

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL

AÇÃO IMUNOMODULATÓRIA DA β - GLUCANA E
Saccharomyces cerevisiae* EM RATOS (*Rattus
***rattus*) DA LINHAGEM WISTAR**
IMUNOSSUPRIMIDOS PELA ADMINISTRAÇÃO
EXPERIMENTAL DE DEXAMETASONA.

Lorena Karine Soares
Médica Veterinária

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE JABOTICABAL

**AÇÃO IMUNOMODULATÓRIA DA β - GLUCANA E
Saccharomyces cerevisiae EM RATOS (*Rattus rattus*) DA
LINHAGEM WISTAR IMUNOSSUPRIMIDOS PELA
ADMINISTRAÇÃO EXPERIMENTAL DE DEXAMETASONA.**

Lorena Karine Soares

Orientador: Prof. Dr. Áureo Evangelista Santana

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias- - UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Patologia Animal.

S676a Soares, Lorena Karine
Ação imunomodulatória da β - glucana e *Saccharomyces cerevisiae*
em ratos (*Rattus rattus*) da linhagem wistar imunossuprimidos pela
administração experimental de dexametasona / Lorena Karine Soares.
-- Jaboticabal, 2013
x, 78 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2013
Orientador: Aureo Evangelista Santana
Banca examinadora: Sabryna Gouveia Calazans, Márcia Ferreira
da Rosa Sobreira
Bibliografia

1. Imunidade. 2. Leveduras. 3. Glucana. I. Título. II. Jaboticabal-
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:616-02:636.932.4

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da
Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de
Jaboticabal.
e-mail: arnold@cnpso.embrapa.br

A autora Lorena Karine Soares, nasceu em 27 de Outubro de 1984, em São Miguel do Araguaia – Goiás. Iniciou o curso de Medicina Veterinária na Universidade Federal de Goiás, no ano de 2004. Posteriormente como bolsista voluntária na área de Medicina Veterinária, com ênfase em Doenças Parasitárias de Animais, porém fez parte da equipe do Setor de Cirurgia da Escola de Veterinária- EV UFG, atuando como bolsista de iniciação científica - PIBIC/ CNPq da Universidade Federal de Goiás. Principalmente nas linhas de pesquisa do aparelho locomotor, anestesiologia de pequenos animais e a área de cirurgia experimental. Fez Residência Médica Veterinária em Clínica e cirurgia de pequenos animais, na Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás e atualmente é aluna do Programa de Pós-Graduação nível mestrado na Universidade Estadual Paulista- Julio de Mesquita Filho- UNESP, campus Jaboticabal, atuando principalmente na área de Oncologia clínica e Clínica Médica de Pequenos Animais. Fez parte da rotina do laboratório de Patologia Animal- UFPR em Curitiba, área complementar aos estudos envolvidos na linha de pesquisa do curso de Mestrado. Atua como Médica Veterinária no Hospital Veterinário CLINIVET- Curitiba – Paraná no atendimento diário do hospital como membro permanente do corpo clínico.

“É exatamente disso que a vida é feita, de momentos. Momentos que temos que passar, sendo bons ou ruins, para o nosso próprio aprendizado. Nunca se esquecendo do mais importante: Nada nessa vida é por acaso. Absolutamente nada. Por isso, temos que nos preocupar em fazer a nossa parte, da melhor forma possível. A vida nem sempre segue a nossa vontade, mas ela é perfeita naquilo que tem ser.”

“Francisco de Paula Candido Xavier”

Dedicatória

Dedico este trabalho a minha família pelo apoio e compreensão, por acreditarem em mim.

A equipe do Laboratório de Patologia Animal da Universidade Federal do Paraná pelo apoio.

Ao meu companheiro Antônio Bacila.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela minha família que sempre me apoio, em todo esse percurso, nos momentos de maior angústia estavam sempre ao meu lado.

A minha mãe pelo amor incondicional. A Laurine Lacerda Pigosso, irmã, amiga e orientadora sempre. A todos meus familiares de longe, mas sempre me protegendo com pensamentos positivos.

Minha Maria Eduarda luz divina, alegria da nossa família.

Ao meu companheiro, Antônio Roberto Fiani Bacila, que mesmo diante de todas as dificuldades esteve do início ao fim desta jornada comigo, por todo apoio oferecido independente das circunstâncias e pelo amor.

Ao meus companheiros de trabalho no Laboratório de Patologia Animal- Universidade Federal do Paraná- ao Professor Renato Silva Sousa, Lourival, Natalia, Jeferson apoio gratuito e solidário em todos os momentos deste trabalho.

Aos meus amigos que estiveram ao meu lado em diversos momentos alegres e angustiantes, Raquel, Juliano, Cristina e José.

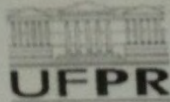
A minha amiga companheira de mestrado Ana Livia pelo carinho e apoio e na lembrança Silvana.

Aos meus queridos companheiros de trabalhos do Hospital Veterinário – Clinivet, em especial Luiz, Denise, Rodrigo, Gisele e Ana Carolina obrigada pela cumplicidade nesses dois anos, a amizade construída e satisfação de aprender com vocês todos os dias.

Ao meu orientador Professor Áureo Evangelista Santana, sua equipe de Laboratório Eugênio e Matheus por terem me acolhido nesse período e auxiliado.

SÚMARIO

	Pagina
1	INTRODUÇÃO.....1
2	REVISÃO DE LITERATURA.....2
	2.2 Hipoplasia Medular Quimicamente Induzida.....2
	2.3 <i>Sacharomyces Cerevisae</i> / β - Glucana.....3
3	OBJETIVO.....8
4	MATERIAL E MÉTODOS.....9
	4.2 Parcelas Experimentais.....9
	4.3 Protocolo de Imunossupressão.....9
	4.4 Uso do <i>Sacharomyces Cerevisae</i> / β - Glucana.....10
	4.5 Colheita de Sangue.....11
	4.6 Análises laboratoriais.....13
	4.6.1 Análises hematológicas.....13
	4.6.2 Análises Bioquímicas: Alanina aminotransferase, fosfatase alcalina, creatinina e uréia.....13
	4.6.3 Fracionamento Eletroforético.....14
	4.7 Análises estatística.....16
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....17
	5.7 Análises Eritrograma e Leucograma.....17
	5.8 Análises Bioquímicas: Alanina aminotransferase, fosfatase alcalina, creatinina e uréia.....27
	5.9 Fracionamento Eletroforético.....33
6	CONCLUSÃO.....55
7	REFERENCIAS (ABNT 6023).....56



Universidade Federal do Paraná
Setor de Ciências Agrárias
Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA SCA

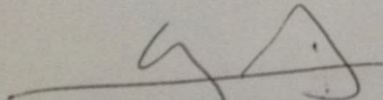
CERTIFICADO

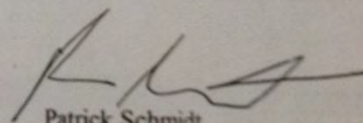
Certificamos que o protocolo no. 005/2011, referente ao projeto "Ação imunomodulatória de Beta-glucana e *Saccharomyces cerevisiae* em ratos (*Rattus rattus*) da linhagem wister com hipoplasia medular induzida após administração de Sulfato de Vincristina (Oncovin®)", sob a responsabilidade de Renato Silva de Sousa, na forma que foi apresentado, foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias, em reunião realizada dia 29 de abril de 2011. Este certificado expira em 29 de abril de 2012.

CERTIFICATE

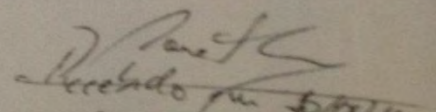
We certify that the protocol number 005/2011, regarding the project "", in charge of Renato Silva de Sousa, in the terms it was presented, was approved by the Animal Use Ethics Committee of the Agricultural Sciences Campus of the Universidade Federal do Paraná (Federal University of the State of Paraná, Southern Brazil) during session on April, 1 2011. This certificate expires on April, 2012.

Curitiba, 29 de abril de 2011.


Geraldo Camilo Alberton
Presidente


Patrick Schmidt
Vice-Presidente

Comissão de Ética no Uso de Animais
Setor de Ciências Agrárias
Universidade Federal do Paraná.


Recebido em 15/05/11
Renato Silva de Sousa

ÍNDICE DE FÍGURAS

- FIGURA 1:** Comportamento dos valores médios obtidos para leucócitos, neutrófilos, bastonetes e linfócitos em Ratos para os grupos, Controle, Beta-glucana e Sacharomyces em diferentes momentos do protocolo experimental. Jaboticabal, 2012.....24
- FIGURA 2:** Comportamento dos valores médios obtidos para ALT, FA, Uréia e Creatinina em Ratos dos grupos Controle, Beta-glucana e Sacharomyces em diferentes momentos do protocolo experimental. Jaboticabal, 2012.....32
- FIGURA 3:** Comportamento dos valores médios obtidos para Proteína Total em Ratos dos grupos Controle, Beta-glucana e Sacharomyces em diferentes momentos do protocolo experimental. Jaboticabal, 2012.....34
- FIGURA 4:** : Comportamento dos valores médios obtidos para Transferrina em Ratos dos grupos Controle, Beta-glucana e Sacharomyces em diferentes momentos do protocolo experimental. Jaboticabal, 2012.....39
- FIGURA 5:** Comportamento dos valores médios obtidos para Ceruloplasmina em Ratos dos grupos Controle, Beta-glucana e Sacharomyces em diferentes momentos do protocolo experimental. Jaboticabal, 2012.....41
- FIGURA 6:** Comportamento dos valores médios obtidos para Haptoglobina em Ratos dos grupos Controle, Beta-glucana e Sacharomyces em diferentes momentos do protocolo experimental. Jaboticabal, 2012.....43
- FIGURA 7:** Comportamento dos valores médios obtidos para α -1 Glicina em Ratos dos grupos Controle, Beta-glucana e Sacharomyces em diferentes momentos do protocolo experimental. Jaboticabal, 2012.....45
- FIGURA 8:** Comportamento dos valores médios obtidos para Imunoglobulina A (IgA) em Ratos dos grupos Controle, Beta-glucana e Sacharomyces em

diferentes momentos do protocolo experimental. Jaboticabal, 2012.....47

FIGURA 9: Comportamento dos valores médios obtidos para Imunoglobulina G cadeia Leve em Ratos dos grupos Controle, Beta-glucana e Sacharomyces em diferentes momentos do protocolo experimental. Jaboticabal, 2012.....50

FIGURA 10: Comportamento dos valores médios obtidos para Imunoglobulina G cadeia Leve em Ratos dos grupos Controle, Beta-glucana e Sacharomyces em diferentes momentos do protocolo experimental. Jaboticabal, 2012.....53

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1- Valores médios obtidos para Hemograma completo (células/ μ L) dos Ratos Linhagem Wistar para os diferentes grupos, Grupo Controle (S), Beta-Glucana (SG) e Sacharomyces (SS) Jaboticabal, 2012.....	18
TABELA 2- Comparação dos momentos M0 e M4 entre M2, M3 e M4 para variável Leucócitos. Jaboticabal, 2012.....	20
TABELA 3- Comparação dos momentos M0 e M4 entre M2, M3 e M4 para variável Neutrófilos (NT). Jaboticabal, 2012.....	23
TABELA 4- Comparação dos momentos M0 e M4 entre M2, M3 e M4 para variável Linfócitos. Jaboticabal, 2012.....	25
TABELA 5- Comparação entre os diferentes grupos e os momentos de avaliação para a variável NS, Jaboticabal, 2012.....	27
TABELA 6- Tabela 5: Comparação entre os diferentes grupos e os momentos de avaliação para a variável Linfócitos, Jaboticabal, 2012.....	27
TABELA 7: Valores médios obtidos para as análises bioquímicas de todos os grupos e em diferentes momentos, Jaboticabal, 2012.....	28
TABELA 8: Comparação dos momentos M1 e M4 entre M2 para variável Alanina Aminotransferase (ALT). Jaboticabal, 2012.....	28
TABELA 9: Comparação dos momentos M1 e M4 entre M2 para variável Fosfatase Alcalina (FA). Jaboticabal, 2012.....	29
TABELA 10: Comparação entre os diferentes grupos e os momentos de avaliação para a variável Fosfatase Alcalina, Jaboticabal, 2012.....	29
TABELA 11: Comparação entre os diferentes grupos e os momentos de avaliação para a variável creatinina, Jaboticabal, 2012.....	30

TABELA 12: Comparação entre os diferentes grupos e os momentos de avaliação para a variável Uréia, Jaboticabal, 2012.....	32
TABELA 13: Comparação dos momentos M1 e M4 entre M2 e M3 para variável Proteína total (PT). Jaboticabal, 2012.....	34
TABELA 14: Valores médios obtidos para a análise Proteínograma sérico de todos os grupos e em diferentes momentos, Jaboticabal, 2012.	36
TABELA 15: Comparação dos momentos M1 e M4 entre M2 e M3 para variável Albumina. Jaboticabal, 2012.....	37
TABELA 16: Comparação dos momentos M1 e M4 entre M2 e M3 para variável Transferrina. Jaboticabal, 2012.....	38
TABELA 17: Comparação dos momentos M1 e M4 entre M2 e M3 para variável Ceruloplasmina . Jaboticabal, 2012.....	40
TABELA 18: Comparação entre os diferentes grupos e os momentos de avaliação para a variável Ceruloplasmina, Jaboticabal, 2012.....	41
TABELA 19: Comparação entre os diferentes grupos e os momentos de avaliação para a variável Haptoglobina, Jaboticabal, 2012.....	43
TABELA 20: Comparação entre os diferentes grupos e os momentos de avaliação para a variável α - 1 Glicina, Jaboticabal, 2012.....	46
TABELA 21: Comparação dos momentos M1 e M4 entre M2 e M3 para variável Imunoglobulina A. Jaboticabal, 2012.....	49
TABELA 22: Comparação entre os diferentes grupos e os momentos de avaliação para a variável IgA, Jaboticabal, 2012.....	49
TABELA 23: Comparação entre os diferentes grupos e os momentos de avaliação para a variável IgG- cadeia leve, Jaboticabal, 2012.....	53

LISTA DE ABREVIações

ALT- alanina aminotransferase

CEUA- Aprovação comitê de Ética

CHCM- concentração de hemoglobina corpuscular média

CP- ceruloplasmina

CR3- Receptor do Sistema Complemento 3

FA- fosfatase alcalina

GPA- alfa-1 glicoproteína ácida

Hp- haptoglobina

MCP-1 Proteína Quimiotática de Monócitos-1

MO- Medula Óssea

MOS- mananoligossacarídeos

MRI- modificadores da resposta imune

NK- natural killer

PAMPs – Padrões Moleculares Associados aos Patógenos

S- animais sem suplementação

SDS-PAGE- gel de poliacrilamida contendo dodecilsulfato de sódio

SG- animais suplementados com 1,3-1,6 β -Glucana

SS- animais suplementados com *Saccharomyces cerevisiae*

VCM- volume corpuscular médio

VG- volume globular

AÇÃO IMUNOMODULATÓRIA DA β - GLUCANA E *Saccharomyces cerevisiae* EM RATOS (*Rattus rattus*) DA LINHAGEM WISTAR IMUNOSSUPRIMIDOS PELA ADMINISTRAÇÃO EXPERIMENTAL DE DEXAMETASONA.

RESUMO-

Na tentativa de minimizar os possíveis efeitos colaterais causados pelos glicocorticóides, a imunoterapia tem sido estudada e aplicada por intermédio da estimulação do sistema imunológico. Dentre as alternativas o *Saccharomyces cerevisiae* tem sido estudado amplamente quanto aos seus efeitos imunomodulatórios, bem como o emprego da β -glucana tendo em vista sua habilidade de ativar mecanismos de defesa no hospedeiro, estimulando o sistema hematopoiético. Nesse sentido o intuito deste ensaio foi avaliar a capacidade imunomoduladora da β - Glucana e do *Saccharomyces cerevisiae* por meio de parâmetros hematológicos, avaliação da toxicidade pela análise bioquímica e avaliação do perfil eletroforético em *Ratus* da linhagem *Wistar* imunossuprimidos após a administração experimental de Dexametasona. Foi possível constatar o aumento dos leucócitos e estimulação das proteínas de fase aguda nos grupos tratados com as suplementações, de forma benéfica, após indução do quadro clínico de leucopenia induzida.

Palavras- Chave: Imunidade; leveduras; Glucana; Leucócitos.

β -Glucane and *Saccharomyces cerevisiae* immunomodulatory action in rats (*Rattus rattus*) from Wistar bloodline immunosuppressed by experimental administration Dexametasona

ABSTRACT

Attempting to minimize possible side effects caused by glucocorticosteroids, immunotherapy has been studied and applied through immune system stimulation. Among alternatives the *Sacharomyces cerevisiae* has been widely studied regarding its immunomodulatory effects, as well as the use of β -glucane because of its ability to activate defense mechanisms in the host, stimulating the hematopoietic system. Therefore the reason of this test is to evaluate the β -glucane and *Sacharomyces cerevisiae* immunomodulatory capacity through hematologic parameters, toxicity evaluation by biochemical analysis and electrophoretic profile evaluation in Ratus (Wistar bloodline) immunosuppressed after experimental administration of Dexametasona. It has been possible to verify the leucocyte growing and high phase protein stimulation in the groups treated with supplementation, beneficially, after inducing clinical condition of leukopenia.

Keywords: Immunity; yeast; Glucane; Leucocyte.

1 INTRODUÇÃO

A aplasia-hipoplasia medular é caracterizada pela diminuição de todas as linhagens celulares da medula óssea (medula óssea aplásica ou pancitopenia aplásica) ou dos precursores eritróides (aplasia ou hipoplasia) (VITURI et al., 2000).

Podem ser induzidas por uma grande variedade de distúrbios, estados de desnutrição protéica e agentes químicos, como por exemplo, a dexametasona, a qual após seu uso prolongado pode resultar na produção diminuída ou no aumento da destruição ou sequestro celular, desta forma torna-se necessário o emprego de tratamentos adjuvantes, como a imunoterapia, que minimize essas alterações, o que se faz presente em várias investigações científicas, principalmente na medicina humana (DIASIO, 1996).

Dentre as alternativas de biomoduladores, a levedura de cervejaria ou de panificação, *Saccharomyces cerevisiae* tem sido estudada amplamente quanto aos seus efeitos imunomodulatórios, bem como, o emprego também da β -glucana tendo em vista sua habilidade de ativar mecanismos de defesa no hospedeiro, estimulando o sistema hematopoiético. (BROWN; GORDON, 2003).

Por tanto o objetivo deste ensaio foi avaliar a capacidade moduladora da β - Glucana e do *Saccharomyces cerevisiae*, por meio de parâmetros hematológicos, avaliações bioquímicas e avaliação do perfil eletroforético em *Ratus* da linhagem *Wistar* imunossuprimidos após a administração experimental de Dexametasona.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Hipoplasia medular induzida quimicamente

A aplasia-hipoplasia medular é caracterizada pela diminuição de todas as linhagens celulares da medula óssea (medula óssea aplásica ou pancitopenia aplásica) ou dos precursores eritróides (aplasia ou hipoplasia). Podem ser induzida por uma grande variedade de distúrbios, agentes químicos, desnutrição protéica, doenças autoimunes, insuficiência renal, hemoparasitoses os quais podem resultar na produção diminuída ou no aumento da destruição ou sequestro celular (VITURI et al., 2000).

Entre os fármacos a dexametasona, metabolizada pelo fígado e excretada pela bile, causa mielossupressão leve, neuropatia periférica, parestesia e anorexia. Terapeuticamente, a dexametasona é utilizada em casos de doenças linfo e mieloproliferativas, além de carcinomas e sarcomas variados. Em cães e gatos é utilizada na dose de 0,1 mg/ kg(ANDRADE, 2002; NELSON; COUTO, 1998; CUPOLITU et al., 2007).

A avaliação de toxicidade à medula óssea (MO) é realizada, principalmente, através do hemograma, cálculo dos índices hematimétricos (VCM e CHCM) e contagem de plaquetas, ou pela avaliação direta do material puncionado da MO (mielograma) (LUND, 2000).

No entanto, mielotoxicidade é um problema clínico muito frequente, este efeito colateral revela-se tanto dose como droga dependente e é o efeito secundário mais importante e comum desses tratamentos, estando ligado diretamente à capacidade da medula óssea em repor os elementos sanguíneos

circulantes destruídos pelos fármacos utilizados (BONASSA, 1998; GIMENEZ, 2003).

A toxicidade hematológica se expressa sobre as três linhas medulares: hemácias, leucócitos e plaquetas. Em função do longo tempo de vida das hemácias, o desenvolvimento de anemia é tardio. A concentração de hemoglobina guarda relação com a contagem de hemácias e é utilizada para monitorar a resposta à terapia. A neutropenia é a principal alteração hematológica, observada em vários estudos sobre quimioterapia antineoplásica (STARLIN et al., 2004; SALUD et al., 2004).

Os componentes da medula óssea mais vulneráveis à quimioterapia são os leucócitos e as plaquetas. Desta forma, há um aumento de risco de ocorrência de infecções e sangramentos nos pacientes que estão recebendo quimioterapia, isso se deve principalmente por causa da rápida divisão celular das células da medula óssea, causada pela maioria dos antineoplásicos (ANDRADE, 2002; GIMENEZ, 2003).

2.2 *Saccharomyces cerevisiae* β- Glucana

Os probióticos são microrganismos vivos que podem ser agregados como suplementos na dieta, afetando de forma benéfica o desenvolvimento da flora microbiana no intestino. São também conhecidos como bioterapêuticos, bioprotetores e bioprolifáticos e são utilizados, por exemplo, para prevenir as infecções gastrointestinais (REIG & ANESTO, 2002). A definição internacional atualmente aceita é a de que os probióticos são microrganismos vivos,

administrados em quantidades adequadas, conferindo benefícios à saúde do hospedeiro (SAAD, 2006).

Quanto aos prebióticos trata-se de oligossacarídeos não digeríveis, porém fermentáveis cuja função é mudar a atividade e a composição da microbiota intestinal com a perspectiva de promover a saúde do hospedeiro. As fibras dietéticas e os oligossacarídeos não digeríveis são os principais substratos de crescimento dos microrganismos intestinais. Os prebióticos estimulam o crescimento dos grupos endógenos de população microbiana, tais como as *Bifidobacterias* e os *Lactobacillus* que são ditos como benéficos para a saúde humana (BLAUT, 2002).

Alguns efeitos atribuídos aos prebióticos são a modulação de funções fisiológicas, como a absorção de cálcio, o metabolismo lipídico, a modulação da composição da microbiota intestinal, a qual exerce um papel primordial na fisiologia intestinal e a redução do risco de câncer de cólon (ROBERFROID, 2002).

Oligossacarídeos de interesse para várias espécies são os mananoligossacarídeos (MOS), derivados das paredes de leveduras (extrato seco de fermentação de *Saccharomyces cerevisiae*). Os MOS apresentam a capacidade de modular o sistema imunológico e a microflora intestinal, ligam-se a uma ampla variedade de micotoxinas e preservam a integridade da superfície de absorção intestinal (ROBERFROID, 2002).

As β -glucanas são polissacarídeos constituintes estruturais da parede celular de leveduras, obtidas a partir da fermentação *S. cerevisiae*, constituída por um esqueleto linear central de unidades de glicose ligadas na posição β (1-

3), com cadeias laterais de tamanhos variados, igualmente de glicose, porém, unidas em β (1-6). (DIJKGRAAF; LI; BUSSEY, 2002). A β -glucana é caracterizada como um modificador da resposta biológica. Essa modificação ocorre, inicialmente, pelo seu reconhecimento por receptores presentes na superfície celular encontrados em macrófagos/monócitos, neutrófilos, linfócitos T e células *natural killer* (NK) (ADEREM; ULEVITCH, 2000; BROWN; GORDON, 2005).

Os mecanismos envolvidos na resposta imune desencadeada pela β -glucana incluem estímulo da hematopoiese (HOFER; POSPISIL, 1997), ativação de macrófagos, neutrófilos e de células NK (LEE et al., 2001; BROWN; GORDON, 2001; XIAO; TRINCADO; MURTAGH, 2004). Neste contexto, Kubala et al. (2003) relataram que a modulação da atividade celular da β -glucana inicia com a ativação de macrófagos, células endoteliais e dendríticas, linfócitos B e T e polimorfonucleares. Além disso, envolvem a resposta imune específica, induzindo a produção de diversas citocinas como TNF- α , IL-6, IL-8 e IL-12 (Di RENZO; YEFENOF; KLEIN, 1991; LEE et al., 2001; TSIAPALI et al., 2001; XIAO; TRINCADO; MURTAGH, 2004; MOON et al., 2005).

A estrutura do polissacarídeo que permite o seu reconhecimento pelo sistema imune está associada a padrões moleculares (PAMPs – padrões moleculares associados aos patógenos) que normalmente são essenciais para sobrevivência de patógenos microbianos. (BROWN; GORDON, 2005).

Quanto aos receptores, há inúmeros deles que reconhecem a β -glucana em vertebrados, incluindo dectin-1, receptor do sistema complemento 3 (CR3),

lactosilceramida e *scavenger receptors*. O mecanismo de resposta parece ser mediado pela combinação de todos eles, no entanto o dectin-1 e o CR3 têm sido mais estudados (BATTLE et al., 1998).

Caracterizada como uma glicoproteína transmembrana tipo II, a dectin-1 quando ativada leva à produção de superóxido pelos macrófagos durante a defesa, de maneira que a expressão predominante ocorre em monócitos, macrófagos, neutrófilos, linfócitos T e células dendríticas, tendo significativa influência de citocinas e de produtos microbianos (GORDON; BROWN, 2001).

Outro receptor envolvido no reconhecimento e resposta imune à β -glucana é a CR3, uma integrina heterodimérica expressa em células mielóides, NK e linfócitos. A CR3 possui um sítio de ligação para carboidratos, localizado no carbono terminal, e funciona como molécula de adesão celular, além de receptor de fagócito para a β -glucana (XIA; ROSS, 1999).

Como biomodulador, a β -glucana apresenta ainda habilidade para reduzir respostas pró-inflamatórias associadas à septicemia bacteriana, isso se deve ao aumento dos níveis de mediadores antiinflamatórios, como IL-10 e proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP-1) (TZIANABOS, 2000).

Um fator que pode contribuir para a atividade biológica da β -glucana é sua longa permanência dentro do organismo animal, em virtude da ausência de β -glucanases (BROWN; GORDON, 2003).

Os efeitos imunomoduladores das β -glucanas e seu possível papel como um adjuvante no suporte a protocolos de quimioterapia, especialmente como um elemento facilitador da recomposição da celularidade sanguínea, incremento das defesas orgânicas e minimização dos efeitos da hipoplasia

medular, consequentes ao câncer e à própria quimioterapia, fazem desta molécula uma candidata promissora para uso como agente imunoestimulante em pacientes imunocomprometidos (KIM et al., 2006).

3 OBJETIVO

Objetivo Geral:

- ✓ Avaliar a capacidade moduladora da β - Glucana e do *Saccharomyces cerevisiae*, em *Ratus* da linhagem *Wistar* imunossuprimidos após a administração experimental de Dexametasona.

Objetivos específicos:

- ✓ Avaliar por meio do hemograma: eritrograma e leucograma os efeitos da suplementação com a β - Glucana e o *Saccharomyces cerevisiae* em *Ratus* imunossuprimidos.
- ✓ Avaliar pelos exames bioquímicos a funcionalidade do fígado e dos rins, pela dosagem das enzimas: Alanina aminotransferase, fosfatase alcalina; ureia e creatinina durante o período de suplementação;
- ✓ Avaliar por meio do Proteinograma pela técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) o comportamento das proteínas de fase aguda após o tratamento com a β - Glucana e o *Saccharomyces cerevisiae* em *Ratus* da linhagem *Wistar* imunossuprimidos após a administração experimental de Dexametasona, de esta forma constatar a propriedade imunomodulatória das suplementações.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Parcelas Experimentais

O experimento foi previamente submetido à aprovação dos Comitês de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Paraná e da Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho- Campus de Jaboticabal - Protocolo 005/2011.

Foram utilizados ratos machos albinos adultos (70 dias) da linhagem Wistar mantidos em ciclo claro/escuro (12/12h) e temperatura (23°C ±1) com livre acesso a comida e água.

Os ratos foram randomicamente distribuídos em três grupos de 22 animais cada: **Grupo 1:** animais sem suplementação (GC); **grupo 2:** animais suplementados com *Saccharomyces cerevisiae* (GS) e **grupo 3:** animais suplementados com 1,3-1,6 β-Glucana (GG).

4.2 Protocolo de Imunossupressão

Na primeira fase do experimento os animais foram submetidos à primeira aplicação de dexametasona, na dose de 5mg/ kg a cada 24 horas, via intraperitoneal, durante sete dias, com intuito de provocar a indução da leucopenia. Esse momento corresponde ao momento zero (M0) de aplicação da droga. Ao fim dos sete dias de aplicação da dexametasona os mesmos foram avaliados por meio de hemograma sérico com intuito de se certificar o quadro de leucopenia e desta forma iniciar o protocolo de suplementação (Quadro 1).

Quadro 1: Cronograma de indução de imunossupressão com dexametasona e suplementação.

Etapa 1 Pré- imunossupressão		Etapa 2 Pós- imunossupressão	Etapa 3 Durante a imunossupressão			
	1° ao 7°	8°	17°	27°	37°	47°
M0			M1	M2	M3	M4
1° Colheita de Sangue Antes da aplicação de Dexametasona	Aplicação de Dexametasona	Início da Suplementação	Suplementação + Coleta de Sangue			

4.3 Suplementação com β -glucana e *Saccharomyces cerevisiae*

Os animais dos grupos GS e GG receberam a suplementação separadamente de *Saccharomyces cerevisiae* e 1,3-1,6 β -Glucana respectivamente do 8° dia (24 horas após a última administração da dexametasona) ao 47° dia, na dose de 500 μ g/dia por meio de gavagem. Para

que não ocorressem erros relativos à quantidade do produto os mesmos foram organizados no formato de cápsula na dose ideal.

4.4 Colheita de Sangue

4.4.1 Colheita Hematológica:

Primeira coleta de sangue realizada foi no momento M0, se refere à etapa 1, pré imunossupressão, sendo realizado nessa fase apenas avaliação hematológica. Posteriormente os mesmos foram acompanhados no protocolo de imunossupressão por sete dias, ao final da última administração de dexametasona dois animais de cada grupo foram selecionados, a fim de que fosse avaliada a resposta de ação do fármaco, para constatação da fase leucopênica que corresponde a etapa 2, pós- imunossupressão.

O início da etapa 3, durante a suplementação, corresponde ao período de coletas de M1 a M4, nesta fase os animais foram submetidos à anestesia geral utilizando-se pentobarbital sódico (Hypnol®) na dose de 40mg/ kg, pela via intraperitoneal, com intervalos de 10 dias, sendo o primeiro momento no 17º dia. Para os estudos hematológicos, o sangue foi colhido pela veia hepática (2 ml) logo após a realização do protocolo anestésico (Quadro 1).

Logo após a coleta os animais foram submetidos à eutanásia através de uma superdosagem do mesmo anestésico (Pentobarbital via intraperitoneal, na dose de 100 mg/Kg).

O sangue colhido foi acondicionado em frascos com 0,1mg do anticoagulante EDTA (etileno diamino tetra acetato de sódio) (ROSENFELD,

1955), em intervalos de 10 dias. As avaliações laboratoriais realizadas foram: hemograma.

4.4.2 Colheita Análise Bioquímica e Perfil Eletroforético

As colheitas de sangue para análises bioquímicas e perfil eletroforético ocorreram na etapa 3 durante a suplementação, ou seja dos momentos M1-M4, objetivando avaliar o efeito da suplementação nos animais.

Nesta fase os animais foram submetidos à anestesia geral utilizando-se pentobarbital sódico (Hypnol®) na dose de 40mg/ kg, pela via intraperitoneal, com intervalos de 10 dias, sendo o primeiro momento no 17º dia. Para as análises bioquímicas e perfil eletroforético o sangue foi colhido pela veia hepática (2 ml) logo após a realização do protocolo anestésico (Quadro 1).

O sangue colhido foi acondicionado em frascos sem anticoagulante EDTA (etileno diamino tetra acetato de sódio) (ROSENFELD, 1955), em intervalos de 10 dias. As avaliações laboratoriais realizadas foram: alanina aminotransferase, fosfatase alcalina, creatinina e ureia.

Posteriormente ao proteinograma sérico pela técnica de matriz de gel de poliacrilamida contendo dodecilsulfato de sódio (SDS-PAGE) e o fracionamento eletroforético realizado segundo técnica descrita por LAEMMLI (1970) modificada, utilizando-se o sistema vertical de eletroforese (Protean ii xi-Verticalelectrophoresis cells ®- Bio-Rad).

4.5 Preparações das Amostras

Após a colheita cada tubo foi submetido à centrifugação por 5 minutos, à 1.257,6 g (2500 rpm), para obtenção do soro. Ato contínuo, o soro sanguíneo foi envasado e armazenado em eppendorfs (1,5 mL), sob congelamento a – 18°C, até o momento para realização da dosagem da alanina aminotransferase, fosfatase alcalina, creatinina, ureia e proteínograma sérico.

4.5 Análises laboratoriais

4.5.1 Análises Hematológicas

Para a avaliação dos parâmetros eritrocitários, taxa de hemoglobina e leucocitários, foi utilizado contador automático de células ABC Vet (HORIBA ABX – São Paulo/Brasil), contagem diferencial dos leucócitos realizada no esfregaço sanguíneo corado com uma mistura de Metanol, May Grunwald e Giemsa (MMG) no Laboratório de Patologia Clínica do HV da FCAV – UNESP Jaboticabal.

4.5.2 Análises Bioquímicas: Alanina Aminotransferase, Fosfatase Alcalina, Creatinina e Uréia.

Todas as avaliações foram realizadas no Laboratório de Patologia Clínica do HV da FCAV- UNESP Jaboticabal. Para todos as análises foram utilizados reagentes comerciais padronizados (Labtest[®] – Labtest Diagnóstica

S. A. – Lagoa Santa – MG). As reações foram realizadas de acordo com as orientações do fabricante. As leituras foram feitas em espectrofotômetro semi-automático (Analisador Bioquímico Labquest[®] - Bioplus produtos para laboratório Ltda. – Barueri - SP), em comprimento de onda específico para cada parâmetro.

4.5.3 Fracionamento Eletroforético

As análises laboratoriais foram conduzidas no Laboratório de Apoio à Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, da FCAV – UNESP, Jaboticabal, SP.

O proteinograma sérico foi obtido em matriz de gel de poliacrilamida contendo dodecilsulfato de sódio (SDS-PAGE). O fracionamento eletroforético foi realizado segundo técnica descrita por LAEMMLI (1970) modificada, utilizando-se o sistema vertical de eletroforese (Protean ii xi-Verticalelectrophoresis cells[®]- Bio-Rad).

A polimerização do gel foi possível pela adição de 15,0 µL de tetrametiletilenodiamina (TEMED)¹ e 0,3 µL de persulfato de amônia a 10%. A placa contendo o gel foi colocada em suporte apropriado em contato com uma cuba superior contendo solução tampão de pH 8,5, constituída de 36,30g de tris-base, 112,50g de glicina, 10g de dodecil sulfato de sódio (SDS) e água destilada estéril suficiente para completar um litro de solução.

A parte superior da placa que continha o gel entrou em contato com uma cuba contendo solução tampão de pH 8,5, constituída de 18,15g de tris-base, 46,25g de glicina, 10g de SDS, em um litro de água destilada estéril. As placas

foram preenchidas com o gel de separação a 10% e gel de empilhamento a 4%. As amostras para o fracionamento das proteínas foram preparadas utilizando-se 10 μ L de soro sangüíneo diluídos em 30 μ L de tampão-fosfato (PBS) e 20 μ L de gel mix e aquecidas sobre água em ebulição por 10 minutos. Uma alíquota de 5 μ L das referidas amostras era depositada no fosso do gel.

¹Sigma, ST. Louis-MO, Estados Unidos.

A placa era colocada em suporte apropriado, em contato com solução tampão com pH 8,5 e submetida à corrente elétrica a 20 mA, em fonte adequada.

Terminada a separação, o gel era corado durante duas horas em solução de azul de comassie 0,2%, no agitador horizontal, para uma coloração uniforme e em seguida, retirada o excesso de corante com solução descorante, até que as frações se apresentassem nítidas.

Os pesos moleculares e as concentrações das frações protéicas foram determinados por densitometria computadorizada (SHIMADZU CS-9301) através do escaneamento das amostras. Para a identificação das proteínas foram utilizados marcadores (SIGMA MARKER™, wide range, 6,5 a 200 KD) de pesos moleculares de 200, 116, 97, 66, 55, 45, 36, 29 e 20 KD, além das proteínas purificadas albumina, alfa-1-antitripsina, haptoglobina, ceruloplasmina, transferrina e IgG. Para a avaliação densitométrica das bandas

proteicas confeccionaram-se curvas de referência a partir da leitura do marcador padrão.

² Shimadzu, Shimadzu Corp., Kyoto-Japão.

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os valores obtidos entre os diferentes momentos pela ANOVA entre os grupos foram confrontadas pelo teste de Tukey, nível de probabilidade a 5% ($p \leq 0.05$). Para todos os procedimentos utilizou-se o software **SAS**[®] (Statiscal Analysis System).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análises do Eritrograma e Leucograma

Os valores médios obtidos para contagem de eritrócitos, hematócrito, concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), volume corpuscular médio (VCM), valores global e diferencial de leucócitos para os diferentes grupos (GC, GS e GG) nos diferentes momentos estão descritos abaixo (Tabela 1).

TABELA 1- Valores médios obtidos para Hemograma (células/ μ L) dos Ratos Linhagem Wistar para os diferentes grupos, Grupo Controle (GC), Beta-Glucana (GG) e Sacharomyces (GS) Jaboticabal, 2012.

	Grupos	M0	M1	M2	M3	M4
Eritrócitos (x 10⁶)	GC	8,063 \pm 0,72	6,076 \pm 0,61	6,076 \pm 1,22	6,51 \pm 1,40	6,378 \pm 1,04
	GS		6,274 \pm 0,47	7,624 \pm 0,56	7,648 \pm 1,50	7,29 \pm 0,69
	GG		5,986 \pm 1,17	7,578 \pm 0,96	7,19 \pm 0,42	7,548 \pm 1,03
Hematócrito (%)	GC	43,8 \pm 5,26	36,4 \pm 1,52	39,8 \pm 5,45	35,2 \pm 3,77	37,2 \pm 2,95
	GS		33,8 \pm 2,17	41,2 \pm 3,35	42,4 \pm 7,73	40,2 \pm 4,09
	GG		33,4 \pm 7,23	42 \pm 4,69	38,2 \pm 3,44	41,2 \pm 4,49
Hemoglobina (G%)	GC	14,5 \pm 2,02	11,8 \pm 0,52	13,4 \pm 2,00	11,7 \pm 2,10	12 \pm 0,82
	GS		11,5 \pm 0,66	14,2 \pm 0,83	14,7 \pm 3,03	13,8 \pm 1,13
	GG		12 \pm 2,34	14,1 \pm 1,45	14 \pm 0,82	14,5 \pm 2,12
VCM (FL)	GC	56,9 \pm 7,56	54,3 \pm 0,95	54 \pm 1,30	54,9 \pm 1,98	53,9 \pm 0,99
	GS		53,9 \pm 2,25	54 \pm 2,25	55,5 \pm 2,35	55,1 \pm 1,11
	GG		56 \pm 9,36	55,5 \pm 2,86	53,6 \pm 2,94	55 \pm 2,59
CHCM (%)	GC	33 \pm 2,37	32,2 \pm 1,55	32,7 \pm 0,83	32,2 \pm 1,12	31,7 \pm 1,43
	GS		34,2 \pm 0,79	34,6 \pm 1,05	34,4 \pm 0,89	34,4 \pm 0,90
	GG		36,2 \pm 1,05	33,8 \pm 0,97	36,5 \pm 1,68	35,1 \pm 2,64
Leucócitos	GC	9640 \pm 2680,11	3420 \pm 914,88	3220 \pm 1314,15	3160 \pm 1003,99	3500 \pm 863,13
	GS		2620 \pm 614,00	4660 \pm 1457,05	4260 \pm 1180,25	6200 \pm 1206,23
	GG		3020 \pm 311,45	4700 \pm 940,74	6420 \pm 1849,86	8220 \pm 158,19
Neutrófilos Segmentados	GC	1862,6 \pm 996,5	947,6 \pm 240,52	957,6 \pm 453,58	1395 \pm 344,16	980,4 \pm 207,19
	GS		1177,8 \pm 358,26	1700 \pm 578,79	1831 \pm 277,25	2410 \pm 636,44
	GG		954 \pm 201,54	1881 \pm 358,44	2024,4 \pm 891,60	4033 \pm 2647,71
Neutrófilos Bastonetes	GC	164,6 \pm 153,22	194,4 \pm 129,84	49,2 \pm 47,26	85,6 \pm 169,42	192 \pm 131,20
	GS		71,4 \pm 81,42	45,8 \pm 50,66	24,4 \pm 54,56	81,2 \pm 61,00
	GG		48,6 \pm 18,38	47 \pm 9,41	89,6 \pm 86,27	116 \pm 103,63
Eosinófilos	GC	10,4 \pm 23,26	45 \pm 100,62	92,4 \pm 112,90	66,6 \pm 80,79	51,4 \pm 98,03
	GS		86,6 \pm 140,67	132,6 \pm 174,07	140,4 \pm 60,45	322 \pm 298,80
	GG		93,8 \pm 88,95	112 \pm 180,96	39,5 \pm 45,68	204,5 \pm 337,56
Monócitos	GC	67,4 \pm 61,79	0 \pm 0,00	0 \pm 0,00	4 \pm 8,94	0 \pm 0,00
	GS		0 \pm 0,00	0 \pm 0,00	0 \pm 0,00	160 \pm 357,77
	GG		0 \pm 0,00	0 \pm 0,00	0 \pm 0,00	160 \pm 357,77
Linfócitos	GC	6765,4 \pm 2577,35	2213 \pm 762,79	2089,2 \pm 764,99	1649,2 \pm 994,59	2256,2 \pm 750,90
	GS		1276,4 \pm 242,48	2781,6 \pm 822,08	2304,6 \pm 1026,34	3245,6 \pm 1284,02
	GG		1923,6 \pm 348,67	2659,2 \pm 487,62	4274,4 \pm 2575,64	3706,4 \pm 2557,72
Basófilos	GC	20,8 \pm 46,51	0 \pm 0,00	0 \pm 0,00	0 \pm 0,00	0 \pm 0,00
	GS		0 \pm 0,00	0 \pm 0,00	0 \pm 0,00	0 \pm 0,00
	GG		0 \pm 0,00	0 \pm 0,00	0 \pm 0,00	0 \pm 0,00

Para contagem dos valores de hematócrito, apesar da tendência entre os momentos dentro de cada grupo apresentar algum nível de significância, a avaliação entre os grupos não apresentou diferença estatística significativa para o nível de probabilidade a 5% ($p \leq 0,05$). Assim como entre os valores de concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e volume globular médio, independentes do uso do *Sacharomyces cerevisiae*, beta-glucana em relação ao controle, assim como independente do momento avaliado.

Os parâmetros analisados avaliam a capacidade dos animais em responder à demandas energéticas em situações adversas e conseqüentemente a avalia seu estado fisiológico.

Desta forma os resultados obtidos diferem dos encontrados por Farias, (2012), ao utilizar probióticos (*B.subtilis* e *B.cereus*) e prebióticos (frutoligossacarídeo) na suplementação de peixes, no qual observou variações significativas em todos os parâmetros eritrocitários avaliados em relação aos grupos suplementados.

Apesar do aumento no hematócrito dentro dos grupos suplementados pela *Beta-glucana* e *Sacharomyces cerevisiae*, ao longo dos momentos e entre os grupos, não houve relevância estatística. No entanto para Aly et al. (2008), houve um aumento do hematócrito em tilápia suplementadas com *L. acidophilus* e *B. subtilis*.

Para Mouriño et al. (2011) quando se associa o probiótico com um prebiótico há um incremento no número de eritrócitos em surubim híbrido, no presente ensaio os mesmos foram avaliados de forma individual.

Ao avaliar as variações na contagem total de leucócitos houve diferença estatística entre os grupos quando avaliaram os momentos M3 e M4 em relação ao momento M0, de maneira que os grupos *Saccharomyces cerevisiae* (GS) 1,3-1,6 β -Glucana (GG) apresentaram um aumento significativo a partir dos momentos M2 a M4 (Tabela 2).

Tabela 2: Comparação dos momentos M0 e M4 entre M2, M3 e M4 para variáveis Leucócitos. Jaboticabal, 2012.

Grupo (GC)		Grupo (GS)		Grupo (GG)	
Momentos	Valor de p*	Momentos	Valor de p*	Momentos	Valor de p*
M0-M1	0,00002*	M0-M1	0,00002*	M0-M1	0,000038*
M0-M2	0,000014*	M0-M2	0,00001*	M0-M2	0,0012*
M0-M3	0,000012*	M0-M3	0,00001*	M0-M3	0,0459*
M0-M4	0,00002*	M0-M4	0,00002*	M0-M4	0,6719
M1-M2	0,9995	M1-M2	0,9995	M1-M2	0,5245
M1-M3	0,9987	M1-M3	0,9987	M1-M3	0,0322*
M1-M4	0,9999	M1-M4	0,9999	M1-M4	0,0007*
M2-M3	0,9999	M2-M3	0,9999	M2-M3	0,5022
M2-M4	0,9982	M2-M4	0,9982	M2-M4	0,0253*
M4-M3	0,9963	M4-M3	0,9963	M4-M3	0,4585*

* valores significativos

Ao analisar os grupos separadamente o efeito da beta-glucana ao longo dos momentos resultou em valores significativamente superiores aos outros grupos. Diferentemente por Crocchia, (2010), ao utilizar o extrato de *Agaricus blazei*, rico em altas concentrações de *Beta-Glucana* não observou variações nos valores de leucócitos, quando comparados com o grupo não suplementados.

No entanto, em estudos realizados por Junior, Freire & Mendes (2010), os efeitos da Beta- glucana injetável em pacientes humanos sépticos ou não, por meio da imunomodulação, promoveu incremento 73% no número de leucócitos a partir do 5° dia de terapia, resultado semelhante ao observado neste estudo, mesmo diferindo a via de aplicação.

O efeito direto sob o aumento dos leucócitos ocorreu a partir 17° dia de suplementação que corresponde ao M1 no grupo GG, diferentemente do observado por Junior, Freire & Mendes (2010).

Em camundongos imunossuprimidos pela ciclofosfamida e sépticos obtiveram-se resultados semelhantes ao deste estudo quando tratados a com glucana, de acordo com Di Luzio & Willians (1979), administração de glucana aos animais tratados com o quimioterápico, preveniu a queda dos leucócitos do sangue periférico.

Já o grupo GS apresenta-se com comportamento semelhante até o momento M2, porém há um declínio discreto até M3 e posteriormente há uma tendência de elevação até M4, no entanto o grupo controle manteve-se em níveis inferiores aos dois grupos suplementados com beta-glucana e *Sacharomyces cerevisiae* (Figura 1).

Esse evento pode ser representado pela capacidade imunomodulatória do *Sacharomyces Cerevisiae*, de acordo Sartori et al. (2003) em ensaio realizado com células de baço em vitro, o efeito desta suplementação pode desencadear um efeito modulatório de regulação para baixo frente a uma hiperatividade do sistema imune, impedindo o efeito deletério inerente à super-estimulação do sistema imunitário.

Com relação aos neutrófilos segmentados (NS) houve diferença estatística quando avaliado cada grupo, em seus diferentes momentos, essa diferença no grupo beta-glucana há um aumento significativo a cada momento na taxa de neutrófilos em relação ao grupo controle (Figura 1). Ao analisar entre os grupos, observa-se diferença estatística ($p < 0,05$), para os valores de neutrófilos (NS), nos momentos M2, M4, em relação a M0 (Tabela 3).

Este aumento nos granulócitos, já era esperado nos grupos suplementados tanto com *Sacharomyces* quanto com Beta- glucana, de acordo Taylor et al. (2003), isso se deve à capacidade dos vertebrados reconhecerem essas estruturas por meio do receptor dectin-1 na superfície dos granulócitos.

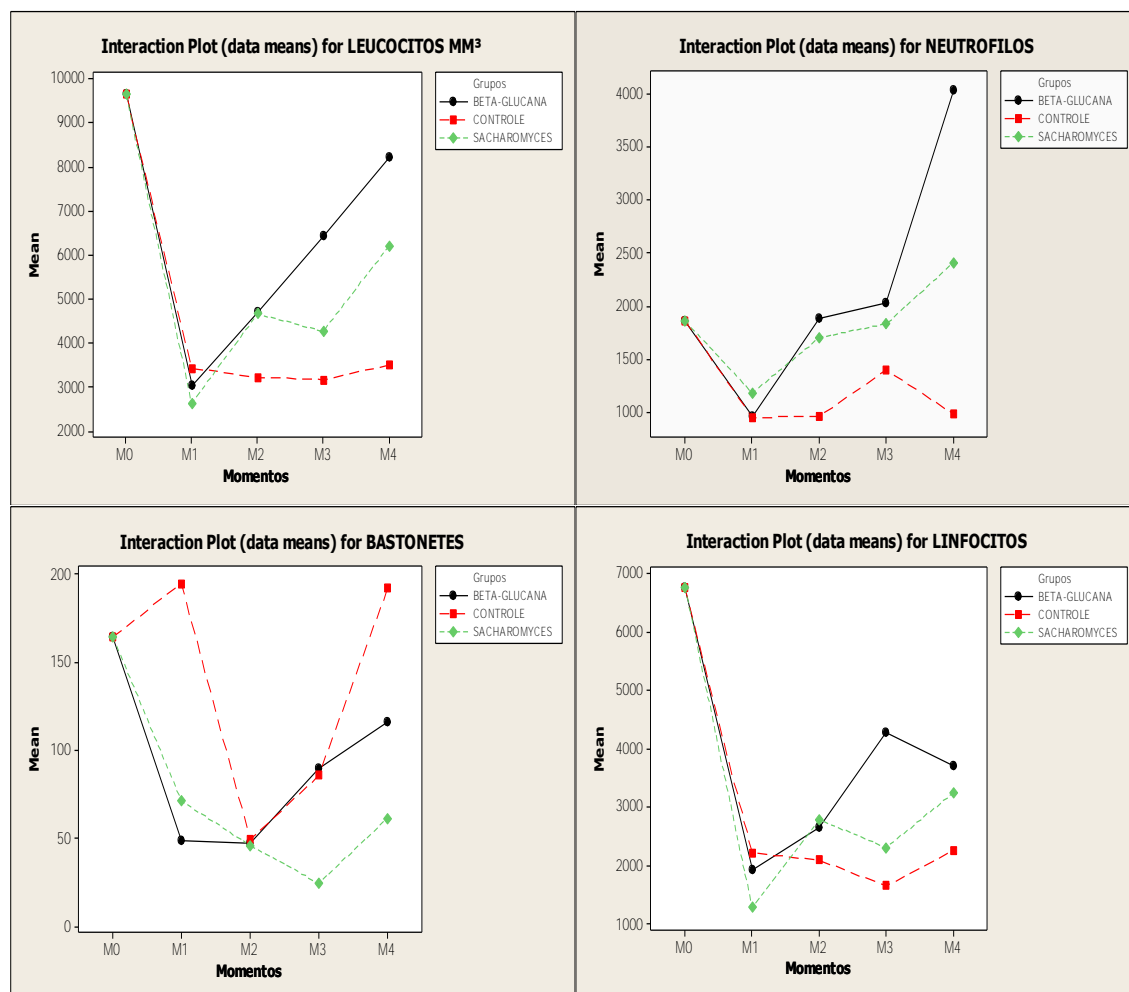
Para Goodridge; Wolf & Underhill, (2009) em camundongos, o dectin-1 é expresso primariamente por células de origem mielóide, incluindo macrófagos, células dendríticas, e neutrófilos, que recrutam e coordenam a ativação de outras células imunes.

Tabela 3: Comparação dos momentos M0 e M4 entre M2, M3 e M4 para variável Neutrófilos (NT). Jaboticabal, 2012.

Grupo (GC)		Grupo (GS)		Grupo (GG)	
Momentos	Valor de p*	Momentos	Valor de p*	Momentos	Valor de p*
M0-M1	0,0872	M0-M1	0,4341	M0-M1	0,8181
M0-M2	0,0923	M0-M2	0,9934	M0-M2	0,9999
M0-M3	0,6427	M0-M3	0,9999	M0-M3	0,9996
M0-M4	0,1050	M0-M4	0,6406	M0-M4	0,1161
M1-M2	0,9999	M1-M2	0,6788	M1-M2	0,8068
M1-M3	0,6784	M1-M3	0,4798	M1-M3	0,7152
M1-M4	0,9999	M1-M4	0,0376	M1-M4	0,0126
M2-M3	0,6959	M2-M3	0,9971	M2-M3	0,9998
M2-M4	0,9999	M2-M4	0,3992	M2-M4	0,1211
M4-M3	0,7348	M4-M3	0,5921	M4-M3	0,1642

* valores significativos

FIGURA 1: Comportamento dos valores médios obtidos para leucócitos, neutrófilos, bastonetes e linfócitos em Ratos para os grupos, Controle, Beta-glucana e Sacharomyces em diferentes momentos do protocolo experimental. Jaboticabal, 2012.



Para contagem de neutrófilos bastonetes (NB) não houve diferença estatística (Figura 1).

Analisando isoladamente cada parcela experimental, como esperado todos os animais dos três grupos Controle (GC), *Saccharomyces cerevisiae* (GS) 1,3-1,6 β -Glucana (GG) apresentaram diferença estatística dentro de cada grupo nos diferentes momentos para variável linfócito, porém quanto à interação entre grupos não ocorreu diferença estatística (Tabela 4).

Tabela 4: Comparação dos momentos M0 e M4 entre M2, M3 e M4 para variável Linfócitos (LT). Jaboticabal, 2012.

Grupo (GC)		Grupo (GS)		Grupo (GG)	
Momentos	Valor de p*	Momentos	Valor de p*	Momentos	Valor de p*
M0-M1	0,0003*	M0-M1	0,00005*	M0-M1	0,0085*
M0-M2	0,0002*	M0-M2	0,0021*	M0-M2	0,0303*
M0-M3	0,00007*	M0-M3	0,0006*	M0-M3	0,3198
M0-M4	0,0003*	M0-M4	0,0067*	M0-M4	0,1540
M1-M2	0,9998	M1-M2	0,4697	M1-M2	0,9766
M1-M3	0,9643	M1-M3	0,7811	M1-M3	0,3743
M1-M4	0,9999	M1-M4	0,2225	M1-M4	0,6327
M2-M3	0,9855	M2-M3	0,9830	M2-M3	0,7109
M2-M4	0,9996	M2-M4	0,9846	M2-M4	0,9199
M4-M3	0,9537	M4-M3	0,8301	M4-M3	0,9910

* valores significativos

É inegável que o comportamento dos linfócitos nos grupos suplementados apresente uma tendência a níveis mais altos em relação ao grupo controle, principalmente quando se observa os valores individuais do grupo Beta-Glucana, de tal forma é possível sugerir que esse apresentou um comportamento de elevação em relação aos outros grupos (Figura 1).

Nesse sentido Cross et al., (2001) constatou em estudos com camundongos uma estimulação de linfócitos T citotóxicos, células B e macrófagos, após suplementação oral com Beta-glucana, assim como os encontrados no presente ensaio, mesmo não sendo realizado a diferenciação das linhagens de linfócitos.

Antecedendo a estes resultados Suzuki et al., (1989), ao utilizar beta-1,3-glucano com camundongos na dose de 80 mg/kg também constatou a melhora na resposta proliferativa das células esplênicas a mitógenos de células B e células T, quando comparados ao grupo controle

O efeito imunomodulador do *Sacharomyces cerevisiae* se refletiu frente ao aumento gradativo de linfócitos circulantes, quando comparado com o grupo controle, essa observação também foi reafirmada por Lourenço (2011), em estudos quantitativos no qual se observou maior número de células CD4+ e CD8+ por imunomarcagem em segmentos de íleo e ceco nas aves suplementadas com alto nível desta parede de levedura.

Além disso, os níveis de leucócitos variaram de forma significativa, é possível afirmar que o efeito do glicocorticoide sobre os valores iniciais teve grande influência, inicialmente levou a uma leucopenia severa, porém ao longo da terapia imunomodulatória, o *Sacharomyces cerevisiae* e a Beta-glucana promoveram uma taxa de elevação significativa nessa celularidade, mostrando seu efeito rápido nessas células, mas o grupo GG demonstrou mais linearidade nessa estimulação, ao final M4 os valores estavam novamente dentro do recomendado para espécie (Figura 1).

Tabela 5: Comparação entre os diferentes grupos e os momentos de avaliação para a variável Neutrófilo Segmentado (NS), Jaboticabal, 2011.

Variável Neutrófilo							
M1		M2		M3		M4	
Grupos	Valor de p	Grupos	Valor de p	Grupos	Valor de p	Grupos	Valor de p
GC- GG	= 0,9992	GC- GG	= 0,0234*	GC- GG	= 0,2347	GC- GG	= 0,0248*
GS- GG	= 0,4286	GS- GG	= 0,8182	GS- GG	= 0,8576	GS- GG	= 0,2722
GC-GS	= 0,4095	GC-GS	= 0,0687	GC-GS	= 0,4766	GC-GS	= 0,3556

Tabela 6: Comparação entre os diferentes grupos e os momentos de avaliação para a variável Linfócitos, Jaboticabal, 2011.

Variável Linfócito							
M1		M2		M3		M4	
Grupos	Valor de p	Grupos	Valor de p	Grupos	Valor de p	Grupos	Valor de p
GC- GG	=0,6458	GC- GG	=0,4348	GC- GG	=0,0742	GC- GG	=0,4001
GS- GG	=0,1472	GS- GG	=0,9596	GS- GG	=0,2012	GS- GG	=0,9053
GC-GS	=0,0309*	GC-GS	=0,3041	GC-GS	=0,8178	GC-GS	=0,6410

* valores significativos

5.2 Análises Bioquímicas: Alanina aminotransferase, fosfatase alcalina, creatinina e ureia.

Quanto aos valores médios obtidos para fosfatase alcalina (FA), alanina aminotransferase (ALT), ureia e creatinina para os diferentes grupos (GC, GS e GG) nos diferentes momentos (Tabela 7).

Analisando-se individualmente cada grupo entre os seus diferentes momentos, o grupo controle e beta-glucana, não apresentaram diferença estatística para o nível de significância a 5% relativos aos valores de ALT, porém para o grupo *Sacharomyces crevisae* houve diferença estatística para o mesmo nível de significância, quando avaliados os valores correspondentes ao M3 em relação ao momento M4, com diminuição significativa nos níveis séricos dessa enzima em M4 (Tabela 8).

Tabela 7: Valores médios obtidos para as análises bioquímicas de todos os grupos e em diferentes momentos, Jaboticabal, 2012.

(GC)	ALT (U/L)	CRE (mg/dl)	FA (U/L)	UR (mg/dl)	(GS)	ALT (U/L)	CREA (mg/dl)	FA (U/L)	UR (mg/dl)	(GG)	ALT (U/L)	CRE (mg/dl)	FA (U/L)	UR (mg/dl)
M1	58	0,58	249	44,6		48	0,74	113	79,2		38	0,86	120	61,4
M2	55	0,52	199	49,2		41	0,68	165	42		37	0,66	117	54,8
M3	45	0,52	136	56,4		68	0,82	215	48,8		40	0,64	157	45,8
M4	77	0,54	178	48,2		38	0,76	96	42,6		45	0,48	126	52

Tabela 8: Comparação dos momentos M1 e M4 entre M2 para variável Alanina Aminotransferase (ALT). Jaboticabal, 2012.

Grupo (GC)		Grupo (GS)		Grupo (GG)	
Momentos	Valor de p*	Momentos	Valor de p*	Momentos	Valor de p*
M1-M2	0,9986	M1-M2	0,8955	M1-M2	0,9999
M1-M3	0,8966	M1-M3	0,1950	M1-M3	0,9936
M1-M4	0,7658	M1-M4	0,7414	M1-M4	0,9144
M2-M3	0,9469	M2-M3	0,0561	M2-M3	0,9887
M2-M4	0,6783	M2-M4	0,9884	M2-M4	0,8938
M3-M4	0,3698	M3-M4	0,0303*	M3-M4	0,9792

* valores significativos

Porém para a variável fosfatase alcalina (FA) não houve diferença estatística para nível de significância à 5%, (Tabela 9) .

No entanto Loguercio, et al. (2005), obteve resultados diferentes do encontrado nesse ensaio, após o uso de probióticos e prebióticos em pacientes humanos com hepatopatias obteve níveis reduzidos AST e ALT.

Já LI et al, (2003) constatou em camundongos obesos com o tratamento combinado de vários probióticos, a redução do dano tecidual no fígado, diminuição nos teores de gordura no fígado e diminuição nas concentrações de ALT.

Apesar dos níveis de ALT E FA encontrarem-se dentro dos níveis considerados normais, as variações sofridas ao longo dos momentos nos grupos suplementados podem ser justificadas de acordo com Soriano (2009) devido à capacidade dos probióticos e prebióticos de modular resposta intestinal imunitária, diminuindo o translocação bacteriana, pode desempenhar um papel no tratamento de várias hepatopatias.

Tabela 9: Comparação dos momentos M1 e M4 entre M2 para variável Fosfatase Alcalina (FA). Jaboticabal, 2012.

Grupo (GC)		Grupo (GS)		Grupo (GG)	
Momentos	Valor de p*	Momentos	Valor de p*	Momentos	Valor de p*
M1-M2	0,8495	M1-M2	0,6119	M1-M2	0,9998
M1-M3	0,2924	M1-M3	0,1126	M1-M3	0,7533
M1-M4	0,6629	M1-M4	0,9799	M1-M4	0,9987
M2-M3	0,7347	M2-M3	0,6459	M2-M3	0,7106
M2-M4	0,9853	M2-M4	0,3935	M2-M4	0,9957
M3-M4	0,9014	M3-M4	0,0554	M3-M4	0,8318

* valores significativos

Tabela 10: Comparação entre os diferentes grupos e os momentos de avaliação para a variável Fosfatase Alcalina, Jaboticabal, 2012.

VARIÁVEL FOSFATASE ALCALINA (FA)							
M1		M2		M3		M4	
Grupos	Valor de p	Grupos	Valor de p	Grupos	Valor de p	Grupos	Valor de p
GC- GG	=0,1549	GC-GG	=0,1978	GC- GG	=0,9196	GC-GG	= 0,4700
GS- GG	=0,9923	GS-GG	=0,5509	GS-GG	=0,5558	GS-GG	=0,0280
GC- GS	=0,1280	GC-GS	= 0,7249	GC-GS	=0,3477	GC-GS	=0,2166

* valores significativos

Quanto aos valores relativos à creatinina, na interação entre grupos e momentos pode-se observar que houve diferença estatística, entre os momentos M4 em relação a M1, entre os grupos controle (S) e *Sacharomyces cerevisiae* e este em relação ao grupo Beta- Glucana (Tabela 11).

Tabela 11: Comparação entre os diferentes grupos e os momentos de avaliação para a variável creatinina, Jaboticabal, 2012.

VARIÁVEL CREATININA							
M1		M2		M3		M4	
Grupos	Valor de p	Grupos	Valor de p	Grupos	Valor de p	Grupos	Valor de p
GC- GG	=0,57	GC-GG	= 0,44	GC- GG	=0,73	GC-GG	= 0,77
GS- GG	= 0,82	GS-GG	= 0,35	GS-GG	=0,18	GS-GG	= 0,06*
GC- GS	= 0,89	GC-GS	= 0,98	GC-GS	=0,51	GC-GS	= 0,01*

Apesar dos níveis da variável creatinina encontrarem-se dentro dos valores de referência para designada espécie, a comparação entre os grupos controle em relação *Sacharomyces*, assim como em relação ao grupo beta-glucana, observam-se valores maiores neste último, no transcorrer do tratamento com o suplemento, tendo em vista que os mesmos encontravam-se sob o mesmo regime hídrico e alimentar.

Para Sandvik et al. (2007), após utilizarem o *Saccharomyces cerevisiae* constataram em comparação ao grupo placebo, uma diminuição nos níveis de creatinina de 25%, desta forma observaram uma melhor perfusão renal, no entanto em comparação ao presente ensaio o mesmo não ocorreu.

Quanto à análise dos valores séricos da úreia, é fato que dos grupos avaliados, controle (GC) e Beta-glucana (GG) apresentaram aumento significativo. Quando avaliado a interação entre os grupos, constata-se que houve diferença estatística entre os grupos envolvidos beta-glucana em relação ao *Sacharomyces* e este em relação ao controle.

Observa-se que no grupo Beta-glucana no 28º dia sob terapia imunomodulatória houve uma diminuição acentuada nos valores de úreia, algo semelhante também ocorreu no grupo *Sacharomyces cerevisiae*, já o grupo controle se apresenta com um padrão diferente ao longo dos momentos de níveis semelhantes, porém sempre maiores em relação aos outros grupos (Tabela 12).

Tabela 12: Comparação entre os diferentes grupos e os momentos de avaliação para a variável Uréia, Jaboticabal, 2012.

VARIÁVEL URÉIA (UR)							
M1		M2		M3		M4	
Grupos	Valor de p	Grupos	Valor de p	Grupos	Valor de p	Grupos	Valor de p
GC- GG	=0,6881	GC- GG	= 0,1254	GC- GG	=0,0783	GC-GG	= 0,4700
GS- GG	=0,6584	GS-GG	= 0,0010*	GS-GG	=0,7782	GS-GG	= 0,0280*
GC- GS	=0,2366	GC-GS	= 0,0442*	GC-GS	=0,2353	GC-GS	= 0,2166

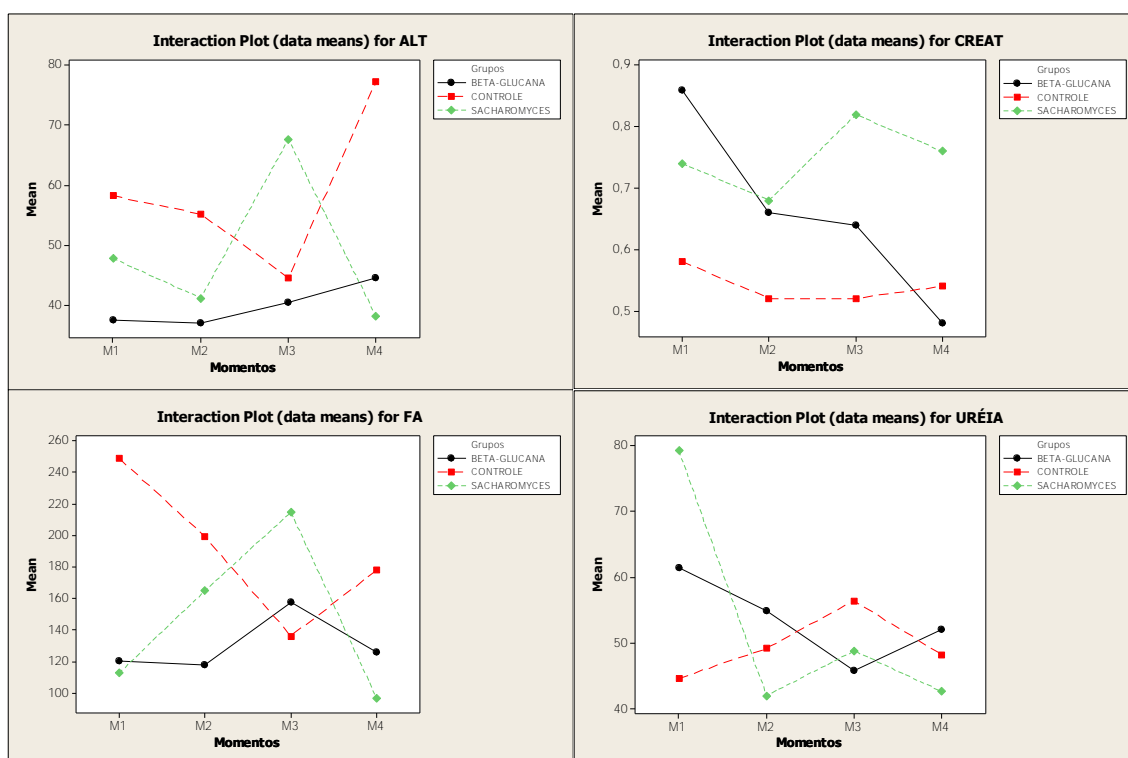


FIGURA 2: Comportamento dos valores médios obtidos para ALT, FA, Uréia e Creatinina em Ratos dos grupos Controle, Beta-glucana e Sacharomyces em diferentes momentos do protocolo experimental. Jaboticabal, 2012.

Para Sandvik et al. (2007) após administração oral e sistêmica de beta-glucana em ratos em choque séptico induzido houve diminuição no nível plasmático de uréia comparado ao grupo controle sem suplementação.

Apesar de todos os animais estarem dentro do mesmo regime hídrico e alimentar, o comportamento dessa enzima sofreu variações importantes, tendo em vista que os animais suplementados demonstraram uma diminuição dos valores ao longo dos momentos, porém o aumento inicial corresponde justamente ao período, M1, 10 dias após o fim da imunossupressão com o glicocorticoide (Figura 2).

Para Coussa et al. 2010, utilizaram o *Saccharomyces cerevisiae* em microcápsulas em ratos urêmicos, e obeteram diminuição nas concentrações de uréia ao longo de um período de tratamento de oito semanas, logo após a interrupção do tratamento, o aumento das concentrações de ureia foi evidenciado.

5.3 Perfil Eletroforético

Com relação à análise individual da variável proteína total apenas o grupo *Sacharomyces cerevisiae* apresentou diferença estatística, é possível observar que após o início da suplementação o comportamento é de elevação até o momento M3 e posteriormente um declínio nos valores de forma abrupta até o M4, mesmo mantendo-se por todo período a mesma dose de levedura (Tabela 13).

Tabela 13: Comparação dos momentos M1 e M4 entre M2 e M3 para variável Proteína total (PT). Jaboticabal, 2012.

Grupo (GC)		Grupo (GS)		Grupo (GG)	
Momentos	Valor de p*	Momentos	Valor de p*	Momentos	Valor de p*
M1-M2	0,9579	M1-M2	0,9134	M1-M2	0,7282
M1-M3	0,8269	M1-M3	0,0060*	M1-M3	0,6916
M1-M4	0,9999	M1-M4	0,9999	M1-M4	0,9581
M2-M3	0,9839	M2-M3	0,0016*	M2-M3	0,9999
M2-M4	0,9646	M2-M4	0,9280	M2-M4	0,9472
M3-M4	0,8413	M3-M4	0,0054*	M3-M4	0,9286

*diferença significativa

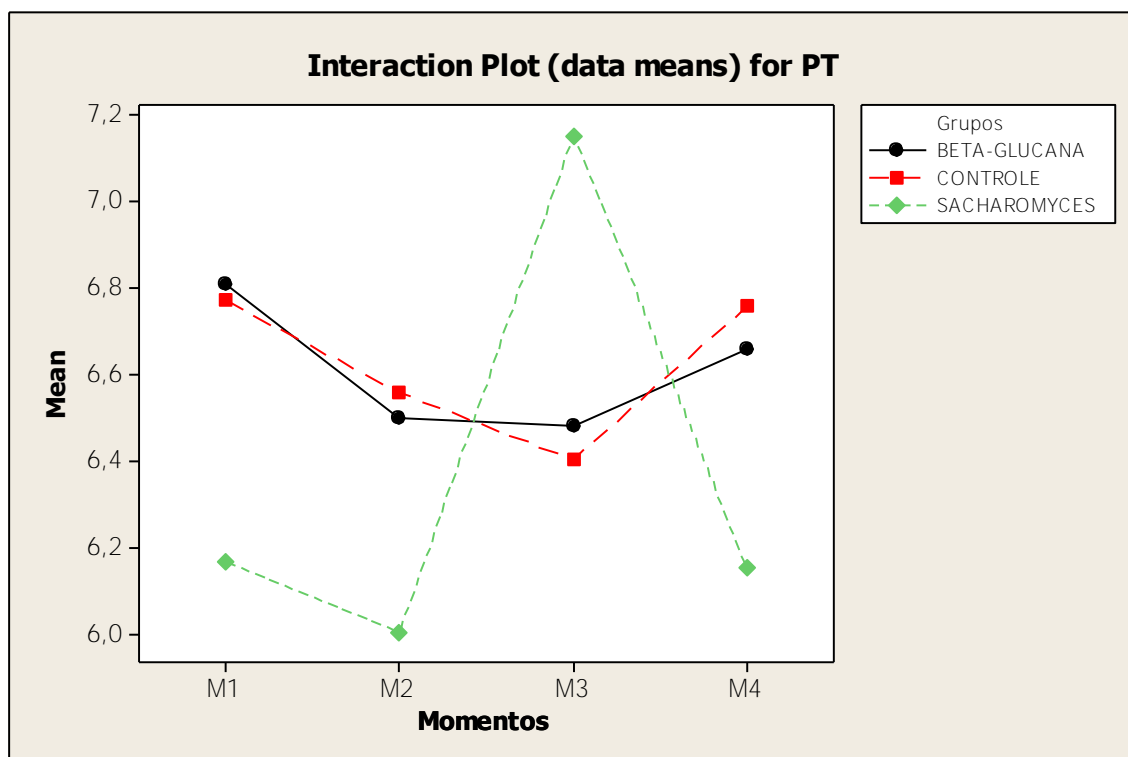


FIGURA 3: Comportamento dos valores médios obtidos para Proteína Total em Ratos dos grupos Controle, Beta-glucana e Sacharomyces em diferentes momentos do protocolo experimental. Jaboticabal, 2

Resultados semelhantes foram relatados por Signor et al. (2010) que após suplementação em peixes com *Saccharomyces cerevisiae*, constataram menor concentração da proteína total.

As variações dentro dos grupos controle e Beta-glucana não representaram diferença significativa. Assim como a avaliação da interação entre os grupos não apresentaram diferença ($p \leq 0,05$).

Oba et al. (2011) também puderam constatar que em *Tambaqui Colossoma macropomum* a suplementação com *Saccharomyces cerevisiae* não proporcionou alteração dos níveis de proteína plasmática.

A proteína total diminui de forma intensa independente do grupo, o efeito da suplementação é perceptível no grupo tratado com *Sacharomyces cerevisiae*, porém o mesmo não se manteve a apesar da mesma manutenção de dose (Figura 3).

Porém para Signor et al. (2010) os valores de proteína plasmática, apesar da pouca estimulação que o efeito da suplementação com essa levedura provocou, ao mesmo tempo sua mensuração corroborou para avaliar a condição de saúde dos peixes.

Com intuito de avaliar o afeito imunomodulador e conseqüentemente a resposta inata, realizou-se o proteínograma sérico, para melhor compreensão dos resultados as proteínas foram subdivididas em de fase aguda negativa e positiva (Tabela 14).

Tabela 14: Valores médios obtidos para a análise Proteínograma sérico de todos os grupos e em diferentes momentos, Jaboticabal, 2012.

	CONTROLE				BETA-GLUCANA				SACHAROMYCES			
	M1	M2	M3	M4	M1	M2	M3	M4	M1	M2	M3	M4
PT	6,77	6,55	6,4	6,76	6,81	6,5	6,48	6,66	6,16	6	7,15	6,15
IgA	213,7	205,61	308,64	408,38	353,94	271,12	127,18	208,44	274,39	369,17	348,67	269,89
Cer	22,04	116,43	82,16	26,25	149,45	76,16	238,16	290,2	22,77	17,29	50,37	124,13
Trans	399,99	357,54	364,65	357,23	477,81	367,46	510,86	447,81	419,29	428,79	411,26	573,92
Alb	3715,91	3665,61	3263,48	3643,64	3778,65	3598,31	3639,62	3707,28	3546,73	3292,29	3874,89	3402,63
Antripsina	612,52	672,37	628,48	711,68	692,63	499,09	634,12	580,11	663,69	665,28	847,74	580,75
IgG- CDP	537,15	442,01	542,75	398,04	368,84	553,42	317,4	316,6	370,58	345,95	504	330,57
HAPT	17,4	14,68	23,67	38,1	24,12	49,44	14,92	15,63	32,39	21,4	14,68	22,47
ALFA1- GLIC-ÁC	8,93	22,37	14,69	12,42	23,57	39,94	40,53	32,81	13,66	16,05	9,86	18,48
IgG CDL	453,05	426,03	378,16	307,27	317,01	396,91	278,01	356,83	302,48	308,7	437,56	185,46
23 kDa	91,69	46,38	42,59	57,18	35,04	45,41	14,55	27,77	65,53	44,91	86,93	104,39

Frente a uma injúria o fígado responde produzindo um grande número de PFAs. Ao mesmo tempo, a produção de uma série de outras proteínas é reduzida. Estas são conhecidas como PFAs "negativas". Nesta categoria se enquadram a albumina, a transferrina, a transtiretina, a transcortina e a proteína de ligação do retinol segundo Jain et al., (2011).

Com relação às proteínas de fase aguda negativas, os níveis de albumina, apenas o grupo suplementado com levedura *Sacharomyces cerevisiae*, apresentou variações significativas durante o período avaliado, percebe-se uma crescente nos valores analisados a partir do momento M2 até M3 e posteriormente um declínio até M4 (Tabela 15).

Tabela 15: Comparação dos momentos M1 e M4 entre M2 e M3 para variável albumina. Jaboticabal, 2012.

Grupo (GC)		Grupo (GS)		Grupo (GG)	
Momentos	Valor de p*	Momentos	Valor de p*	Momentos	Valor de p*
M1-M2	0,9955	M1-M2	0,3038	M1-M2	0,6619
M1-M3	0,2076	M1-M3	0,1308	M1-M3	0,8097
M1-M4	0,9872	M1-M4	0,7369	M1-M4	0,9672
M2-M3	0,2950	M2-M3	0,0037*	M2-M3	0,9932
M2-M4	0,9996	M2-M4	0,8597	M2-M4	0,8962
M3-M4	0,3402	M3-M4	0,0186 *	M3-M4	0,9718

* valores significativos

Nesse sentido para Nascimento et al.,(2006) o uso de probióticos promoveu em ratos Wistar adultos, após laparotomia com secção e anastomose do cólon esquerdo aumento de globulinas, inclusive albumina.

O aumento observado nos níveis de albumina, após a estimulação com *Sacharomyces cerevisiae*, deve ser considerado benéfico, tendo em vista a importância desta proteína frente a injúria tecidual. Para Rastmanesh (2011) um baixo nível de albumina confere maior mortalidade e morbidade.

De acordo com estudos realizados por Rastmanesh (2011) fornecer alimentação adequada e o uso de probióticos promoveria rápidas mudanças sistêmicas melhorando os níveis de albumina.

Lembrando-se de estudo Fukushima et al., (2007) observaram aumento da albumina após administração de probiótico em pacientes em tratamento em Unidade de Terapia Intensiva, assim como o aumento significativo dos níveis de hemoglobina e TNF- α .

Na sequência das avaliações das betaglobulinas os valores de transferrina apresentaram alterações relevantes dentro do grupo controle (S) do momento M1 em relação M2 e M3 à M4, sendo possível ainda verificar a diferença de M2 em relação M3 e M4. (Figura 4).

Já no grupo *Sacharomyces cerevisiae* observou-se diferença estatística dentro dos momentos M1 em relação ao M4, de M3 à M4 também. Observa-se que apenas esse grupo manifestou um aumento significativo da transferrina (Tabela 16).

Tabela 16: Comparação dos momentos M1 e M4 entre M2 e M3 para variável Transferrina. Jaboticabal, 2012.

Grupo (GC)		Grupo (GS)		Grupo (GG)	
Momentos	Valor de p*	Momentos	Valor de p*	Momentos	Valor de p*
M1-M2	0,8451	M1-M2	0,9945	M1-M2	0,3546
M1-M3	0,0272 *	M1-M3	0,9966	M1-M3	0,9555
M1-M4	0,0360 *	M1-M4	0,0049*	M1-M4	0,9422
M2-M3	0,0052 *	M2-M3	0,9676	M2-M3	0,1622
M2-M4	0,0069 *	M2-M4	0,0082*	M2-M4	0,6702
M3-M4	0,9989	M3-M4	0,0032 *	M3-M4	0,7118

* valores significativos

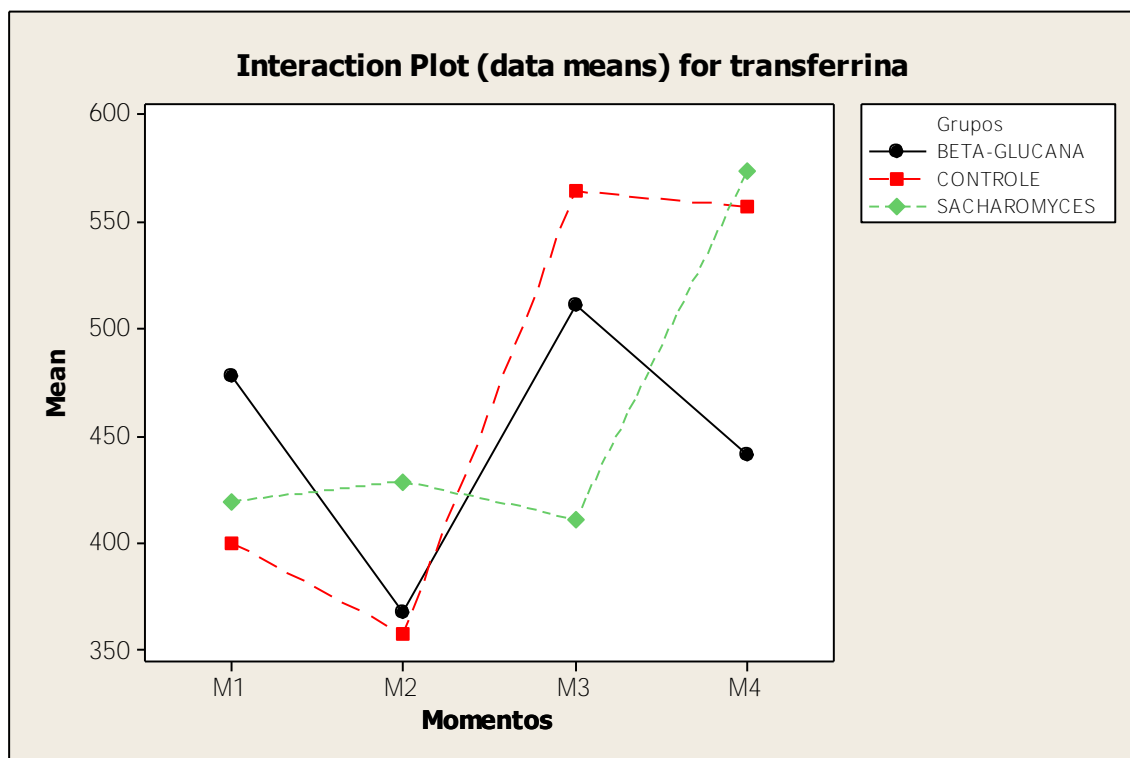


FIGURA 4: Comportamento dos valores médios obtidos para Transferrina em Ratos dos grupos Controle, Beta-glucana e Sacharomyces em diferentes momentos do protocolo experimental. Jaboticabal, 2012.

Considerando as propriedades da transferrina esse aumento induzido no grupo suplementado pode ser benéfico, segundo Tizard, (2008) tendo em vista sua atividade antibacteriana e anti-viral, isso se deve principalmente a liberação da interleucina-1 produzida por macrófagos, durante o dano tecidual, desta forma estimula a secreção de transferrina.

Nesse sentido as PFAs positivas, ou seja, as que apresentam elevação da concentração sérica na inflamação, aqui avaliadas foram, a ceruloplasmina (CP), a haptoglobina (Hp), a alfa-1 antitripsina e alfa-1 glicoproteína ácida (GPA).

No que se refere aos valores da ceruloplasmina é visível dentro grupo Beta- glucana logo após o 17° dia de estimulação, um aumento progressivo a partir do momento M2 e persistindo até M4 (Tabela 17) em relação ao grupo controle (GC), no momento M2 o controle (GC) apresentou um declínio importante dos níveis dessa proteína, porém no mesmo momento o grupo tratado com estimulação pela beta-glucana (GG) iniciou uma curva de aumento progressivo até momento M4. (Figura 5)

Tabela 17: Comparação dos momentos M1 e M4 entre M2 e M3 para variável Ceruloplasmina . Jaboticabal, 2012.

Grupo (GC)		Grupo (GS)		Grupo (GG)	
Momentos	Valor de p*	Momentos	Valor de p*	Momentos	Valor de p*
M1-M2	0,9579	M1-M2	0,9134	M1-M2	0,7282
M1-M3	0,8269	M1-M3	0,0060*	M1-M3	0,6916
M1-M4	0,9999	M1-M4	0,9999	M1-M4	0,9581
M2-M3	0,9839	M2-M3	0,0016*	M2-M3	0,9999
M2-M4	0,9646	M2-M4	0,9280	M2-M4	0,9472
M3-M4	0,8413	M3-M4	0,0054*	M3-M4	0,9286

* valores significativos

Quanto a interação entre os grupos Beta- Glucana e *Sacharomyces cerevisiae* houve diferença estatística nos momentos M1, M3 e M4, sendo possível observar os valores no grupo GG sempre superiores em relação GS (Tabela 18).

Tabela 18: Comparação entre os diferentes grupos e os momentos de avaliação para a variável Ceruloplasmina, Jaboticabal, 2012.

VARIÁVEL Ceruloplasmina							
M1		M2		M3		M4	
Grupos	Valor de p	Grupos	Valor de p	Grupos	Valor de p	Grupos	Valor de p
GC- GG	=0,0416*	GC-GG	= 0,7155	GC- GG	=0,0705	GS-GG	= 0,001 *
GS- GG	0,02 *	GS-GG	=0,5002	GS-GG	0,021 *	GS-GG	= 0,00 *
GC- SS	= 0,9998	GC-GS	= 0,1683	GC-GS	=0,8722	GC-GS	= 0,2320

* valores significativos

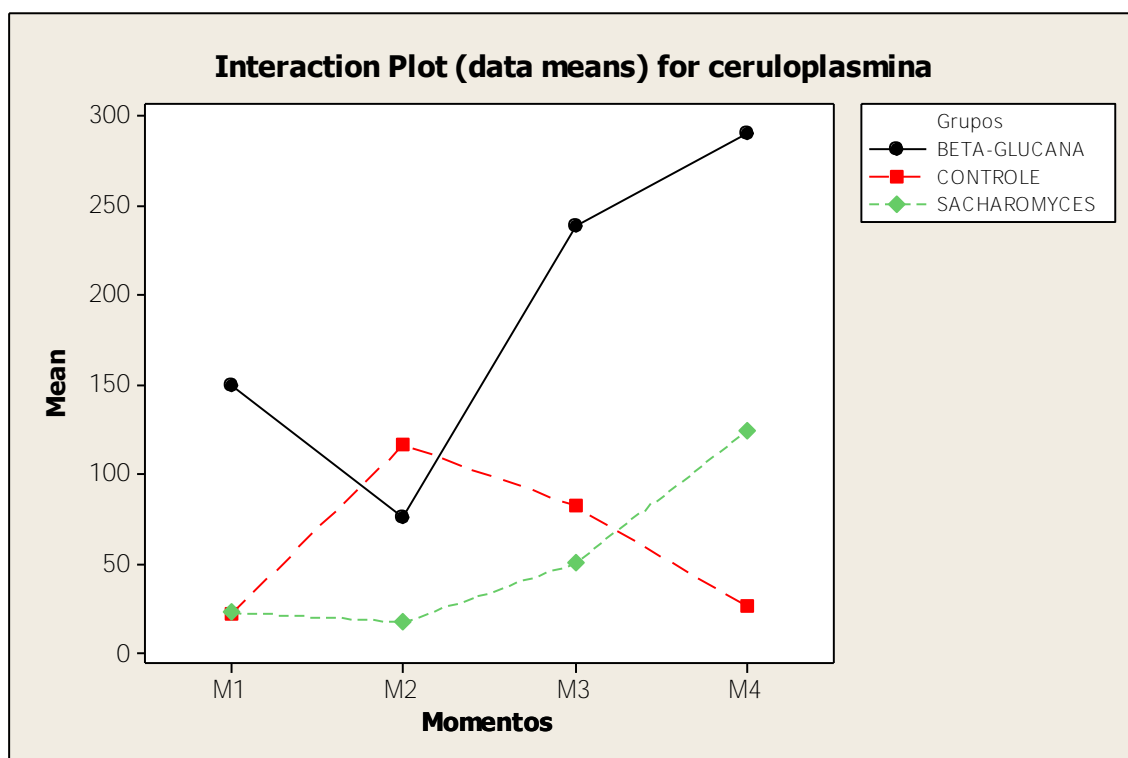


FIGURA 5: Comportamento dos valores médios obtidos para Ceruloplasmina em Ratos dos grupos Controle, Beta-glucana e Sacharomyces em diferentes momentos do protocolo experimental. Jaboticabal, 2012.

A importância desta elevação da ceruloplasmina e manutenção durante todo período de suplementação com a Beta- glucana segundo Welch (2002) principalmente pela sua característica antioxidante ao se ligar e carrear o cobre e o ferro prevenindo o processo de oxidação catalisada por estes minerais, durante o processo inflamatório intenso.

No entanto para Harris (2004) o aumento da ceruloplasmina pode caracterizar em paciente oncológicos, o aumento do cobre sérico o que favoreceria a neoangiogênese tumoral, porém neste ensaio apenas o grupo suplementado com Beta- glucana apresentou um aumento significativo frente ao grupo controle.

Para Saad (2006) em muitos processos inflamatórios seja de origem neoplásica ou não, os probióticos modulam o sistema imunológico desencadeando uma resposta inflamatória não prejudicial.

Dentro do mesmo contexto apenas o grupo Beta-glucana apresentou diferença em relação ao controle para proteína Haptoglobina, se comportando com pico de elevação em M2 foi o ponto de maior concentração dessa proteína e posteriormente a esse episódio os valores decaíram progressivamente até M3 e mantendo-se de forma linear até M4, apesar da estimulação e dose ser sempre a mesma durante todo o período (Figura 6).

Tabela 19: Comparação entre os diferentes grupos e os momentos de avaliação para a variável Haptoglobina, Jaboticabal, 2012.

VARIÁVEL Haptoglobina							
M1		M2		M3		M4	
Grupos	Valor de p	Grupos	Valor de p	Grupos	Valor de p	Grupos	Valor de p
GC- GG	= 0,6575	GC-GG	= 0,3201	GC- GG	= 0,5241	GC-GG	= 0,0205*
GS- GG	= 0,5356	GS-GG	= 0,4647	GS-GG	= 0,9994	GS-GG	= 0,6119
GC- GS	= 0,1590	GC-GS	= 0,9541	GC-GS	= 0,5068	GC-GS	= 0,1108

* valores significativos

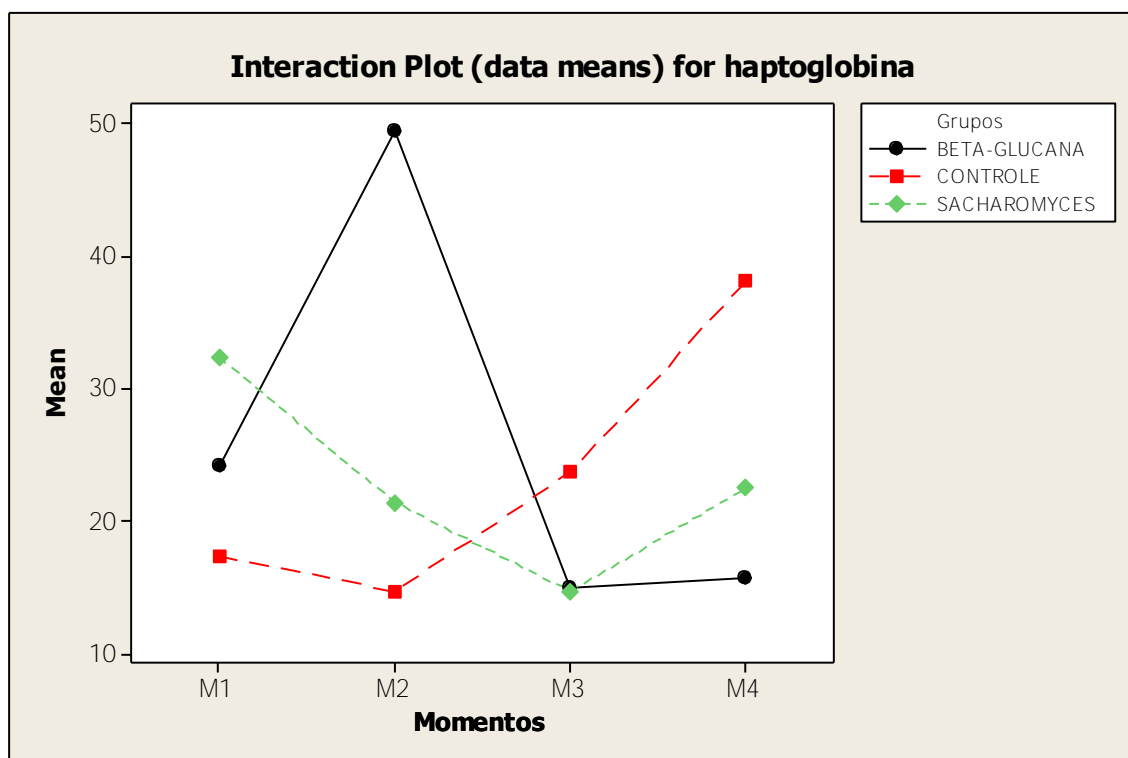


FIGURA 6: Comportamento dos valores médios obtidos para Haptoglobina em Ratos dos grupos Controle, Beta-glucana e Sacharomyces em diferentes momentos do protocolo experimental. Jaboticabal, 2012.

O comportamento de elevação ocorre logo após a exposição dos animais ao uso do glicocorticóide, de acordo com Martinez-subiela et al., (2004) e McGrotty et al., (2005) a Haptoglobina é particularmente sensível a esta droga, sendo encontrado por esses autores elevações significativas logo após o tratamento.

Mas é perceptível a influência das suplementações, tanto *Saccharomyces cerevisiae* quanto a Beta-glucana promoveram ao longo do tratamento variações nos níveis desta proteína. De acordo com Dritz et al. (1995) a imunomodulação deste suplemento foi verificada sob a influência provocada em suínos, neste ensaio houve uma redução ($P < 0,10$) haptoglobina no plasma, em um período avaliado de 28 dias após o desmame.

No entanto o seu aumento inicial segundo Bush, (2004) em todos grupos pode ser justificado pela a inflamação tecidual em todos os animais, principalmente pelo quadro leucopênico induzido decorrente do uso do glicocorticóide.

Apenas o grupo suplementado com levedura *Sacharomyces cerevisiae*, apresentou alterações significativas durante o período avaliado para α 1-antitripsina nos diferentes momentos avaliados. Verifica-se uma elevação no momento M2 até M3 e a partir de então uma abrupta diminuição até o final da experimentação (Figura 7).

Essa diminuição α 1- antitripsina encontrada após utilização da levedura, pode ser justificada segundo Búrigo et al. (2007) pela ação anti-inflamatória dos prebióticos, o efeito do FOS está provavelmente ligado às modificações induzidas pela microbiota intestinal.

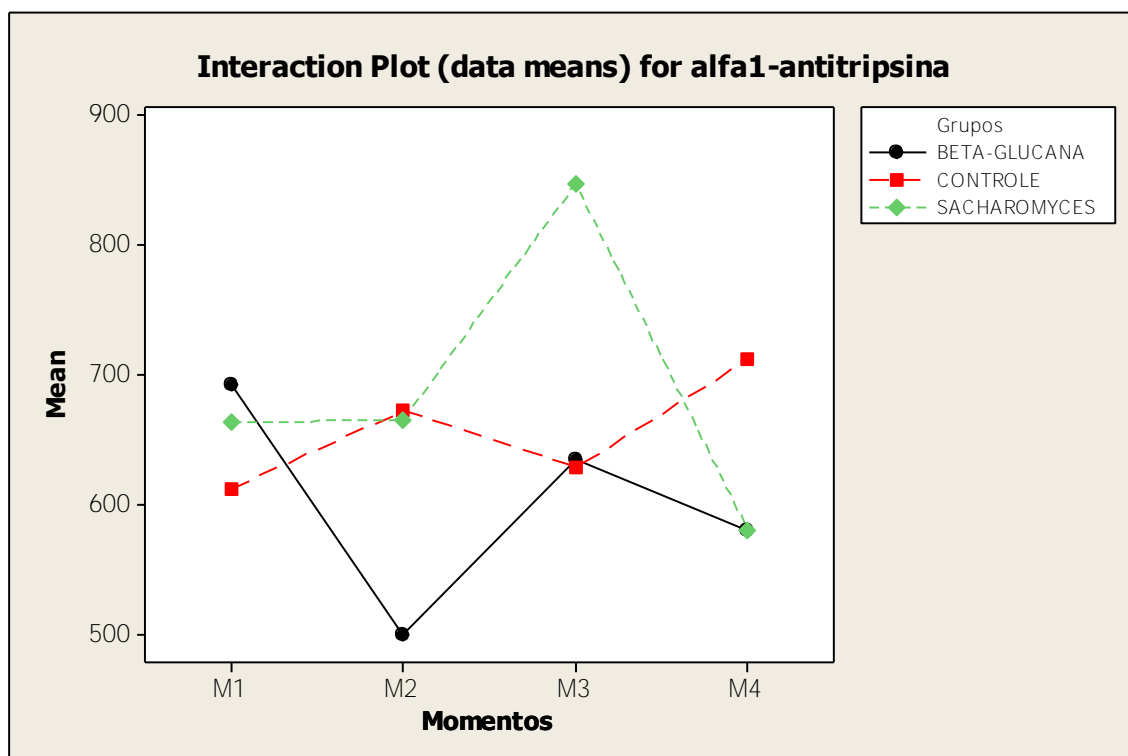


FIGURA 7: Comportamento dos valores médios obtidos para α 1- antitripsina em Ratos dos grupos Controle, Beta-glucana e Sacharomyces em diferentes momentos do protocolo experimental. Jaboticabal, 2012.

No sentido inverso o aumento significativo da α 1- antitripsina no início da suplementação, pode estar correlacionado há dois fatores o uso inicialmente do glicocorticoide, injuria tecidual e conseqüentemente processo inflamatório agudo, desta forma é esperado seu aumento segundo Kaneko et al., (2008).

Contudo Naoum et al., (1999) ressaltaram outra propriedade desta proteína que justificaria seu aumento, sua função inibidora de proteases com a função de neutralizar as atividades das enzimas proteolíticas, durante um processo inflamatório agudo.

Apesar de todas as variações sofridas dentro do grupo *Saccharomyces cerevisiae*, com aumento significativo, porém ao comparar entre grupos em diferentes momentos, apesar da tendência dos valores, serem de uma

crecente também, não houve diferença estatística para o nível de significância a 5%.

Os índices para α - 1 Glicoproteína ácida apresentaram diferença significativa quando analisada a interação entre os grupos controle (GC) em relação ao Beta-glucana (GG), observa-se logo no momento M1 um aumento gradativo desta proteína de fase aguda nos dois grupos, porém GG inicia-se sob valores superiores, essa tendência durante todo período de suplementação se manteve até M3, já o grupo S logo no M2 demonstrou um declínio significativo e manteve-se sem maiores variações até M4 (Tabela 20).

Estatisticamente houve diferença, para nível de significância de 5%, entre o grupo Beta- glucana e *Sacharomyces cerevisae*, o comportamento sérico no momento M3 se diferem (Tabela 20). No grupo suplementado com Beta-glucana nesse momento ocorre uma diminuição relevante desta proteína, porém o comportamento das unidades experimentais que receberam *Sacharomyces cerevisae* apresentou uma elevação e manteve assim até o final da experimentação.

Tabela 20: Comparação entre os diferentes grupos e os momentos de avaliação para a variável α - 1 Glicina, Jaboticabal, 2012.

VARIÁVEL α - 1 Glicina							
M1		M2		M3		M4	
Grupos	Valor de p	Grupos	Valor de p	Grupos	Valor de p	Grupos	Valor de p
GC- GG	=0,0078*	GC-GG	=0,7301	GC- GG	=0,0010*	GC-GG	=0,0314*
GS- GG	=0,0661	GS-GG	=0,5664	GS-GG	=0,0002*	GS-GG	=0,1405
GC- GS	=0,4771	GC-GS	=0,9592	GC-GS	=0,6474	GC-GS	=0,6686

* valores significativos

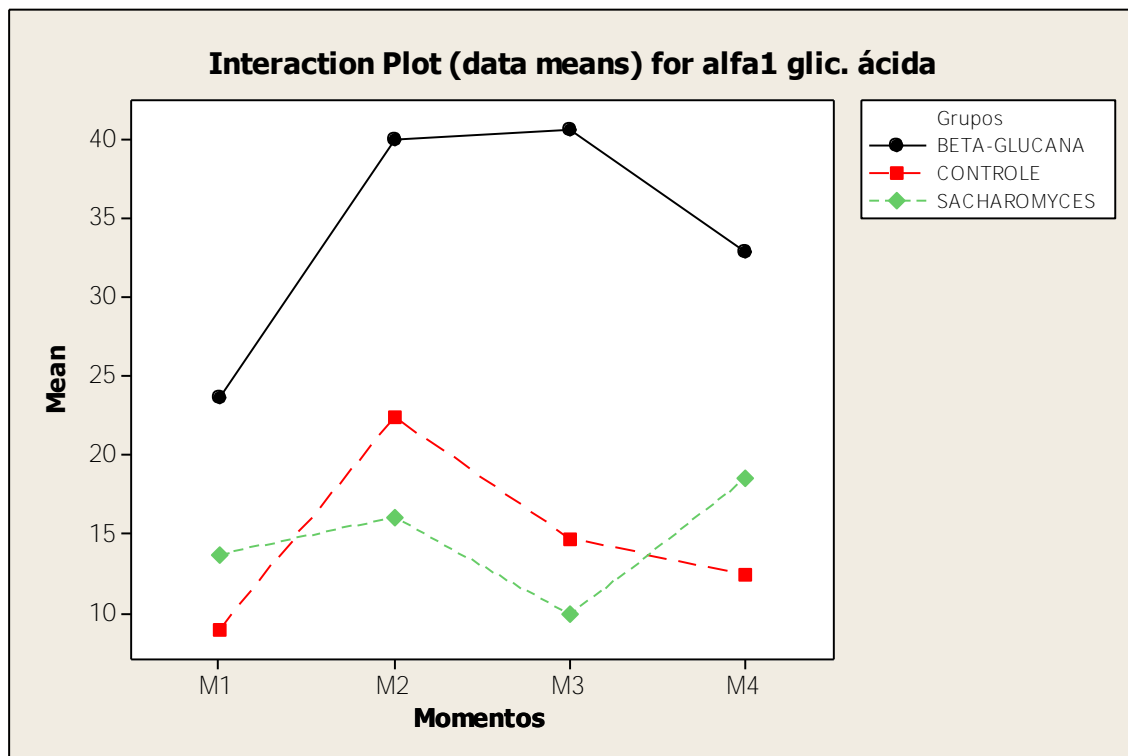


FIGURA 8: Comportamento dos valores médios obtidos para α -1 Glicina em Ratos dos grupos Controle, Beta-glucana e Sacharomyces em diferentes momentos do protocolo experimental. Jaboticabal, 2012.

Essa elevação da α - 1 Glicoproteína Ácida ao final da suplementação de acordo com Kogika et al.,(2003) ocorre pois o seu aumento é mais lento, mas também acaba por permanecer elevada por mais tempo do que a proteína de fase aguda principal, o que possibilitaria constatar a fase de transição entre aguda e crônica.

O aumento das alfa-1-globulinas (antitripsina e glicoproteína ácida) em todos os grupos é estimulado principalmente pela interleucina 1 (IL-1) e caracterizam-se por elevarem-se precocemente após infecção ou lesão tecidual e normalizarem-se rapidamente após o término do estímulo.

No entanto, o decréscimo ocorre no transcorrer da experimentação, considerando o efeito das suplementações Tzianabos, (2000) afirma que essa capacidade se deve a habilidade para reduzir respostas pró-inflamatórias com o aumento dos níveis de mediadores anti-inflamatórios, como IL-10 e Proteína Quimiotática de Monócitos-1 (MCP-1).

No que se refere ao comportamento da imunoglobulina A (IgA) no grupo controle apresentou um aumento significativo de M1em relação ao M3, esse período corresponde ao 17º dia após indução da leucopenia pelo glicocorticóide dexametasona, nos outros grupos suplementados não se constatou essa variação (Tabela 21).

Tabela 21: Comparação dos momentos M1 e M4 entre M2 e M3 para variável Imunoglobulina A. Jaboticabal, 2012.

Grupo (GC)		Grupo (GS)		Grupo (GG)	
Momentos	Valor de p*	Momentos	Valor de p*	Momentos	Valor de p*
M1-M2	0,9579	M1-M2	0,9134	M1-M2	0,7282
M1-M3	0,8269	M1-M3	0,0060*	M1-M3	0,6916
M1-M4	0,9999	M1-M4	0,9999	M1-M4	0,9581
M2-M3	0,9839	M2-M3	0,0016*	M2-M3	0,9999
M2-M4	0,9646	M2-M4	0,9280	M2-M4	0,9472
M3-M4	0,8413	M3-M4	0,0054*	M3-M4	0,9286

* valores significativos

Tabela 22: Comparação entre os diferentes grupos e os momentos de avaliação para a variável IgA, Jaboticabal, 2012.

VARIÁVEL Imunoglobulina A							
(IgA)							
M1		M2		M3		M4	
Grupos	Valor de p	Grupos	Valor de p	Grupos	Valor de p	Grupos	Valor de p
GC- GG	=0,1198	GC-GG	= 0,6325	GC- GG	=0,0376*	GC-GG	= 0,0526
GS- GG	=0,4641	GS-GG	= 0,3809	GS-GG	=0,0123*	GS-GG	= 0,7036
GC- GS	=0,6287	GC-GS	= 0,0922	GC-GS	=0,8100	GC-GS	= 0,2024

* valores significativos

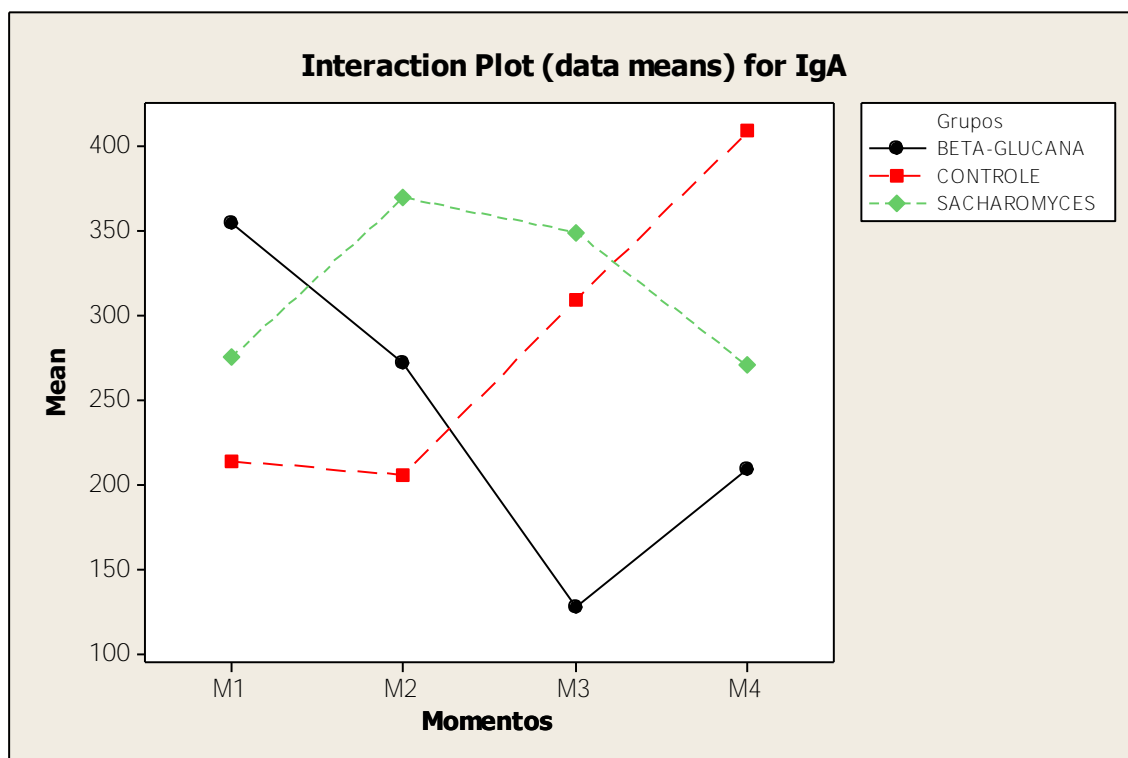


FIGURA 9: Comportamento dos valores médios obtidos para Imunoglobulina A (IgA) em Ratos dos grupos Controle, Beta-glucana e Sacharomyces em diferentes momentos do protocolo experimental. Jaboticabal, 2012.

Quanto à interação dos grupos houve diferença relevante estatisticamente entre os grupos controle em relação a beta-glucana e também Sacharomyces e Beta-glucana, para nível de significância de ($p \leq 0,05$) (Tabela 22).

Houve uma diminuição gradativa dos níveis de IgA no grupo Beta-glucana até o momento M3, no entanto o grupo controle apresentou efeito inverso, aumentando progressivamente, a partir do momento M2 (Figura 9).

No grupo controle esse aumento se inicia 17 dias após o uso de corticoide e se manteve durante todo período de observação, já nos grupos

tratados há momentos, como no grupo Beta-glucana se observa uma tendência nos valores sempre baixos no transcorrer do período, no entanto em M3 há novamente uma progressão desses valores.

Para Stuyven et al.,(2010), o efeito da administração oral de 1,3-1,6-glucanos em cães domésticos, no final deste período, a imunoglobulina A (IgA) diminuiu significativamente no grupo tratado com o glucano comparado ao do grupo controle, semelhante ao encontrado neste ensaio.

Quanto ao grupo *Sacharomyces cerevisiae* o comportamento da IgA se distingui dos outros grupos, pois é possível logo no início sugerir os efeitos iniciais da suplementação mantendo-se em uma margem crescente dos valores de IgA, no entanto já no momento M2 observa-se uma redução do nível dessa imunoglobulina.

Diferentemente do encontrado neste estudo Reid et al., (2004) ao associar a fração 1,3- 1,6- Beta- glucana como adjuvante em vacinas, constatou o aumento significativo de IgA.

Tendo em vista os valores encontrados para imunoglobulinas G de cadeia pesada (IgG P), em apenas os momentos M2 em relação M3 e entre M2 e M4, observou-se no grupo Beta-glucana diferença significativa. Quanto ao comportamento desta proteína no M2 há um aumento crescente até M3 e posteriormente um declínio importante ao final de M4.

Esse aumento da imunoglobulina G após a suplementação também foi constatado Kamimura et al., (2006) esse aumento se deve a capacidade dessas substâncias promoverem a proliferação e a adesão no intestino e

consequentemente estimularam as células do sistema imune a promoverem o aumento desta imunoglobulina.

A última proteína de fase aguda que apresentou variações significativas ao longo da experimentação corresponde à imunoglobulina G (IgG) de cadeia leve, sua apresentação nos grupos estimulados pela suplementação, seja com Beta-glucana ou com *Sacharomyces cerevisiae*, se distinguiram drasticamente do grupo controle (Figura 10).

Corroborando com achados do presente estudo Savage et al., (1996) Ferket (2004) o *Sacharomyces cerevisiae* também promoveu um aumento de IgG, eles classificaram que a fração do mananoligossacarídeos em aves promoveu a estimulação do sistema imune.

O grupo GC se apresentou desde o momento M1 até M4 com uma diminuição gradativa dos níveis de IgG de cadeia leve, o que difere do comportamento do grupo GS que revela a partir do momento M2 uma elevação até momento M3, período esse que corresponde ao 37° dia de estimulação (Tabela 23).

Já em relação ao grupo Beta-glucana é possível constatar também variações dessa proteína, primeiramente ocorre em M2 o ápice do nível sérico, ou seja, no 27° dia de suplementação, posteriormente o declínio até M3 e a partir de então novamente uma estimulação até M4, essas alterações apresentaram nível de significância quanto às interações entre os grupos (Figura 10).

Tabela 23: Comparação entre os diferentes grupos e os momentos de avaliação para a variável IgG- cadeia leve, Jaboticabal, 2012.

VARIÁVEL IgG- cadeia leve							
M1		M2		M3		M4	
Grupos	Valor de p	Grupos	Valor de p	Grupos	Valor de p	Grupos	Valor de p
GC- GG	=0,0810	GC-GG	= 0,9292	GC- GG	=0,2528	GC-GG	= 0,5713
GS- GG	=0,9648	GS-GG	= 0,5430	GS-GG	=0,0494*	GS-GG	= 0,0099*
GC- GS	=0,0520	GC-GS	= 0,3492	GC-GS	=0,5933*	GC-GS	= 0,0627

* valores significativos

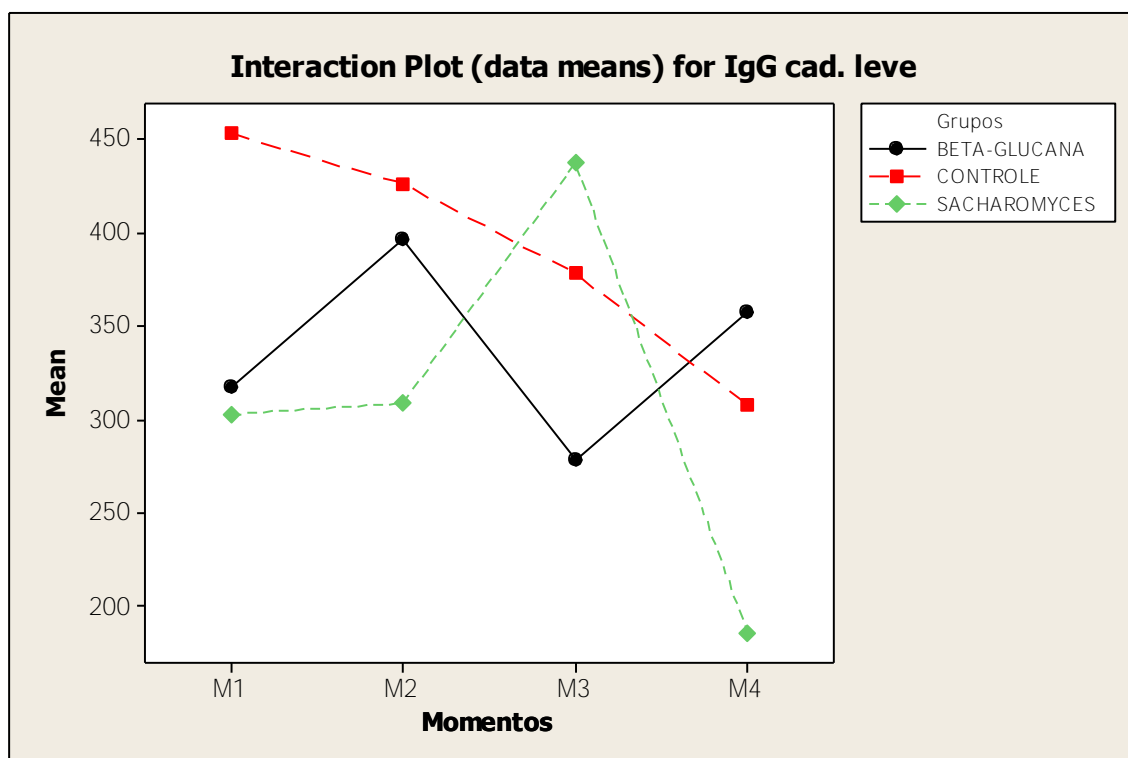


FIGURA 10: Comportamento dos valores médios obtidos para Imunoglobulina G cadeia Leve em Ratos dos grupos Controle, Beta-glucana e Sacharomyces em diferentes momentos do protocolo experimental. Jaboticabal, 2012.

O grupo beta-glucana em relação à imunoglobulina G de cadeia leve apesar de um comportamento irregular com uma diminuição rápida a partir do início da terapia em M1, sete dias após estimulação com dexametasona, e em M3 novamente iniciou uma curva de aumento, há uma tendência no padrão observado de níveis mais significativos de IgG quando comparados em relação ao grupo controle e *Sacharomyces cerevisiae*.

Yun et al., (1997) também puderam constatar, em camundongos imunossuprimidos e infectados por *Eimeria sp.* que os animais que não receberam o tratamento com beta-glucana mostraram uma mortalidade de 50% maior, já os tratados todos apresentaram IgG total, IgG1, IgG2a, IgM e IgA no soro níveis significativamente maiores.

6 CONCLUSÕES

As suplementações de *Sacharomyces Cerevisae* e Beta- Glucana, não promoveram variações nos valores referentes ao eritrograma.

Com relação ao leucograma houve uma estimulação e conseqüentemente um aumento, após a suplementação com o *Sacharomyces Cerevisae* e Beta- Glucana respectivamente em relação ao grupo controle, para as variáveis leucócitos, neutrófilos e linfócitos.

As variações ocorridas nos marcadores de função renal (Creatinina e Uréia), não foram significativas frente à utilização ou não da suplementação e não promoveram alterações na funcionalidade deste órgão.

A suplementação não promoveu alterações nos valores de FA estatisticamente significativos, apenas o grupo no *Sacharomyces Cerevisae* promoveu uma variação nos valores ALT.

As proteínas de fase aguda variaram durante todo o período de suplementação:

- ✓ As proteínas de fase aguda negativa variaram de forma significativa no grupo *Sacharomyces Cerevisae*.
- ✓ As proteínas de fase aguda positiva sofreram variações diretas durante o período de suplementação com o *Sacharomyces Cerevisae* e Beta- Glucana.
- ✓ As imunoglobulinas foram influenciadas significativamente pelas suplementações.

Portanto é possível afirmar que ambas as suplementações, Beta – glucana e ou o *Sacharomyces cerevisiae* demonstraram sua capacidade imunoestimulatória.

7 REFERÊNCIAS (ABNT 6023/2002)

ABRAMS, R. A. et al. Cyclophosphamide treatment expands the circulating hematopoietic stem cell pool in dogs. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 67, n. 5, p. 1392-1399, 1981.

ALY, S. M.; AHMED, Y. A.; GHAREEB, A. A.; MOHAMED, M. F. Studies on *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus*, as potential probiotics, on the immune response and resistance of *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections. **Fish and Shellfish Immunology**, 2008. 25 : 128-136.

ANDERSEN, M.; D'ALMEIDA, V.; KO, G.M.; KAWAKAMI, R.; MARTINS, P.J.F.; MAGALHÃES, L.E.; TUFIK, S. Princípios Éticos e Práticos do Uso de Animais de Experimentação. 1 ED. São Paulo: UNIFESP- Universidade Federal de São Paulo, 2004. 122 p.

ANDRADE, S.F. Terapêutica antineoplásica. In: _____. **Manual de terapêutica veterinária**. 2.ed. São Paulo: Roca, 2002. p.180-198. [[Links](#)]

BAINES, M.; SHENKIN, A. Lack of effectiveness of short-term Intravenous micronutrient nutrition in restoring plasma antioxidant status After surgery. **Clinical Nutrition**, New York, v. 21, n. 2, p. 145-150, 2002.

BATTAGLIA, A. M. Nutrition for the critically ill hospitalized patient. In: _____. Small animal emergency and critical care: **A manual for the Veterinary Technician**. New York: W. B. Saundersp.72-93, 2001.

BRENTANI, M. M.; COELHO, F.R.G.; IYEYASU, H.; KOWALSKI, L.P. **Bases da oncologia**. São Paulo: LEMAR, p.640,1998.

BURIGO T, FAGUNDES RLM, TRINDADE EBSM, VASCONCELOS HCFF. Efeito bifidogênico do frutooligossacarídeo na microbiota intestinal de pacientes com neoplasia hematológica. **Rev Nutr**. 2007;20:491-7.

BURKHOLDER, W. J. Metabolic rates and nutrients requirements of sick Dogs and cats. **Journal American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 206, n. 5, p. 614-618, 1995.

BUSH, B. M. Bioquímica Plasmática. In:_____ **Interpretação de resultados laboratoriais para clínicos de pequenos animais**. São Paulo: Roca, 2004, cap. 5, p.169-223.

BUTTERWICK, R. F.; TORRANCE, A. Nutrición y malnutrición en los pequeños animales hospitalizados. **Waltham Focus**, London, v. 5, n. 2, p. 15-21, 1995.

BUTTERWORTH, C. E. The skeleton in the hospital closet. **Nutrition Today**, Baltimore, v. 9, n. 4, p. 87, 1974.

C. CROCCIA. EFEITO DA DIETA À BASE DE BIOMASSA DE COGUMELO DO SOL (*Agaricus blazei*, Murrill) NO PARÊNQUIMA PULMONAR DE RATOS WISTAR SUBMETIDOS À ESTÍMULO CARCINOGENÉTICO PELA NITROSAMINA 4-METILNITROSAMINA. **Dissertação de Mestrado; /FISIOPATOLOGIA E CIÊNCIAS CIRÚRGICAS**- Universidade Estadual do Rio de Janeiro- Rio de Janeiro; 2010;

CARVALHO, C.C.D.; RÉGOB, E.W.; QUEQUE,M.; SOARES, P.C. Avaliação da proteína C reativa, fibrinogênio e leucograma em cadelas com e sem piometra. **Medicina Veterinária, Recife**, v.2, n.2, p.1-8, 2008

CONN HO, BLITZER BL. Noassociation of adrenocorticosteroid therapy and peptic ulcer. **N Eng J Med**, v. 294, p. 473-479, 1976.

CUPOLILO, S. M. N.; GOLLNER, A. M.; SOUZA, R. L. P.; GOMES, T. A. D., LIMA, V. B. R.; LIMA, T. S.; Investigação de efeitos lesivos de doses antiinflamatórias e imunossupressoras de dexametasona sobre a mucosa gástrica em camundongos. **HU rev., Juiz de Fora**, v.33, n.1, jan./mar. p.17-22, 2007.

DAVENPORT, D.J. The use of nutraceuticals in cancer therapy. **North American Veterinary Conference**, Orlando, v.20, p.7-11, 2006.

DI LUZIO, N.R.; WILLIAMS, D.L.; MCNAMEE, R.B.; EDWARDS, B.F.; KITAHAMA,A. Comparative tumorinhibitory and anti-bacterial activity of soluble and particulate glucana. **International Journal of Cancer**, v. 24, n.6, p. 773–779, 1979.

DIASIO, R.B.; LOBUGLIO, A.F. Immunomodulators: immunossuppressive agents and immunostimulants. In: Hardman JG, Limbird LE. **Goodman & Gilman's: The pharmacological basis of therapeutics**. New York: International, 1996. p. 1292-308.

Farias,T. H. V.; Probiótico na alimentação do pacu (*Piaractus mesopotamicus*): avaliação hematológica, bioquímica, imunológica e desempenho produtivo. **Dissertação de Mestrado; UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JÚLIO DE MESQUITA FILHO; CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP CAUNES – SÃO PAULO- SP**, 2012.

FERKET, P.R.; PARKS, C.W.; GRIMES, J.L. Benefits of dietary antibiotic and mannanoligosaccharide supplementation for poultry. In: MULTI-STATE POULTRY FEEDING AND NUTRITION CONFERENCE, 2002, Indianapolis. **Proceedings...**Indianapolis: University of Illinois, 2002. 22p.

FERREIRA, L. M.; HOCHMAN, B.; BARBOSA, M. V. J. **Modelos Experimentais em Pesquisa**. Acta Cirúrgica Brasileira, v. 20, p. 28-34, 2005.

GOLDSBY, R. A.; KINDT, T. J.; OSBORNE, B. A. **Kuby imunologia**. 4. Ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2002. 35p.

GOODRIDGE, H.S.; WOLF, A.J.; UNDERHILL, D.M. β -glucan recognition by the innate immune system. **Immunological Reviews**, v. 230, p. 38–50, 2009.

HARRIS E. D. A requirement for copper in angiogenesis. **Nutr Rev**; 2004. 62(2): 60-4. BOHN; BeMILLER, Nutrition, New York, v. 21, n. 2, p. 145-150, 2002.1995.

HASLER, C. M. Functional foods: their role in disease in: developing new Food products for a changing prevention and health promotion. **Food Technology**. v. 52, n. 2. p. 57-62, 1998.

J. F. Junior, C. A. R. Freire; N. F. Mendes. GLUCANA : CELULARIDADE DO SANGUE PERIFÉRICO APÓS O EMPREGO DA GLUCANA, UM IMUNOESTIMULANTE DE S.R.E., EM PACIENTES SÉPTICOS E EM VOLUNTÁRIOS SEM INFECÇÃO. <http://www.medicinacomplementar.com.br/convertido/do-0383.htm> 18/11/10

JAIN, S.; GAUTAM, V.; NASEEM, S. Acute-phase proteins: as diagnostic tool.

KALLIO R, BLOIGU A, SURCEL HM, SYRJALA H. proteína C-reativa e velocidade de sedimentação no diagnóstico diferencial entre infecções e febre neoplásicas em pacientes com tumores sólidos e linfomas. **Support Care Cancer**;v. 9 (2) p.124-8, 2001.

Kamimura MA, Baxmann A, Sampaio LR, Cuppari L. Avaliação nutricional. In: Cuppari L. Nutrição: **Nutrição Clínica no Adulto**. São Paulo: Manole; 2002. p. 71-109.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of**

KOC M, TAYSI S, SEZEN O, BAKAN N. Levels of some acute-phase proteins in the serum of patients with cancer during radiotherapy. **Biol Pharm Bull**; v.26, p.1494–7, 2003

KOGIKA, M. M.; PEREIRA, D. A.; ELIAS, F.; NOTOMI, M. K. ; DELAYTE, E. H.; KAWAHARA, R.; HAGIWARA, M. K. Determinação sérica de haptoglobina, ceruloplasmina e glicoproteína ácida em cães com gastrenterite hemorrágica. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 3, p. 513-517, 2003.

LAFLAMME, D. P. Development and validation of a body condition score system for dogs: a clinical tool. **Canine Practice**, Santa Barbara, v. 22, n. 3, p. 10-15, 1997.

LANORE,D. **Quimioterapia anticancerígena**. São Paulo: EDROCA, 2004. 191p. **Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences**, v. 3, p.118-127, 2011. **domestic animals**. 7. ed. San Diego: Academic Press, 2008. 912 p.

M. C. LOURENÇO; EFEITO DOS MANANOLIGOSSACARÍDEOS SOBRE A RESPOSTA IMUNOLÓGICA DE FRANGOS DE CORTE; **Dissertação**

Mestrado, Ciências Veterinárias, Nutrição e Alimentação Animal, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná. 2011; Curitiba-PR;

MARTINEZ-SUBIELA, S.; CERÓN, J.J. Evaluation of acute phase protein indexes in dogs with leishmaniasis at diagnosis, during and after short-term treatment. **Veterinari Medicina**, Praha, v. 50, p. 39–46, 2005.

McGROTTY, Y. L.; ARTEAGA, A.; KNOTTENBELT, C. M.; RAMSEY, I. K.; ECKERSALL, P. D. Haptoglobin concentrations in dogs undergoing trilostane treatment for hyperadrenocorticism. **Veterinary Clinical Pathology**, Santa Barbara, v. 34, n. 3, p. 255-258, 2005.

MCMILLAN DC, CANNA K, MCARDLE C. Systemic inflammatory response predicts survival following curative resection of colorectal cancer. **Br.J. Surg**; v.90 p.215–9, 2003

MOURIÑO, J.L.P.; NASCIMENTO VIEIRA.; F, JATOBÁ, A.B.; SILVA,B.C.; JESUS, G.F.A.; SEIFFERT, W.Q.; MARTINS, M.L.2011. Effect of dietary supplementation of inulin and *W.cibaria* on haemato-immunological parameters on hybrid surubim (*Pseudoplatystoma* sp), **Aquaculture Nutrition**, 17:1-8.

NAOUM, P. C. **Eletroforese: Técnicas e Diagnósticos**. 2 ed. São Paulo: Livraria Santos Editora.1999, 212 p.

NELSON, R.W.; COUTO, C.G. **Medicina interna de pequenos animais**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. 1084p. [[Links](#)]

OBA, E.T.; CORRÊA, R.O.; SANTOS, J.S.; BORGES, M., TOSTES, L.V.; MARINHO, R.G.B.; Meyer, G.; Martins Júnior, H. EFEITOS FISIOLÓGICOS DA UTILIZAÇÃO DE PROBIÓTICO NA ALIMENTAÇÃO DE TAMBAQUI, Embrapa - **Resumo em anais de congresso -ALICE; AQUACIÊNCIA**, 2010, Recife. Anais... <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/879525>.

Oral Microencapsulated Live *Saccharomyces cerevisiae* Cells for Use in Renal Failure Uremia: Preparation and In Vivo Analysis. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**; 2010; pp. 1-7.

Pelizon, AC R; Kaneno, AMVC Soares, DA Meira, A Sartori; Down-modulation of Lymphoproliferation and Interferon- γ Production by β -glucan Derived from *Saccharomyces cerevisiae*. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, Vol. 98(8): 1083-1087, December 2003 1083.

R. COUSSA, C. MARTONI, J. BHATHENA, A. M. URBANSKA, S. PRAKASH.

Reid, D. M., M. Montoya, P. R. Taylor, P. Borrow, S. Gordon, G. D. Brown, and S. Y. Wong. 2004. Expression of the beta-glucan receptor, dectin-1, on murine leukocytes in situ correlates with its function in pathogen recognition and reveals potential roles in leukocyte interactions. **J. Leukoc. Biol.** 76:86–94

REIG, A. L. C.; ANESTO, J. B. Prebióticos y probióticos, una Relación Beneficiosa. Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos. **Revista Cubana de Alimentación e Nutrición**. v. 16, n. 1, p. 63-8, 2002.

RHODUS, NL; CHENG, B; BOWLES, W; MYERS, S; MILLER, L; ONDREY, F. Proinflammatory cytokine levels in saliva before and after treatment of (erosive) oral lichen planus with dexamethasone. **Oral Dis**, v.12, n.2, p. 112-116, 2006.

ROBERFROID, M. Functional food concept and its application to Prebiotics. **Digestive and Liver Disease**. v. 34, Suppl. 2, p. 105-10, 2002.

S S Dritz, J Shi, T L Kielian, R D Goodband, J L Nelssen, M D Tokach, M M Chengappa, E Smith and F Blecha J Influence of dietary beta-glucan on growth performance, nonspecific immunity, and resistance to Streptococcus suis infection in weanling pigs. **JOURNAL ANIMAL SCIENCE** 1995, 73:3341-3350. <http://www.journalofanimalscience.org/content/73/11/3341>

Saad S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences** vol. 42, n. 1, jan./mar.,2006.

SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. São Paulo,v. 42, n.1., p.1-16, 2006.

Sandvik, A. Y.; Wang,Y. Morton, H. C.,A.; Aasen,O.; Wang, J. E. and F. E. Johansen; Oral and systemic administration of β -glucan protects against lipopolysaccharide-induced shock and organ injury in rats; Journal compilation British Society for Immunology, 2007 **Clinical and Experimental Immunology**, 148: 168–177.

SAVAGE, T.F.; COTTER, P.F. e ZAKRZEWSKA, E.I. The effect of feeding mannanoligosaccharide on immunoglobulins, plasma IgG and bile IgA of wrolstad MW male turkeys. **Poultry Science**, v.75(Suppl. 1), p.143, 1996.

Signor, A. L.; E. Pezzato, D. R. Falcon, I. G. Guimarães e M. M. Barros PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS DA TILÁPIA-DO-NILO: EFEITO DA DIETA SUPLEMENTADA COM LEVEDURA E ZINCO E DO ESTÍMULO PELO FRIO. **Ci. Anim. Bras.**, Goiânia, v. 11, n. 3, p. 509-519, jul./set. 2010.

STARLIN, N.; CHAU, I.; NORMAN, A. R.; TAIT, D.; IVESON, T.; HILL, M.; HICKISH, T.; LOFTS, F.; JODRELL, D.; CUNNINGHAM, D.. A randomized comparison between six months of bolus fluorouracil (5 FU) leucovorin (LV) and twelve weeks of protracted venous infusion (PVI) 5 FU as adjuvant treatment in colorectal cancer: an update with 5 years follow-up. **Proc Am Soc Clin Oncol**. 23:25. (2004).

Stuyven, ; E. F. Verdonck, I. Van Hoek, S. Daminet, L. Duchateau, J. P. Remon, B. M. Goddeeris, and E. Cox1 Oral Administration of β -1,3/1,6-Glucan

to Dogs Temporally Changes Total and Antigen-Specific IgA and IgM. **CLINICAL AND VACCINE IMMUNOLOGY**, Feb. 2010, p. 281–285

Suzuki, I., H. Tanaka, A. Kinoshita, S. Oikawa, M. Osawa, and T. Yadomae. 1990. Effect of orally administered β -glucan on macrophage function in mice. **Int. J. Immunopharmacol.** 12:675.

Taylor, K., Authié, E.M.L., 2004. Pathogenesis of animal trypanosomosis. In: Maudlin, I.; Holmes, P.H., Miles, M.A. The Trypanosomiasis. London: **CABI publishing**. 18, 331-354. TIZARD, (2008)

TECLES, F.; CALDÍN, M.; ZANELLA, A.; MEMBIELA, FRANCISCO.; ASTA TVARIJONAVICIUTE; SUBIELA, S. M.; CERÓN, J. J. Serum acute phase protein concentrations in female dogs with mammary tumors. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Columbia, v. 21,p. 214-219, 2009.

TENNANT, B. Feeding the sick animal. In: KELLY, N. C.; WILLS, J. Manual of companion animal nutrition & feeding. Iowa: BSAVA. Wigmore SJ, McMahon AJ, Sturgeon CM, Fearon KCH. Acute phase protein response, survival and tumour recurrence in patients with colorectal **Cancer. Br J Surg**;v.88(2):p.255–60, 2001.

Tzianabos A.O. 2000. Polysaccharide immunomodulators as therapeutic agents: structural aspects and biologic function. **Clin Microbiol Rev** 13: 523-533.

WITHROW, S.J; MACWEN, E.G. **Small Animal Clinical Oncology**; St. Louis: Saunders Elsevier, 2007.p.846.

Yun, C. H., A. Estrada, A. Van Kessel, A. A. Gajadhar, M. J. Redmond, and B. Laarveld. 1997. Beta-(133, 134) oat glucan enhances resistance to *Eimeria vermiformis* infection in immunosuppressed mice. **Int. J. Parasitol.** 27:329–337.

ZHANG S, BURING J, LEE I, COOK N, RIDKER P. C-reactive protein levels are not associated with increased risk colorectal cancer in women. **Ann Intern Med**; v.142(6),p.425–33, 2005.