concentrações de PYY, reduz as concentrações plasmáticas de grelina⁽³⁵⁾. O aumento do PYY no sangue pode ser devido a uma ação direta dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), produzidos a partir da fermentação microbiana no intestino grosso, sobre o receptor GPR43 presente nas células L da mucosa intestinal, responsáveis pela secreção desse hormônio^(30,36). No caso do presente estudo, a ausência de diferenças significativas na concentração sanguínea desses hormônios sugere que a dose de beta-glucano testada pode ter sido insuficiente para aumentar a produção de AGCC em cães. Além disso, a ausência de diferença entre os valores de pH fecal dos dois grupos experimentais pode ser um indicativo de que os processos fermentativos ocorreram de maneira semelhante no intestino grosso dos animais. Diferenças significativas entre as concentrações de PYY e grelina também não foram observadas em cães que receberam dietas compostas por fibras altamente

fermentáveis ou por fibras pouco fermentáveis⁽³⁷⁾. Os autores desse estudo também questionam se o contraste entre as duas dietas avaliadas foi suficiente para gerar diferenças relacionadas às concentrações sanguíneas desses hormônios.

O uso de beta-glucano como suplemento dietético por si só não influenciou o hemograma dos cães. No entanto, sete dias após a administração da segunda dose da vacina, observou-se aumento do número de hemácias, da porcentagem de hematócrito e da concentração de hemoglobina. Estudos em ratos e humanos indicam que dietas suplementadas com fibras fermentáveis aumentam a produção de ácido fólico pela microbiota intestinal^(38,39), sendo essa vitamina essencial para o amadurecimento de hemácias⁽⁴⁰⁾. Adicionalmente, alguns estudos em ratos demonstram que a suplementação de dietas com fibras fermentáveis resulta em aumento da absorção intestinal de ferro^(41,42), um mineral importante para a síntese de hemoglobina⁽⁴³⁾. Tal efeito pode ser explicado pela redução do pH intestinal em decorrência da fermentação microbiana, o que promove a conversão de íons férrico em íons ferroso, bem como pela proliferação de células epiteliais, aumentando a superfície de absorção intestinal⁽⁴⁴⁾. Entretanto, no presente estudo, o pH fecal não foi influenciado pela suplementação dietética de beta-glucano, indicando que os processos fermentativos, provavelmente, ocorreram de maneira semelhante nos animais dos dois grupos experimentais. Assim, mais estudos são necessários para tentar elucidar a relação existente entre a presença de fibras fermentáveis no trato gastrointestinal e a alteração de parâmetros hematológicos em cães.

Alguns estudos também demonstraram a influência dos beta-glucanos sobre o sistema imune^(45,46,47,48). Nesse sentido, a vacinação dos animais foi realizada com o intuito de se estabelecer uma forma de desafio para a resposta imune, possibilitando uma melhor avaliação da influência do beta-glucano sobre a resposta a esse desafio.

No presente trabalho, não houve influência do uso de beta-glucano como suplemento dietético sobre o leucograma de animais vacinados. De maneira semelhante, a suplementação da dieta de peixes com beta-(1,3),(1,6)-glucano não influenciou a contagem de células brancas total de animais vacinados em comparação aos animais que não receberam a suplementação⁽⁴⁹⁾. Já em suínos, a suplementação da dieta com beta-(1,3),(1,6)-glucano resultou em aumento da proliferação de linfócitos *in vitro* 14 dias após a vacinação⁽⁵⁰⁾. Um aumento na concentração de linfócitos também foi observado em um estudo *in vivo* com suínos desafiados com lipopolissacarídeo de *Escherichia coli* que receberam dieta suplementada com beta-(1,3),(1,6)-glucano⁽⁵¹⁾. No entanto, é importante destacar que nos três estudos citados utilizou-se um beta-glucano estruturalmente diferente do beta-glucano empregado no presente estudo, sendo que essas diferenças estruturais podem estar relacionadas a padrões distintos de modulação da resposta imune. Assim, nota-se que os resultados relacionados ao leucograma podem variar de acordo com a origem do beta-glucano utilizado e a espécie empregada no estudo. Adicionalmente, no presente estudo, todos os animais experimentais apresentaram números de leucócitos totais, neutrófilos, linfócitos, monócitos e eosinófilos dentro dos valores de referência para cães. Tais resultados evidenciam a ausência de uma forte resposta imune como resultado da suplementação dietética de beta-glucano.

O padrão observado com relação às concentrações séricas de IL-4 nos animais do presente estudo pode ser explicado pelo fato da vacina ter sido administrada pela via subcutânea, sendo que a administração de antígenos por essa via pode formar precipitados persistentes no local de aplicação, que se dissolvem de forma relativamente lenta⁽⁵³⁾. Essa liberação lenta de antígenos pode resultar em um processo de ativação crônica de linfócitos T, levando a uma maior produção de IL-4. De maneira mais específica, em situações normais, os linfócitos produzem pequenas quantidades de IL-4 no início da ativação celular.

Porém, à medida em que o estímulo persiste, a produção dessa citocina vai aumentando até que seja atingido o limite para que ocorra a polarização para uma resposta do tipo Th2, quando então a produção de IL-4 aumenta consideravelmente. Além disso, a predominância de uma resposta Th2 inibe o desenvolvimento de uma resposta Th1, caracterizada pela maior concentração de INF γ ⁽⁵⁴⁾. Provavelmente, por esse motivo, não foi possível detectar quantidades significativas de INF γ por meio do ensaio imunoenzimático realizado no presente estudo.

Entretanto, sete dias após a administração da primeira dose da vacina, houve redução da concentração de IL-4 no sangue dos animais que receberam a suplementação de beta-glucano. Esse resultado sugere que o beta-glucano utilizado seja capaz de inibir o desenvolvimento de uma resposta do tipo Th2. Embora no presente estudo quantidades detectáveis de INF γ e diferenças no leucograma não tenham sido observadas, os resultados relacionados às concentrações séricas de IL-4 podem ser considerados positivos em função do tipo de vacina administrada aos animais.

De maneira geral, de acordo com os resultados obtidos, sugere-se que o beta-glucano proveniente de aveia, utilizado como suplemento dietético, tenha efeitos benéficos também para cães, principalmente pela sua influência no metabolismo de lipídeos e provavelmente sobre a resposta imune dos animais frente à vacinação. No entanto, por se tratar de uma avaliação inicial, novos estudos são necessários para se verificar os efeitos de doses maiores de beta-glucano de modo a se estabelecer de maneira mais precisa a relação do beta-glucano de aveia com a saúde dos animais.

5. Conclusão

O beta-glucano proveniente de aveia pode ser utilizado como suplemento dietético para cães na dose de 10g/kg de alimento, sendo efetivo na redução das concentrações sanguíneas de colesterol, LDL e VLDL, bem como dos coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes, resultados que demonstram o potencial da utilização desse composto na alimentação de animais obesos. Além disso, ao reduzir a predominância de uma resposta do tipo Th2, o beta-glucano de aveia pode modular de maneira positiva a resposta vacinal dos animais.

Agradecimentos

Os autores agradecem à CAPES pelo financiamento do estudo e à equipe do Núcleo de Estudos em Nutrição de Animais de Companhia pelo auxílio ao longo de toda a condução do estudo.

Referências

1. Volman JJ, Ramakers J D, Plat J (2008) Dietary modulation of immune function by β -glucans. *Physiol & Behav***94**, 276-28.
2. Izydorczyk MS, Dexter JE (2008) Barley β -glucans and arabinoxylans: molecular structure, physicochemical properties, and uses in food products – a review. *Food Res Int***41**, 850-868.
3. Brennan CS, Cleary LJ (2005) The potential use of cereal (1 \rightarrow 3,1 \rightarrow 4)- β -D-glucans as functional food ingredients. *J Cereal Sci***42**, 1-13.

4. Lazaridou A, Biliaderis CG (2007) Molecular aspects of cereal β -glucan functionality: physical properties, technological applications and physiological effects. *J Cereal Sci***46**, 101-118.
5. Vasanthan T, Temelli F (2008) Grain fractionation technologies for cereal beta-glucan concentration. *Food Res Int***41**, 876-881.
6. Biorklund M, Van Rees A, Mensink RP, et al. (2005) Changes in serum lipids and postprandial glucose and insulin concentrations after consumption of beverages with β -glucans from oats or barley: a randomised dose-controlled trial. *Euro J Clin Nutr***59**, 1272-1281.
7. Bae IW, Lee S, Kim SM, et al. (2009) Effect of partially hydrolyzed oat β -glucan on the weight gain and lipid profile of mice. *Food Hydro***23**, 2016-2021.
8. Choi JS, Kim H, Jung MH, et al. (2010) Consumption of barley β -glucan ameliorates fatty liver and insulin resistance in mice fed a high-fat diet. *Mol Nutr Food Res***54**, 1004-1013.
9. German AJ (2006) The growing problem of obesity in dogs and cats. *J Nutr***136**, 1940S-1946S.
10. Beerda B, Schilder MBH, Van Hooff JARAM, et al. (1997) Manifestations of chronic and acute stress in dogs. *App Animal Behav Sci***52**, 307-319.
11. Li J, Li DF, Xing JJ, et al. (2006) Effects of β -glucan extracted from *Saccharomyces cerevisiae* on growth performance, and immunological and somatotrophic responses of pigs challenged with *Escherichia coli* lipopolysaccharide. *J Anim Sci* **84**, 2374-2381.
12. Stuyven E, Verdonck F, Van Hoek, I, et al. (2009) Oral administration of β -1,3/1,6-glucan to dogs temporally changes total and antigen-specific IgA and IgM. *Cli Vaccine Immunol***17**, 281-285.
13. Cox CM, Sumners LH, Kim S, et al. (2010) Immune responses to dietary β -glucan in broiler chicks during an *Eimeria* challenge. *Poultry Sci***89**, 2597-2607.

14. Goodridge HS, Wolf AJ, Underhill DM (2009) β -glucan recognition by the innate immune system. *Immunol Rev***230**, 38-50.
15. Chan GCF, Chan WK, Sze DMY (2009) The effects of β -glucan on human immune and cancer cells. *J Hematol & Oncol***2**, 1-11.
16. National Research Council - NRC (2006) *Nutrient requirements of dogs and cats*. Washington: The National Academies Press.
17. Swanson, KS, Grieshop, CM, Flickinger EA, et al. (2002) Fructooligosaccharides and *Lactobacillus acidophilus* modify gut microbial populations, total tract nutrient digestibilities and fecal protein catabolite concentrations in healthy adult dogs. *J Nutr***132**, 3721-3731.
18. Association of Official Analytical Chemists – AOAC (1995) *Official methods of analysis*. Washington, DC.
19. Swanson KS, Grieshop CM, Flickinger EA, et al. (2002) Effects of supplemental fructooligosaccharides plus mananoligosaccharides on immune function and ileal and fecal microbial populations in adult dogs. *Arch Anim Nutr***56**, 309-318.
20. O’Shea CJ, Sweeney T, Lynch MB, et al. (2011) The effect of introducing purified β -glucans to a wheat-based diet on total tract digestibility and gaseous manure emissions from pigs as compared with consumption of a β -glucan-rich, barley-based diet. *Anim Feed Sci Technol***165**, 95-104.
21. Middelbos IS, Godoy MR, Fastinger ND, et al. (2007) A dose response evaluation of a spray-dried yeast cell wall supplementation of diets fed to dogs: effects on nutrient digestibility, immune indices, and fecal microbial populations. *J Anim Sci***85**, 3022-3032.
22. Twomey LN, Pluske JR, Rowe JB, et al. (2003) The effects of increasing levels of soluble non-starch polysaccharides and inclusion of feed enzymes in dog diets on faecal quality and digestibility. *Anim Feed Sci Tech***108**, 71-82.

23. Choct M, Annison G (1992) Anti-nutritive effect of wheat pentosans in broiler chickens: roles of viscosity and gut microflora. *Br Poult Sci***33**, 821-834.
24. Grieshop CM, Flickinger EA, Fahey GC. (2002) Oral administration of arabinogalactan affects immune status and fecal microbial populations in dogs. *J Nutr***132**, 478-482.
25. Fahey GC, Merchenm NR, Corbin JE, et al. (1992) Dietary fiber for dogs. III: Effects of beet pulp and oat fibers additions to dog diets on nutrient intake, digestibility, metabolizable energy, and digesta mean retention time. *J Anim Sci***70**, 1169-1174.
26. Vernia P, Gnaedinger A, Hauck W, et al. (1988) Organic anions and the diarrhea of inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci***33**, 1353-1358.
27. Adam CL, Williams PA, Dalby MJ, et al. (2014) Different types of soluble fermentable dietary fibre decrease food intake, body weight gain and adiposity in young adult male rats. *Nutr & Metab***11**, 1-12.
28. Hooda, S, Matte JJ, Vasanthan T, et al. (2010) Dietary oat β -glucan reduces peak net glucose flux and insulin production and modulates plasma incretin in portal-vein catheterized grower pigs. *J Nutr***140**, 1564-1569.
29. Wang L, Newman RK, Newman CW et al. (1992) Barley β -glucans alter intestinal viscosity and reduce plasma cholesterol concentrations in chicks. *J Nutr***122**, 2292-2297.
30. El Khoury D, Cuda C, Luhovyy BL, et al. (2012) Beta glucan: health benefits in obesity and metabolic syndrome. *J Nutr Metabol*, 1-28.
31. Goel V, Cheema SK, Agellon LB, et al. (1999) Dietary rhubarb (*Rheum rhaponticum*) stalk fibre stimulates cholesterol 7α -hydroxylase gene expression and bile acid excretion in cholesterol-fed C57Bl/CJ mice. *Br J Nutr***81**, 65-71.
32. Batterham RL, Cowley MA, Small CJ, et al. (2002) Gut hormone PYY₃₋₃₆ physiologically inhibits food intake. *Nature***418**, 650-654.

33. Valassi E, Scacchi M, Cavagnini F (2008) Neuroendocrine control of food intake. *Nutr Metabol Cardiovasc Dis***18**, 158-168.
34. Beck EJ, Tosh SM, Batterham MJ, et al. (2009) Oat beta-glucan increases post-prandial cholecystochinin levels, decreases insulin response and extends subjective satiety in overweight subjects. *Mol Nutr Food Res* **53**, 1343-1351.
35. Vitaglione P, Lumaga RB, Stanzione A, et al. (2009) β -glucan-enriched bread reduces energy intake and modifies plasma ghrelin and peptide YY concentrations in the short term. *Appetite***53**, 338-344.
36. Karaki S, Mitsui R, Hayashi H, et al. Short-chain fatty acid receptor, GPR43, is expressed by enteroendocrine cells and mucosal mast cells in rat intestine. *Cell Tissue Res***324**, 353-360.
37. Bosch G, Verbrugghe A, Hesta M, et al. (2009) The effect of dietary fibre type on satiety-related hormones and voluntary food intake in dogs. *Br J Nutr***102**, 318-325.
38. Keagy PM, Oace SM (1984) Folic acid utilization from higher fiber diets in rats. *J Nutr***114**, 1252-1259.
39. Houghton LA, Green TJ, Donovan UM, et al. (1997) Association between dietary fiber intake and the folate status of a group of female adolescents. *Am J Clin Nutr***66**, 1414-1421.
40. Barros MM, Ranzani-Paiva MJT, Pezzato LE, ET al. (2009) Haematological response and growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fed diets containing folic acid. *Aqua Res***40**, 895-903.
41. Shiga K, Hara H, Okano G. (2003) Ingestion of water-soluble soybean fiber prevents gastrectomy-induced iron malabsorption, anemia and impairment of voluntary running exercise performance in rats. *J Nutr***133**, 1120-1126.
42. Freitas KC, Amancio OMS, Novo NF, et al. (2006) Partially hydrolyzed guar gum increases intestinal absorption of iron in growing rats with iron deficiency anemia. *Clin Nutr***25**, 851-858.

43. Vaisman B, Fibach E, Konijn AM. (1997) Utilization of intracellular ferritin iron for hemoglobin synthesis in developing human erythroid precursors. *Blood***90**, 831-838.
44. Yeung CK, Glahn RP, Welch RM, et al. (2006) Prebiotics and iron bioavailability – is there a connection? *J Food Sci***70**, R88-R92.
45. Estrada A, Yun CH, Van Kessel A, et al. (1997) Immunomodulatory activities of oat β -glucan *in vitro* and *in vivo*. *Microbiol Immunol***41**, 991-998
46. Li B, Cramer D, Wagner S, et al. (2007) Yeast glucan particles activate murine resident macrophages to secrete proinflammatory cytokines via MyD88- and Syk kinase-dependent pathways. *Clin Immunol***124**, 170-181.
47. Zhang B, Guo Y, Wang Z (2008) The modulating effect of β -1, 3/1, 6-glucan supplementation in the diet on performance and immunological responses of broiler chickens. *Asian-Aust J Anim Sci***21**, 237-244.
48. Li J, Li DF, Xing JJ, et al. (2006) Effects of β -glucan extracted from *Saccharomyces cerevisiae* on growth performance, and immunological and somatotropic responses of pigs challenged with *Escherichia coli* lipopolysaccharide. *J Anim Sci***84**, 2374-2381.
49. Baulny MO, Quentel C, Fournier V, et al. (1996) Effect of long-term oral administration of β -glucan as an immunostimulant or an adjuvant on some non-specific parameters of the immune response of turbot *Scophthalmus maximus*. *Dis Aqua Org***26**, 139-147.
50. Wang Z, Shao Y, Guo Y, et al. (2008). Enhancement of peripheral blood CD8⁺ T cells and classical swine fever antibodies by dietary β -1,3/1,6-glucan supplementation in weaned piglets. *Transb Emerg Dis***55**, 369-376.
51. Zhou TX, Jung JH, Zhang ZK, et al. (2013) Effect of dietary β -glucan on growth performance, fecal microbial shedding and immunological responses after lipopolysaccharide challenge in weaned piglets. *Anim Feed Sci Tech***179**,85-92.

52. Proietti E, Bracci L, Puzelli S, et al. (2002) Type I interferon as a natural adjuvant for a protective immune response: lessons from the influenza vaccine model. *J Immunol* **169**, 375-383.
53. Denis F, Alain S, Ploy MC (2007) Novel routes of vaccine administration. *Med Sci* **23**, 379-385.
54. Abbas AK, Murphy KM, Sher A (1996) Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature* **383**, 787-793.

Tabela1. Composição química do alimento comercial utilizado*

Item	Inclusão (g/kg)
Umidade (máx.)	100,0
Proteína bruta (mín.)	220,0
Extrato etéreo (mín.)	100,0
Matéria fibrosa (máx.)	30,0
Matéria mineral (máx.)	90,0
Cálcio (mín., máx.)	10,0-20,0
Fósforo (mín., máx.)	8,0-12,0
Potássio (mín.)	5,0
Sódio (mín.)	2,0
Lisina (mín.)	8,0
Ômega 3 (mín.)	3,0
Ômega 6 (mín.)	24,0
Hexametáfosfato de sódio (mín.)	3,0
Zinco quelatado (mín.)	0,05

*Alimento seco extrusado destinado à alimentação de cães adultos.

Composição em ingredientes: mescla de carnes frescas (carne bovina, miúdos bovinos e suínos) (mín. 5%), farinha de carne e ossos bovina, farinha de vísceras de frango, hidrolisado de fígado de frango e suíno, arroz quebrado, milho integral moído, sementes de linhaça, gordura animal estabilizada, farelo de trigo, cloreto de sódio (sal comum), hexametáfosfato de sódio, cloreto de potássio, cloreto de colina, L-lisina, extrato de

yucca, probiótico, antioxidantes (BHA/BHT), vitaminas (A, B1, B12, B2, B6, D3, E, K3, ácido fólico, ácido pantotênico, biotina e niacina) e minerais (zinco aminoácido quelato, iodato de cálcio, selenito de sódio, sulfato de cobre, sulfato de manganês, sulfato de zinco e sulfato de ferro).

Tabela 2. Composição química analisada do alimento comercial suplementado ou não com beta-glucano (BG) e da preparação comercial de BG utilizada, com base na matéria seca

Item	Variável (g/kg, com base na matéria seca)			
	Matéria seca	Matéria orgânica	Proteína Bruta	Extrato etéreo
Alimento controle	934,4	970,4	250,3	134,3
Alimento suplementado	938,2	978,7	250,7	128,1
Preparação comercial de BG	942,6	948,0	34,8	15,9

Tabela 3. Coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) dos nutrientes (\pm erro padrão da média) de dietas para cães com ou sem suplementação de beta-glucano (BG)*

CDA (%)	Com BG	Sem BG	P=
Matéria seca	78,4 \pm 0,9	83,0 \pm 1,4	0,05
Matéria orgânica	82,6 \pm 0,8	86,4 \pm 1,0	0,04
Matéria mineral	24,1 \pm 0,8	41,7 \pm 1,3	0,04
Proteína bruta	81,7 \pm 1,0	85,4 \pm 0,6	0,07
Lipídeos	88,9 \pm 3,2	93,1 \pm 4,6	0,01

* Significativo ao teste F (P<0,05).

Tabela 4. Hemograma (\pm erro padrão da média) de cães recebendo dieta com ou sem suplementadas de beta-glucano (BG) avaliado antes e após o início do programa de vacinação *

Variável	Tempo	Com BG	Sem BG	P=
Hemácias (milhões/mm ³)†	Antes da vacina	7,61 \pm 0,23	7,24 \pm 0,29	0,17
	7 dias após a 1 ^a dose	7,81 \pm 0,19	7,43 \pm 0,25	0,09
	7 dias após a 2 ^a dose	7,81 \pm 0,22	7,22 \pm 0,29	0,02
Hemoglobina (g/dL)†	Antes da vacina	17,67 \pm 0,65	16,73 \pm 0,79	0,16
	7 dias após a 1 ^a dose	17,74 \pm 0,38	16,90 \pm 0,62	0,10
	7 dias após a 2 ^a dose	17,73 \pm 0,46	16,41 \pm 0,73	0,05
Hematócrito (%)†	Antes da vacina	49,87 \pm 1,70	47,26 \pm 2,06	0,11
	7 dias após a 1 ^a dose	49,81 \pm 1,13	47,61 \pm 1,78	0,10
	7 dias após a 2 ^a dose	50,23 \pm 1,14	46,37 \pm 2,08	0,04
V.C.M. (fL)	Antes da vacina	65,49 \pm 0,93	65,17 \pm 0,59	0,65
	7 dias após a 1 ^a dose	63,83 \pm 0,90	64,00 \pm 0,67	0,76
	7 dias após a 2 ^a dose	64,39 \pm 0,93	64,11 \pm 0,63	0,59
H.C.M. (pg)	Antes da vacina	23,14 \pm 0,41	23,01 \pm 0,22	0,70
	7 dias após a 1 ^a dose	22,71 \pm 0,36	22,69 \pm 0,19	0,79
	7 dias após a 2 ^a dose	22,69 \pm 0,36	22,67 \pm 0,17	0,93
C.H.C.M. (%)	Antes da vacina	35,36 \pm 0,15	35,33 \pm 0,20	0,90
	7 dias após a 1 ^a dose	35,59 \pm 0,13	35,46 \pm 0,17	0,54
	7 dias após a 2 ^a dose	35,23 \pm 0,19	35,36 \pm 0,14	0,47
RDW (%)	Antes da vacina	13,39 \pm 0,24	12,17 \pm 0,34	0,14
	7 dias após a 1 ^a dose	12,30 \pm 0,46	11,66 \pm 0,32	0,14
	7 dias após a 2 ^a dose	12,59 \pm 0,55	11,50 \pm 0,38	0,17
Plaquetas (mil/mm ³)	Antes da vacina	335,4 \pm 24,95	312,3 \pm 19,23	0,60
	7 dias após a 1 ^a dose	361,7 \pm 27,79	369,4 \pm 29,99	0,75
	7 dias após a 2 ^a dose	362,4 \pm 30,53	359,9 \pm 51,37	0,96

V.C.M., volume corpuscular médio; H.C.M., hemoglobina corpuscular média; C.H.C.M., concentração de hemoglobina corpuscular média; RDW, amplitude de distribuição dos glóbulos vermelhos (*red cell distribution width*).

* Pneumodog® em duas doses aplicadas com intervalo de 14 dias.

† Significativo ao teste F (P<0,05).

Tabela 5. Leucograma (\pm erro padrão da média) de cães recebendo dieta com ou sem suplementação de beta-glucano (BG) avaliado antes e após o início do programa de vacinação *

Variável	Tempo	Com BG	Sem BG	P=
Leucócitos totais (mil/mm ³) [†]	Antes da vacina	8,20 \pm 0,58	8,51 \pm 0,30	0,46
	7 dias após a 1 ^a dose	8,53 \pm 0,67	7,81 \pm 0,43	0,34
	7 dias após a 2 ^a dose	9,27 \pm 0,80	9,14 \pm 0,96	0,90
Segmentados (%) [†]	Antes da vacina	70,43 \pm 2,80	69,14 \pm 3,97	0,62
	7 dias após a 1 ^a dose	72,71 \pm 2,35	70,57 \pm 3,72	0,50
	7 dias após a 2 ^a dose	69,00 \pm 3,10	66,43 \pm 4,36	0,27
Linfócitos (%) [†]	Antes da vacina	24,29 \pm 3,36	25,86 \pm 3,60	0,43
	7 dias após a 1 ^a dose	22,43 \pm 2,70	25,29 \pm 3,20	0,32
	7 dias após a 2 ^a dose	25,14 \pm 3,40	27,86 \pm 4,04	0,31
Monócitos (%) [‡]	Antes da vacina	2,00 \pm 0,22	2,14 \pm 0,46	0,71
	7 dias após a 1 ^a dose	2,29 \pm 0,68	2,00 \pm 0,53	0,20
	7 dias após a 2 ^a dose	1,71 \pm 0,30	1,71 \pm 0,18	0,99
Eosinófilos (%) [‡]	Antes da vacina	3,29 \pm 0,78	2,57 \pm 0,37	0,71
	7 dias após a 1 ^a dose	2,29 \pm 0,68	1,57 \pm 0,95	0,67
	7 dias após a 2 ^a dose	3,00 \pm 0,50	2,43 \pm 0,72	0,41

EPM, erro padrão da média.

* Pneumodog® em duas doses aplicadas com intervalo de 14 dias.

[†] Valores de significância segundo o teste F (P<0,05).

[‡] Valores de significância segundo o teste Friedman (P<0,05).

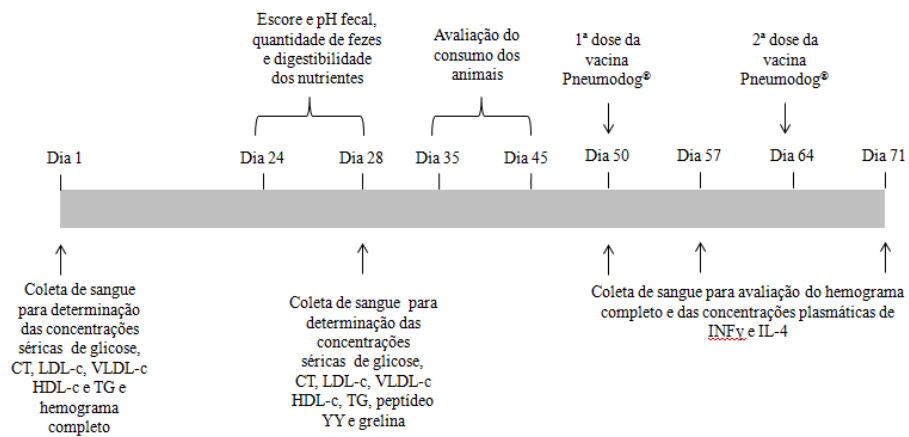


Figura 1. Fluxograma do experimento. CT: colesterol total, LDL: lipoproteína de baixa densidade, VLDL: lipoproteína de densidade muito baixa, HDL: lipoproteína de alta densidade, TG: triacilgliceróis, INF γ : interferon γ , IL-4: interleucina-4.

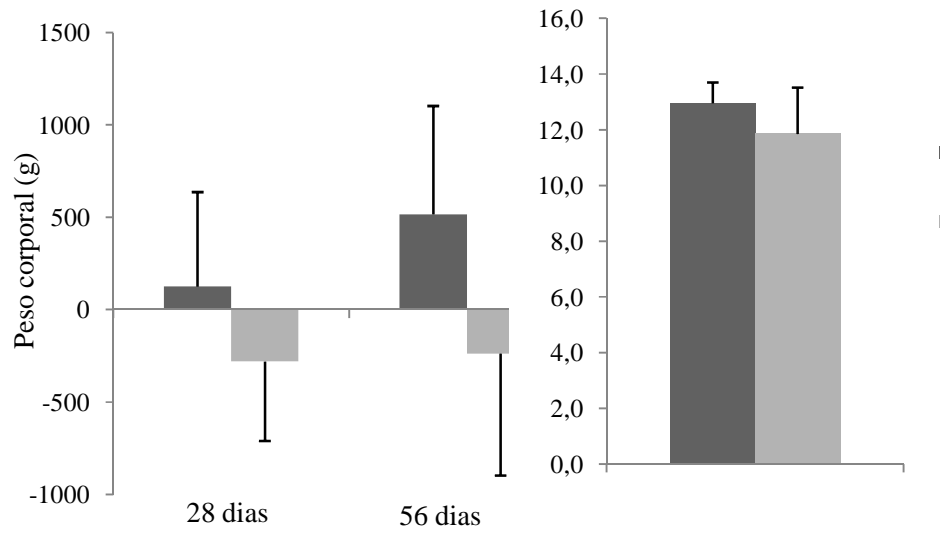


Figura 2. Variação do peso corporal, aos 28 e aos 71 dias de experimento e avaliação do consumo de alimento (g/kg de peso vivo), realizada entre os dias 35 e 45 de experimento, de cães recebendo dieta com ou sem suplementação de beta-glucano (BG). Valores não significativos ao teste Friedman ($P>0,05$).

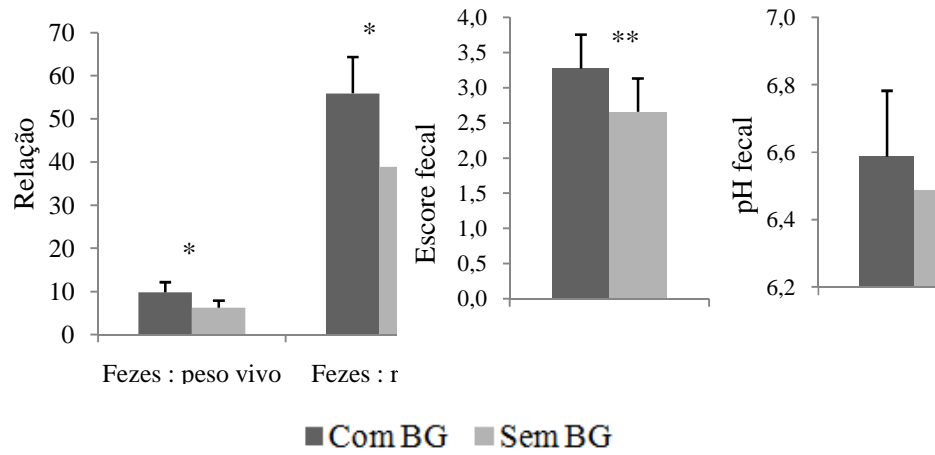


Figura 3. Características fecais de cães entre os dias 24 e 28 de experimento, recebendo dietas com ou sem suplementação de beta-glucano (BG). *Médias diferem pelo teste F ($P=0,05$). **Médias diferem pelo teste Friedman ($P=0,05$).

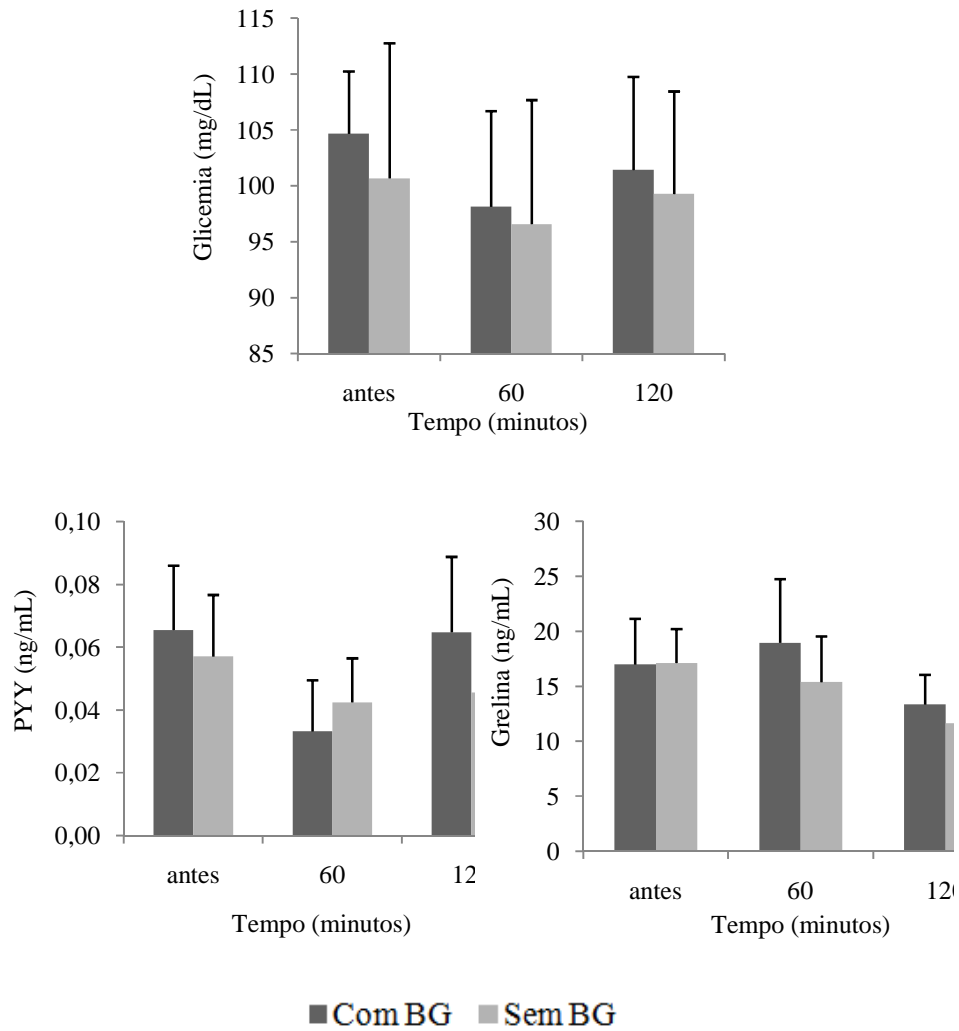


Figura 4. Glicemia, peptídeo YY (PYY) e grelina em cães recebendo dietas com ou sem suplementação de beta-glucano (BG). Valores mensurados antes e após o fornecimento das dietas. * Não houve diferenças estatísticas pelo teste Friedman ($P < 0,05$).

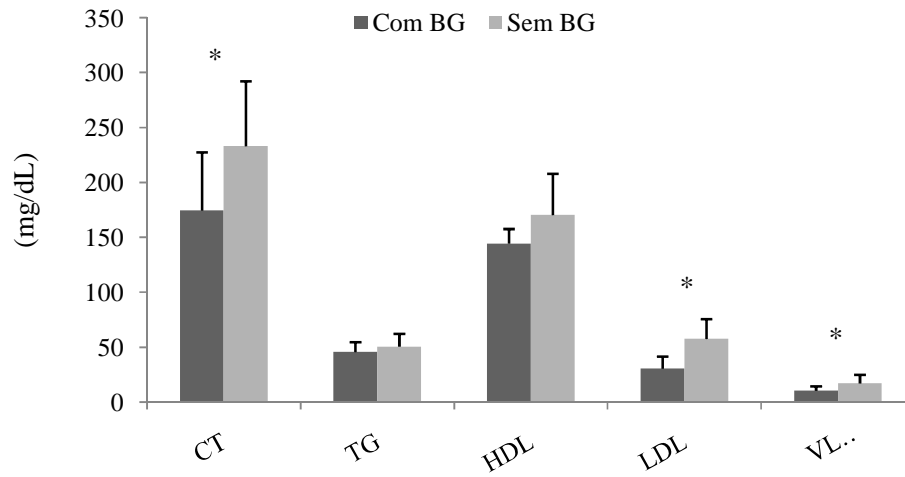


Figura 5. Frações lipídicas em jejum no plasma de cães recebendo dietas com ou sem suplementação de beta-glucano (BG) por 28 dias. * Médias diferem pelo teste F ($P < 0,05$). CT: Colesterol total; TG: Triacilgliceróis; HDL-c: Colesterol em lipoproteína de densidade alta; LDL-c: Colesterol em lipoproteína de densidade baixa; VLDL-c: Colesterol em lipoproteína de densidade muito baixa.

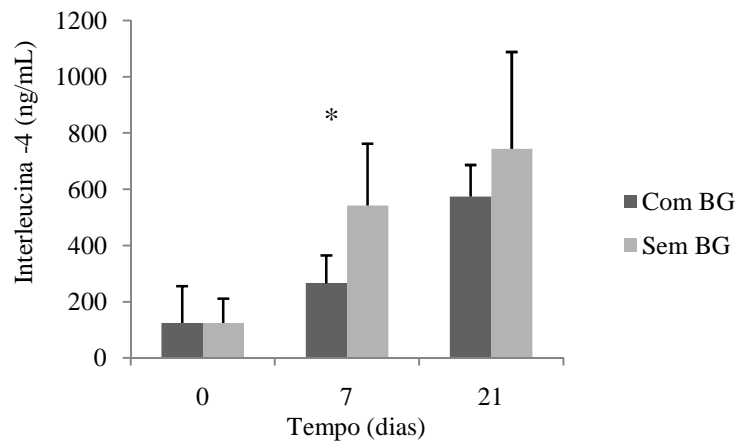


Figura 6. Concentrações séricas de interleucina-4 de cães recebendo dietas com ou sem suplementação de beta-glucano (BG) avaliado antes e depois do início do programa de vacinação com Pneumodog® com duas doses em intervalos de 14 dias. *Médias diferem pelo teste Friedman ($P < 0,05$).

