

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta
tese será disponibilizado somente
a partir de 07/06/2025.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**COMPARAÇÃO DOS EFEITOS EM CÃES DO CONSUMO DE
B-GLUCANOS EXTRAÍDOS DA PAREDE CELULAR DE
ALGAS OU LEVEDURAS**

Stephanie de Souza Theodoro

Mestre em Medicina Veterinária

2023

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**COMPARAÇÃO DOS EFEITOS EM CÃES DO CONSUMO DE
B-GLUCANOS EXTRAÍDOS DA PAREDE CELULAR DE
ALGAS OU DE LEVEDURAS**

Stephanie de Souza Theodoro

Orientador: Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi

**Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias - UNESP, Campus de
Jaboticabal, como parte das exigências para
obtenção do título de Doutora em Medicina
Veterinária. Área: Clínica Médica Veterinária.**

2023

T388c	Theodoro, Stephanie de Souza Comparação dos efeitos em cães do consumo de b-glucanos extraídos da parede celular de algas ou leveduras / Stephanie de Souza Theodoro. -- Jaboticabal, 2023 75 f. : il., tabs. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal Orientadora: Aulus Cavalieri Carciofi 1. B-glucano. 2. Levedura. 3. Algas marinhas. 4. Cães saudáveis. I. Título
-------	--

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp.
Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias,
Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: COMPARAÇÃO DOS EFEITOS EM CÃES DO CONSUMO DE β -GLUCANOS
EXTRAIDOS DA PAREDE CELULAR DE ALGAS OU LEVEDURAS

AUTORA: BTEPHANIE DE SOUZA THEODORO

ORIENTADOR: AULUS CAVALIERI CARCIOFI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Medicina Veterinária,
Área: Clínica Médica Veterinária pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. AULUS CAVALIERI CARCIOFI (Participação Presencial)
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV - UNESP - Jaboticabal

Profa. Dra. MÁRCIA DE OLIVEIRA SAMPAIO GOMES (Participação Virtual)
Departamento de Nutrição e Produção Animal / FMVZ-USP São Paulo/SP

Profa. Dra. MIRELA TINUCCI COSTA (Participação Presencial)
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV - UNESP - Jaboticabal

Prof. Dr. LUCIANO TREVIZAN (Participação Virtual)
Universidade Federal do Rio Grande do Sul / Porto Alegre/RS

Profa. Dra. ANNE LÍF CARLA CAMPESI DOS SANTOS (Participação Presencial)
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV - UNESP - Jaboticabal

Documento assinado digitalmente por:
AULUS CAVALIERI CARCIOFI
CPF: 043.043.111-01
Verifique em: brasil.gov.br

Documento assinado digitalmente por:
MIRELA TINUCCI COSTA
CPF: 043.043.111-01
Verifique em: brasil.gov.br

Documento assinado digitalmente por:
LUCIANO TREVIZAN
CPF: 043.043.111-01
Verifique em: brasil.gov.br

Documento assinado digitalmente por:
ANNE LÍF CARLA CAMPESI DOS SANTOS
CPF: 043.043.111-01
Verifique em: brasil.gov.br

Jaboticabal, 07 de junho de 2023

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Stephanie de Souza Theodoro – nascida em 20 de Abril de 1990, filha de Paulo César de Almeida Theodoro e Katia de Souza, brasileira e natural de Guarulhos. Concluiu o ensino médio no ano de 2008 e iniciou sua graduação em 2009 na Universidade Federal de Pelotas – UFPel, concluindo em 2014. No período de março de 2015 a fevereiro 2017 foi residente do Programa de Residência em Nutrição e Nutrição Clínica de Cães e Gatos na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) UNESP – Campus de Jaboticabal, sob orientação do Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi. Em 2017, ingressou no mestrado na FCAV/UNESP, no programa Medicina Veterinária (área de Clínica Médica Veterinária) com ênfase em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos sob, também, orientação do Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi, no qual sua pesquisa foi focada no uso de parede celular de levedura na dieta para cães e seus efeitos na modulação imune e ação nos produtos de fermentação, sendo concluído em 2019. No mesmo período deu início ao doutorado na mesma instituição e programa, com avaliação de B-glucanos na dieta para cães e efeitos imunes, inflamatórios, pós prandial e microbiota. Ainda realizou doutorado sanduíche na Universidade da Califórnia, em Davis, no ano de 2022 sob orientação da profa. Dr. Andrea Fascetti.

EPÍGRAFE

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito.
Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

Martin Luther King

DEDICATÓRIA

À ***Família Theodoro***, em especial ao meu anjinho **Silvia Helena** (*in memorian*), que nunca mediram esforços, amor e compreensão para a realização de mais este sonho.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente à Força Superior que nunca me deixou em falta. Ele que soube entender minhas limitações e sempre me apresentou com o que há de melhor das pessoas.

À minha pequena, grande família, Pai, Tia Silvia, Vó Edna, Vô Geraldo, minhas irmãs Sophia e Katherine, Rose e Karen. Nestes quatro anos fui ainda mais ausente e vocês mais pacientes. Muito obrigada por me apoiarem, comemorem cada passo, serem o meu colo e dividirem esse sonho comigo. Nada seria possível sem vocês! Amo vocês!

Tia Bel, mais uma conquista por você! Obrigada por me permitir ser sua filha e lutar a cada dia ao meu lado. Você é essencial em cada passo que dou. Eu te amo!

Tio Kojak, obrigada por ser essa fonte de inspiração em minha vida. Obrigada por me tornar quem eu sou hoje. Te amo muito!

Prima Michele, nós sabemos o quanto é bom poder dividir nossas conquistas. Isso também é por você! Te amo!

Ao professor Aulus por ser um exemplo de pessoa, humildade, inteligência e inspiração. Obrigada por me permitir fazer parte desse time, confiar em mim e me permitir crescer cada dia mais.

A minha melhor amiga, irmã, parceira, confidente e colega de trabalho, Duda, obrigada por ser meu ponto de equilíbrio no meio desse furacão todo. Só a gente sabe realmente o quanto não foi fácil essa conclusão, mas juntas somos capazes de tudo. Obrigada por tornar tudo mais leve.

À família Lab Nutri, todos os pós-graduandos atuais e que já concluíram e aos estagiários, NADA seria possível sem vocês. Obrigada por me ajudarem a cada etapa, acordar cedo, dormir tarde, todo o apoio, os momentos de descontração, de desespero, por TUDO. Cada um de vocês têm um papel excepcional nessa trajetória.

Aos funcionários, Claudinha, Lucas, Elaine, Diego, Kelly, Marcos.. obrigada por dividirem os dias, as conversas, as risadas, os trabalhos e a vida. Tudo só dá certo porque vocês estão juntos. OBRIGADA!

Aos animais do Lab Nutri que são nossa fonte de estudo e de maior demonstração de afeto e carinho. Só vocês são capazes de me trazer a paz em momentos de estressantes.

Aos meus amigos Gilmar, Murillo, Pri, Vitor e Luis, meus sinceros agradecimentos pelos momentos alegres, ajuda nos estudos, desabafos e descontração. Obrigada por estarem sempre presente e por tornarem a minha vida mais leve em Jaboticabal!

À CAPES e a FAPESP (2020/04120-4) pelo meu suporte acadêmico e a Kemin pelo suporte financeiro ao experimento.

À BRF Pet, BRF Ingredients, ADM e Adimax pelo apoio e suporte financeiro ao Laboratório.

À Manzoni pela doação a extrusora.

E as todas as empresas parceiras do Lab Nutri, pelo incentivo a pesquisa em nutrição e ser nossa fonte de estudos permanente.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

COMITÊ DE ÉTICA



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado "**Comparação dos efeitos em cães do consumo de β -glucanos extraídos da parede celular de algas ou de leveduras**", protocolo nº 001974/20, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 12 de março de 2020.

Vigência do Projeto	01/04/2020 a 28/02/2023
Espécie / Linhagem	Canina/Beagles
Nº de animais	40
Peso / Idade	10 - 15 kg / 1 - 6 anos
Sexo	Machos e fêmeas
Origem	Laboratório de Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos

Jaboticabal, 12 de março de 2020.

Fabiana Pilarski
Profª Drª Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

COMPARAÇÃO DOS EFEITOS EM CÃES DO CONSUMO DE β -GLUCANOS EXTRAÍDOS DA PAREDE CELULAR DE ALGAS OU DE LEVEDURAS

RESUMO: Objetivou-se avaliar e comparar os efeitos do β -glucanos extraído da parede celular de levedura com o extraído de algas marinhas sobre a composição da microbiota intestinal, produtos de fermentação nas fezes e parâmetros imunológicos e inflamatórios de cães adultos. Para o estudo, uma dieta controle (CON) foi suplementada com B-glucano extraído de levedura (BLEV; 0,115%) ou B-glucano de algas: BA15 (dose de 0,155% de B-glucano de algas marinhas); BA31 (0,31% B-glucano de algas marinhas). Foram utilizados 32 cães, 8 por ração. Estes receberam as rações por 42 dias, sendo coletados sangue e fezes no início e final do período para análise das citocinas, produção ex vivo de intermediários reativos de oxigênio e nitrogênio, atividade fagocítica de neutrófilos e monócitos, proteína C reativa (PCR), parâmetros lipêmicos, concentração de IgA fecal e calprotectina. No meio deste período foi realizado ensaio de digestibilidade e curva pós-prandial de insulina e glicose. No tempo final, fezes frescas ainda foram coletas para avaliar produtos de fermentação. Os dados foram avaliados por análise de variância e comparados pelo teste de Tukey ($P < 0,05$), e quando necessário, análise de covariância foi aplicada. Cães alimentados com B-A31 apresentaram menor IL-2 que B-LEV e menor fagocitose por neutrófilos que os demais tratamentos ($P < 0,05$). Cães alimentados com B-A31 tenderam a apresentar maior IL-10 que CON ($P = 0,095$). O consumo de B-glucano de algas aumentou a produção de óxido nítrico em cultivo celular e a PCR sérica ($P < 0,05$). Cães alimentados com BA15 apresentaram maior digestibilidade aparente de matéria seca, matéria orgânica e energia bruta ($p < 0,05$). Cães

alimentados com BLEV tenderam a menor média de glicose e menor tempo para pico da resposta insulínica ($p < 0,1$). A beta diversidade da microbiota fecal de cães na dieta BA31 diferiu das dietas BLEV e BA15. Concluiu-se que B-glucanos de leveduras e algas marinhas apresentaram vias de ações diferentes, pois o B-glucano de algas induziu elevação de PCR, ativação de monócitos medido pela maior produção de óxido nítrico e tendeu a elevar a citocina anti-inflamatória IL-10, sendo que a dieta BA31 apresentou maior capacidade em alterar da microbiota fecal. O β -glucano de levedura tendeu em diminuir a média da concentração de glicose e antecipar o pico da ação de insulina endógena.

Palavras chave: β -glucanos, parede celular de levedura, algas marinhas, microbiota.

COMPARISON OF THE EFFECTS IN DOGS OF THE CONSUMPTION OF β -GLUCANS EXTRACTED FROM ALGAE OR YEAST CELL WALL APPLICATION

ABSTRACT: The objective was to evaluate and compare the effects of β -glucans extracted from yeast cell wall with that extracted from seaweed on the composition of the intestinal microbiota, fermentation products in the feces and immunological and inflammatory parameters of adult dogs. For the study, a control diet (CON) was supplemented with yeast-extracted B-glucan (BLEV; 0.115%) or seaweed B-glucan: BA15 (0.155% seaweed B-glucan dose); BA31 (0.31% Seaweed B-glucan). 32 dogs were used, 8 per ration. They received the diets for 42 days, with blood and feces collected at the beginning and end of the period for analysis of cytokines, ex vivo production of reactive oxygen and nitrogen intermediates, phagocytic activity of neutrophils and monocytes, C-reactive protein (PCR), parameters lipemics, fecal IgA concentration and calprotectin. In the middle of this period, a digestibility test and a postprandial insulin and glucose curve were performed. At the final time, fresh feces were still collected to evaluate fermentation products. Data were evaluated by analysis of variance and compared by Tukey's test ($P < 0.05$), and when necessary, analysis of covariance was applied. Dogs fed B-A31 showed lower IL-2 than B-LEV and less phagocytosis by neutrophils than the other treatments ($P < 0.05$). Dogs fed B-A31 tended to have higher IL-10 than CON ($P = 0.095$). Consumption of seaweed B-glucan increased nitric oxide production in cell culture and serum CRP ($P < 0.05$). Dogs fed BA15 showed higher apparent digestibility of dry matter, organic matter and gross energy ($p < 0.05$). Dogs fed BLEV tended to have lower mean glucose and shorter time to peak insulin response ($p < 0.1$). The beta diversity of the fecal microbiota of dogs on

the BA31 diet differed from the BLEV and BA15 diets. It was concluded that B-glucans from yeast and seaweed showed different pathways of action, as B-glucan from seaweed induced an increase in CRP, monocyte activation measured by increased production of nitric oxide and tended to increase the anti-inflammatory cytokine IL -10, and the BA31 diet showed a greater ability to alter the fecal microbiota. Yeast β -glucan tended to lower mean glucose concentration and anticipate the peak of endogenous insulin action.

Keywords: β -glucans, yeast cell wall, seaweed, microbiota.

CAPÍTULO 1

1. Considerações gerais

Os β -glucanos são definidos como polissacarídeos macromoleculares constituídos por monômeros de D-glicose ligados por ligações β -glicosídicas (Du et al., 2014). Podem ser encontrados em uma variedade de fontes naturais, como leveduras, cogumelos, bactérias, algas, cevada e aveia (Zhu et al., 2015a). Em função de suas diferentes estruturas e pesos moleculares, a atividade biológica dos diferentes tipos de β -glucanos pode variar bastante (Du; Xu, 2014).

O interesse pelo emprego de β -glucanos como aditivo nutracêutico tem aumentado, seja mediante inclusão em alimentos ou produtos farmacêuticos (Zhu et al., 2016; Bai et al., 2019), além de seu emprego em cosméticos e produtos químicos. Como exemplos, em bebidas os β -glucanos são usados para ajustar a consistência da solução devido ao seu efeito espessante e no leite, iogurte e pão como aditivos alimentares para diminuir a ingestão de energia e reduzir o colesterol (Barone Lumaga et al., 2012; Sharafbafi et al., 2014). Além disso, os β -glucanos também são adicionados em algumas fórmulas de medicamentos com vistas à propriedades imunomoduladoras, ação antitumoral, efeito na diabetes e ainda como redutor de colesterol no sangue (Du et al., 2014).

Segundo o Food Marketing Institute (FMI) produtos relacionados à saúde e suplementos alimentares representaram 33,7% do mercado global de β -glucanos em 2014. Os β -glucanos derivados de cereais representam a maior fração. Acredita-se que os β -glucanos derivados de levedura, outra fonte importante do composto, seja a segunda maior fonte, seguida pelos β -glucanos derivados de cogumelos (Bai et al., 2019).

No entanto, além de atuar de forma favorável na produção de alimentos e produtos farmacêuticos, os β -glucanos apresentam muitos benefícios importantes já relatados em humanos e animais: capacidade de eliminar radicais livres, de maneira semelhante aos antioxidantes (Kofuji et al., 2012), atividade imunológica moduladora (Lai et al., 2010; Rieder & Samuelsen, 2012; Shah et al., 2015), atividade antitumoral (Rieder & Samuelsen, 2012), redução sérica de colesterol (EFSA, 2010; Maki et al., 2010; Zhu et al., 2015b), redução da resposta glicêmica e insulinêmica, o que evitaria picos de glicose pós-prandiais (Meyer et al., 2002) e prevenção da obesidade (Bai et al., 2019).

Diante do aumento da população de cães e gatos e do desenvolvimento expressivo do mercado Pet Food, que apresentou crescimento de 24% no ano de 2020 (ABINPET, 2021), observou-se nos β -glucanos uma nova fonte a ser explorada no desenvolvimento de “alimentos funcionais”, ou seja, que além do correto fornecimento de nutrientes pudesse vir a conferir características de controle de riscos de acometimento por doenças crônicas (Zielke et al., 2017).

Dentro de seus diversos mecanismos de ação, os feitos relativos à redução de colesterol e da resposta glicêmica e insulinêmica devem-se à ação do β -glucano como fibra alimentar solúvel, com capacidade de formar soluções viscosas no intestino que reduzem a taxa de assimilação de nutrientes (Wolever et al., 2010). Há evidências crescentes de que a adição de fibra fermentável à dieta altere a função e a estrutura do intestino, modificando a produção de hormônios derivados deste órgão se associando a melhor homeostase da glicose em todo o organismo, mesmo na ausência de doença (Massimino et al., 1998; Schley, Field; 2002). Estas funções têm, de modo geral, sido estudadas mais frequentemente para β -glucanos de origem

vegetal, com ligações beta-1,4-glicosídicas, como na aveia e as doses incorporadas aos alimentos são relacionadas a quantidade de carboidratos da dieta, sendo relatado um intervalo de 0,9 a sete gramas de β -glucanos por 30 gramas de carboidratos (AbuMweis et al., 2016; Ekstrom et al., 2017).

Em medicina veterinária, no entanto, os possíveis efeitos prebióticos (ainda não confirmados), antiinflamatórios e imunomoduladores do β -glucano têm se destacado e representam os objetivos da grande maioria dos estudos publicados. O conhecimento da influência dos prebióticos no tecido linfóide associado ao intestino, derivado de seu potencial influencia na composição e metabolismo da microbiota do trato gastrointestinal é hoje amplamente aceito (Cherbut, 2002; Boder, 2008; Alexander et al., 2018; Carballo et al., 2019). As mudanças na comunidade microbiana, associadas à melhor produção de produtos de fermentação, em especial de butirato podem modular a produção de citocinas inflamatórias e a resposta imunológica dos animais (Lin et al., 2019; Theodoro et al., 2019). Tem-se, também, estudado as citocinas como biomarcadores fecais de inflamação intestinal (Poullis et al., 2010). Em 2013, Prakash et al. validaram a mensuração de citocinas em fezes de cães saudáveis e concluíram que a detecção das citocinas IL-6, IL-8, IL-10 e TNF- α podem ser úteis como biomarcador não invasivo de inflamação.

O potencial prebiótico dos β -glucanos foi relatado no final dos anos 90 e início dos anos 2000, com indícios de promover seletivamente o crescimento de microrganismos intestinais benéficos, como lactobacilos e bifidobactérias, de acordo tanto com estudos in vitro (Jaskari et al., 1998; Kontula et al., 1998b) como experimentos com animais (Dongowski et al., 2002; Drzikova et al., 2005; Snart et al., 2006). β -glucanos obtidos da cevada, algas marinhas, bactérias e cogumelos foram

incubados com culturas puras de *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum* e *Bifidobacterium adolescentis*. Todos os β -glucanos isolados, independentemente de suas fontes e correspondentes diferenças nas ligações glicosídicas e peso molecular, foram utilizados de modo semelhante à inulina (controle positivo) pelas três espécies de bifidobactérias (Zhao; Cheung, 2011). É possível que haja semelhança nos sistemas enzimáticos e transportadores das diferentes espécies de bifidobactérias investigadas, justificando os resultados encontrados (Lam et al., 2013). No entanto, o mecanismo detalhado de fermentação bacteriana seletiva de β -glucanos permanece incerto e existem desafios de pesquisa para estudos adicionais nessa área.

Os β -glucanos obtidos da levedura *Saccharomyces cerevisiae* têm sido os mais largamente investigados na medicina veterinária (Li et al., 2006; Mo et al., 2017; Wang et al., 2019), destacando-se como composto natural capaz de alterar a imunidade de várias espécies animais (Hiss et al., 2003; Stuyven et al., 2010), inclusive cães (Altug et al., 2010). Como exemplo, em trabalho recente Wang et al. (2019) investigaram a ação de β -glucanos de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) na modulação da microbiota intestinal, estimulação do sistema imunológico e alterações histopatológicas em frangos imunossuprimidos. Foi identificado aumento das populações intestinais de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* em comparação ao grupo controle, aumento das concentrações de IFN- γ e IL-6, diminuição de TGF- β 1 e maior proliferação de linfócitos, além de diminuição nas alterações histopatológicas da Bursa. Dessa forma, os autores sugerem que o consumo de β -glucanos de leveduras pode efetivamente aliviar a imunossupressão e regular benéficamente a microbiota do intestino.

Em cães, foi realizado um estudo em ração comercial com o objetivo de avaliar os efeitos da adição de dois β -glucanos de *Saccharomyces cerevisiae* com pureza e processos biotecnológico diferentes. Foram mensurados os níveis de IL-2, alterações na fagocitose, produção de anticorpos e níveis de glicose sanguíneo. Os autores concluíram que os dois produtos apresentaram efeitos imunomoduladores significativos em cães, sugerindo fortemente que a suplementação de ração com esses β -glucanos resulta em melhora das condições biológicas e imunológicas dos cães (Vetvicka, Oliveira, 2014). Em 2010, avaliaram o efeito da administração oral de beta-1,3/1,6-glucanos de *Saccharomyces cerevisiae* na imunidade humoral em cães. Ao final de quatro semanas, o nível sérico total de IgA diminuiu e o nível de IgM aumentou significativamente em relação ao grupo controle. Nenhum efeito foi encontrado no nível de IgG. A concentração de IgA também se apresentou significativamente menor na saliva e nas lágrimas do grupo tratado com β -glucanos. Foi observado ainda que os efeitos desapareceram uma semana após a interrupção da suplementação. Portanto, os autores concluíram que os resultados mostram uma mudança temporária nos perfis imunes durante a suplementação com β -glucanos (Stuyven et al., 2010).

O β -glucano de *Saccharomyces cerevisiae* apresenta, ainda, mecanismo direto de imunomodulação; o composto interage com receptores específicos (dectina-1, receptores do tipo Toll 2/6 e receptor do complemento 3) nos glóbulos brancos do sistema imunológico inato, como macrófagos, neutrófilos, granulócitos e células dendríticas (Baert et al., 2015; Raa, 2015) presentes na mucosa intestinal promovendo o início de processos bioquímicos ao induzir a cascata de respostas imune inata e adaptativa, como fagocitose, burst oxidativo e produção de citocinas e

quimiocinas (Brown et al., 2003). Oliveira e colaboradores (2019) avaliaram a inclusão de duas moléculas de β -glucanos durante 28 dias em quatro diferentes espécies de vertebrados: cães, leitões, camundongos e pintinhos. Os resultados mostraram comportamentos biologicamente diferentes das duas moléculas, porém ambas estimulam o sistema imunológico em um padrão semelhante nestas quatro espécies. Este achado sugeriu que os vertebrados compartilharam mecanismos semelhantes no reconhecimento dos β -glucanos e confirmou os benefícios dos β -glucanos em diferentes espécies.

Na última década, estudos sobre polissacarídeos de algas marinhas ganharam interesse devido a suas propriedades potenciais (Pomin, Mourão, 2010; Wijesekara et al., 2011; Barahona et al., 2014), tendo-se já demonstrados efeitos benéficos à saúde de animais (Raposo et al., 2016). Na parede celular de *Saccharomyces cerevisiae* o β -glucano apresenta-se como polissacarídeo com ligações β -1,3 e β -1,6 glicosídicas, conferindo a esta estrutura ramificada de moléculas de glicose conectadas por ligações β -1,3-glicosídicas, nas quais os pontos de ramificação são ligações β -1,6 (Raa, 2015). Já a alga unicelular *Euglena gracilis* também é uma importante fonte de β -1,3. Quando cultivada aerobicamente no escuro com uma fonte de carbono, há o acúmulo de grandes quantidades de paramilo, um β -glucano insolúvel, não digerível, composto por polímeros lineares de β -1,3-D-glicose de alto peso molecular, depositados no citoplasma como grânulos discóides altamente cristalinos (Barsanti et al., 2001; Monfils et al., 2011). Identificam-se, assim, diferenças entre as moléculas que tornam necessários estudos para melhor caracterizar os efeitos biológicos do β -glucano derivado das algas.

Com o objetivo de reduzir estresse e doenças em psicultura, Yamamoto et al. (2018) avaliaram a ação de β -1,3-glucano produzido a partir de *Euglena gracilis*. Os autores verificaram na espécie *Sciaenops ocellatus* melhora na resposta imune inata de fagócitos, com maior produção intracelular de ânion superóxido e aumento da atividade bactericida. Outro estudo investigou a influência da suplementação alimentar com β -1,3-glucano de *Euglena gracilis* na permeabilidade intestinal e resposta imune de porcos desmamados, infectados experimentalmente com *Escherichia coli* patogênica. Os resultados indicaram que a suplementação de aproximadamente 108 mg/kg diminuiu a diarreia de porcos infectados, melhorando a integridade intestinal. Além disso, também aumentou a resposta imune do hospedeiro contra a infecção por *Escherichia coli*, pois estimulou a ativação das células T e reduziu a inflamação (Kim et al., 2019).

Estes achados apontam a possibilidade do β -1,3-glucano de *Euglena gracilis* apresentar efeito prebiótico, anti-inflamatório ou imunomodulador em cães. Os autores não localizaram, no entanto, estudos conduzidos com esta espécie. Em função da significativa quantidade de informações disponíveis para o β -glucano de *Saccharomyces cerevisiae*, comparações entre a suplementação alimentar destes dois tipos de β -glucano seriam interessantes, permitindo-se adequada avaliação das ações biológicas do derivado da parede celular de algas.

6. Conclusion

The yeast β -glucan tended to reduce mean glycaemia and to shorter insulin secretion time, possibly modulating glucose metabolism deserving future studies. The diet with higher inclusion of seaweed β -glucan induced larger changes in faecal microbiota, with higher proportion of desirable bacteria related to intestinal health.

7. References

AlShawaqfeh MK, Wajid B, Minamoto Y, Markel M, Lidbury JA, Steiner JM, et al. A dysbiosis index to assess microbial changes in fecal samples of dogs with chronic

inflammatory enteropathy. *FEMS Microbiol Ecol.* (2017) 93:fix136. doi: 10.1093/femsec/fix136

- Aoe, S., Mio, K., Yamanaka, C., & Kuge, T. (2021). Low molecular weight barley β -glucan affects glucose and lipid metabolism by prebiotic effects. *Nutrients*, 13(1), 1–13. 10.3390/nu13010130.
- Bai J., Ren Y., Li Y., Fan M., Qian H., Wang L., Wu G., Zhang H., Qi X., Xu M., Rao Z. Physiological functionalities and mechanisms of β -glucans. *Trends in Food Science & Technology* 88 (2019) 57-66.
- Barsanti, L., Bastianini, A., Passarelli, V., Tredici, M. R., & Gualtieri, P. (2000). Fatty acid content in wild type and WZSL mutant of *Euglena gracilis*. *Journal of applied phycology*, 12, 515–520. <https://doi.org/10.1023/A:1008187514624>
- Bermingham EN, Maclean P, Thomas DG, Cave NJ, Young W. Key bacterial families (Clostridiaceae, Erysipelotrichaceae and Bacteroidaceae) are related to the digestion of protein and energy in dogs. *PeerJ* 5:e3019; DOI 10.7717/peerj.3019
- Buddington RK, Williams CH, Chen S-C & Witherly SA (1996) Dietary supplement of neosugar alters the fecal flora and decreases activities of some reductive enzymes in human subjects. *American Journal of Clinical Nutrition*. 1996; 63, 709–716.
- Carballo C, Pinto PLS, Mateus AP, Berbel C, Guerreiro CC, Martinez-Blanch JF, Codoner FM, Mantecon L, Power DM, Manchado M. Yeast β -glucans and microalgal extracts modulate the immune response and gut microbiome in Senegalese sole (*Solea senegalensis*). *Fish and Shelfish Immunology*. 2019; 92: 31-39.
- Carciofi AC, Takakura FS, De-Oliveira LD, Teshima E, Jeremias JT, Brunetto MA, et al. Effects of six carbohydrate sources on dog diet digestibility and postprandial glucose and insulin response. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 2008; 98: 326–336.
- Ciecierska, A., Drywień, M. E., Hamulka, J., & Sadkowski, T. (2019). Nutraceutical functions of beta-glucans in human nutrition. *Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny*, 70(4), 315–324. 10.32394/rpzh.2019.0082.
- Cummings, J. H., & Stephen, A. M. (2007). Carbohydrate terminology and classification. *European Journal of Clinical Nutrition*, 61, 5–18. 10.1038/sj.ejcn.1602936.
- Dongowski, G., Huth, M., Gebhardt, E., & Flamme, W. Dietary fiber-rich barley products beneficially affect the intestinal tract of rats. *Journal of Nutrition*. 2002; 132(12), 3704–3714.
- Drzikova, B., Dongowski, G., & Gebhardt, E. Dietary fibre- rich oat-based products affect serum lipids, microbiota, formation of short-chain fatty acids and steroids in rats. *The British Journal of Nutrition*. 2005; 94(6), 1012–1025.
- Erwin ES, Marco GJ, Emery EM. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. *Journal of Dairy Science*. 1961; 44: 1768–1771.
- FEDIAF—Fédération Européenne de L'industrie des Aliments pour Animaux Familiers. The European Pet Food Industry Federation. Nutritional Guidelines. 2020.
- Fernandes, J.; Su, W.; Rahat-Rozenbloom, S.; Wolever, T.M.S.; Comelli, E.M. Adiposity, gut microbiota, and faecal short chain fatty acids are linked in adult humans. *Nutr. Diabetes* 2014, 4, e121.
- Ferreira CS, Vendramini THA, Amaral AR, Rentas MF, Ernandes MC, Silva FL, Oba PM, Filho FOB, Brunetto MA. Metabolic variable of obese dogs with insulin resistance supplemented with yeast beta-glucan. *BMC Veterinary Research*. 2022; 18:14.

- Fleissner CK, Huebel N, Abd El-Bary MM, Loh G, Klaus S, Blaut M. 2010. Absence of intestinal microbiota does not protect mice from diet-induced obesity. *British Journal of Nutrition* 104:919–929.
- Gibson GR, Beatty ER, Wang X & Cummings JH. Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligo-fructose and inulin. *Gastroenterology*. 1995; 108, 975–982.
- Gómez-Gallego, C.; Forsgren, M.; Selma-Royo, M.; Nermes, M.; Collado, M.C.; Salminen, S.; Beasley, S.; Isolauri, E. The Composition and Diversity of the Gut Microbiota in Children Is Modifiable by the Household Dogs: Impact of a Canine-Specific Probiotic. *Microorganisms* **2021**, *9*, 557. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9030557>
- Guard BC, Barr JW, Reddivari L, Klemashevich C, Jayaraman A, Steiner JM, Vanamala J, Suchodolski JS. 2015. Characterization of microbial dysbiosis and metabolomic changes in dogs with acute diarrhea. *PLOS ONE* 10:e0127259
- Honneffer JB, Steiner JM, Lidbury JA, Suchodolski JS. Variation of the microbiota and metabolome along the canine gastrointestinal tract. *Metabolomics*. 2017;13(26). doi:<https://doi.org/10.1007/s11306-11017-11165-11303>
- Isaiah A, Parambeth JC, Steiner JM, Lidbury JA, Suchodolski JS. The fecal microbiome of dogs with exocrine pancreatic insufficiency. *Anaerobe*. 2017; 50-58.
- Jaskari, J., Kontula, P., Siitonen, A., Jousimies-Somer, H., Mattila-Sandholm, T., & Poutanen, K. Oat β -glucan and xylan hydrolysates as selective substrates for *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* strains. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 1998; 49 (2), 175–181, <http://dx.doi.org/10.1007/s002530051155>.
- Kim K., Ehrlich A., Perng V., Chase J. A., Raybould H., Li X., Atwill E. R., Whelan R., Sokale A., Liu Y. Algae-derived β -glucan enhanced gut health and immune responses of weaned pigs experimentally infected with a pathogenic *E. coli*. *Animal Feed Science and Technology* 248 (2019) 114–125
- Kontula, P., von Wright, A., & Mattila-Sandholm, T. Oat bran beta-glucan- and xylo-oligosaccharides as fermentative substrates for lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*. 1998; 45(2), 163–169.
- Kuda, T.; Enomoto, T.; Yano, T. Effects of two storage -1,3-glucans, laminaran from *Eisenia bicyclis* and paramylon from *Euglena gracilis*, on cecal environment and plasma lipid levels in rats. *J. Funct. Foods* **2009**, *1*, 399–404.
- Laflamme DP. Development and validation of body condition score system for dogs. *Canine Practices*. 1997; 22: 10–15.
- Lam K, Cheung PC. Non-digestible long chain beta-glucans as novel prebiotics. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre* 2. 2013; 45–64
- Lin, B., Gong, J., Wang, Q., Cui, S., Yu, H., & Huang, B. In vitro assessment of the effects of dietary fibers on microbial fermentation and communities from large intestinal digesta of pigs. *Food Hydrocolloids*. 2011; 25(2), 180–188, <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.02.006>.
- Liu, M., Zhang, Y., Zhang, H., Hu, B., Wang, L., Qian, H., et al. (2016). The anti-diabetic activity of oat β -D-glucan in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic mice. *International Journal of Biological Macromolecules*, *91*, 1170–1176. [10.1016/j.ijbiomac.2016.06.083](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.06.083).
- Martinez I, Wallace G, Zhang C, Legge R, Benson AK, Carr TP, Moriyama EN, Walter J. 2009. Diet-induced metabolic improvements in a hamster model of hyperc-

holesterolemia are strongly linked to alterations of the gut microbiota. *Applied and Environmental Microbiology* 75:4175–4184.

McRorie, J. W., Jr., & McKeown, N. M. (2017). Understanding the physics of functional fibers in the gastrointestinal tract: An evidence-based Approach to resolving enduring misconceptions about insoluble and soluble fiber. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 117, 251–264.

Menne E, Guggenbuhl N & Roberfroid MB. Fr-type chic-ory inulin hydrolysate has a prebiotic effect in humans. *Journal of Nutrition*. 2000; 130, 1197–1199.

Meijer, K.; de Vos, P.; Pribe, M. G. Butyrate and other short-chain fatty acids as modulators of immunity: What relevance for health? *Curr. Opin. Nutr. Metab. Care* **2010**, 13, 715–721.

Meyer, K.A.; Kushi, L.H.; Jacobs, D.R.; Slavin, J.; Sellers, T.A.; Folsom, A.R. Carbohydrates, dietary fiber, and incident type 2 diabetes in older women. *Am. J. Clin. Nutr.* **2002**, 71, 921–931.

NRC - National Research Council. Nutrient requirements of dogs and cats. Washington, DC: National Academy Press, 2006.

Novak, M., & Vetvicka, V. (2008). Beta-glucans, history, and the present: Immunomodulatory aspects and mechanisms of action. *Journal of Immunotoxicology*, 5, 47–57. 10.1080/15476910802019045.

Oliveira CAF, Vetvicka V, Zanuzzo FS. β -Glucan successfully stimulated the immune system in different jawed vertebrate species. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. 2019; 62: 1-6.

Papageorgiou, M., Lakhdara, N., Lazaridou, A., Biliaderis, C. G., & Izydorczyk, M. S. (2005). Water extractable (1 $\rightarrow$ 3, 1 $\rightarrow$ 4)-beta-D-glucans from barley and oats: An intervarietal study on their structural features and rheological behaviour. *Journal of Cereal Science*, 42, 213e224.

Pilla R, Suchodolski JS. The role of the canine gut microbiome and metabolome in health and gastrointestinal disease. *Front Vet Sci* 2020;6:498.

Pilla R, Suchodolski JS. The gut microbiome of dogs and cats, and the influence of diets. *Vet Clin Small Anim*. 2021; 51: 605-621.

Praznik, W.; Loeppert, R.; Viernstein, H.; Haslberger, A.G.; Unger, F.M. Dietary fiber and prebiotics. In *Polysaccharides: Bioactivity and Biotechnology*; Ramawat, K.G., Mérillon, J.M., Eds.; Springer International Publishing: Cham, Switzerland, 2015; pp. 891–925.

Pryce JD. A modification of the Barker-Summerson method for the determination of lactic acid. *The Analyst*. 1969; 94: 1121–1151.

Rajilic-Stojanovic M, De Vos WM. 2014. The first 1000 cultured species of the human gastrointestinal microbiota. *FEMS Microbiology Reviews* 38:996–1047

Raposo M.F.J., Morais A.M.M.B., Morais R.M.S.C. Emergent Sources of Prebiotics: Seaweeds and Microalgae. *Marine Drugs* 2016, 14, 27; doi:10.3390/md14020027

Regand, A., Tosh, S. M., Wolever, T. M., & Wood, P. J. (2009). Physicochemical properties of beta-glucan in differently processed oat foods influence glycemic response. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(19), 8831–8838. 10.1021/jf901271v.

Reynolds B, Taillade B, Médaille C, Palenché F, Trumel C, Lefebvre HP. 2006. Effect of repeated freeze-thaw cycles on routine plasma biochemical constituents in canine plasma. *Vet Clin Pathol*. 35:339–340.

- Ritchie LE, Steiner JM, Suchodolski JS. Assessment of microbial diversity along the feline intestinal tract using 16S rRNA gene analysis. *FEMS Microbiol Ecol.* 2008;66(3):590-598.
- Schwarzahns, J.-P., Cholewa, D., Grimm, P., Beshay, U., Risse, J.-M., Friehs, K., & Flaschel, E. (2015). Dependency of the fatty acid composition of *Euglena gracilis* on growth phase and culture conditions. *Journal of applied phycology*, 27, 1389–1399. <https://doi.org/10.1007/s10811-014-0458-4>
- Skendi, A., Biliaderis, C. G., Lazaridou, A., & Izydorczyk, M. S. (2003). Structure and rheological properties of water soluble β -glucans from oat cultivars of *Avena sativa* and *Avena bysantina*. *Journal of Cereal Science*, 38, 15e31.
- Snart, J., Bibiloni, R., Grayson, T., Lay, C., Zhang, H., Allison, G. E., et al. Supplementation of the diet with high-viscosity beta-glucan results in enrichment for lactobacilli in the rat cecum. *Applied and Environmental Microbiology*. 2006; 72(3), 1925–1931.
- Suchodolski JS, Markel ME, Garcia-Mazcorro JF, Unterer S, Heilmann RM, Dowd SE, Kachroo P, Ivanov I, Minamoto Y, Dillman EM, Steiner JM, Cook AK, Toresson L. 2012. The fecal microbiome in dogs with acute diarrhea and idiopathic inflammatory bowel disease. *PLOS ONE* 7:e51907
- Suchodolski JS. Analysis of the gut microbiome in dogs and cats. *Veterinary Clinical Pathology*. 2022; 50 (Suppl. 1): 6-17.
- Theodoro SdS, Putarov TC, Tiemi C, Volpe LM, de Oliveira CAF, Glória MBdA, et al. (2019) Effects of the solubility of yeast cell wall preparations on their potential prebiotic properties in dogs. *PLoS ONE* 14(11): e0225659. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0225659>
- Vale SR, Gloria MB. Determination of biogenic amines in cheese. *J. AOAC Int.* 1997; 80(5): 1006– 1012. PMID: 9325578
- Vetvicka V, Vetvickova J. Physiological effects of different types of β -glucan. *Biomed Pap.* 2007B;151:225-31.
- Vetvicka V, Vetvickova J. β -1,3-Glucan: Silver Bullet or Hot Air? *Open Glycoscience*, 2010, 3, 1-6
- Vetvicka V, Oliveira C. B(1-3)(1-6)-D-glucans modulate immune status and blood glucose levels in dogs. *British Journal of Pharmaceutical Research*. 2014; 4(8): 981-991.
- Vogt, J.A.; Wolever, T.M.S. Faecal acetate is inversely related to acetate absorption from the human rectum and distal colon. *J. Nutr.* **2003**, 133, 3145–3148.
- Yamamoto FY, Sutili FJ, Hume M, Gatlin III DM. The effect of β -1,3-glucan derived from *Euglena gracilis* (Algamune™) on the innate immunological responses of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *J Fish Dis.* 2018; 41: 1579–1588.
- Wang, Q., Ellis, P. R. (2014). Oat β -glucan: Physico-chemical characteristics in relation to its blood-glucose and cholesterol-lowering properties. *British Journal of Nutrition*, 112(Suppl. 2), 4e13.
- Watanabe, T., Shimada, R., Matsuyama, A., Yuasa, M., Sawamura, H., Yoshida, E., & Suzuki, K. (2013). Antitumor activity of the β -glucan paramylon from *Euglena* against preneoplastic colonic aberrant crypt foci in mice. *Food & Function*, 4, 1685–1690. <https://doi.org/10.1039/c3fo60256g>
- Whitehead, A., Beck, E. J., Tosh, S., & Wolever, T. M. S. (2014). Cholesterol-lowering effects of oat β -glucan: A meta-analysis of randomized controlled trials¹. *American Journal of Clinical Nutrition*, 100(6), 1413–1421. 10.3945/ajcn.114.086108.

Wolever, T. M., Tosh, S. M., Gibbs, A. L., Brand-Miller, J., Duncan, A. M., Hart, V., et al. (2010). Physicochemical properties of oat β -glucan influence its ability to reduce serum LDL cholesterol in humans: A randomized clinical trial. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 92(4), 723–732. 10.3945/ajcn.2010.29174.

Wolever TMS, Mattila O, Rosa-Sibakov N, Tosh SM, Jenkins AL, Ezatagha A, Duss R, Steinert RE. Effect of Varying Molecular Weight of Oat β -Glucan Taken just before Eating on Postprandial Glycemic Response in Healthy Humans. *Nutrients*. 2020; 12(8): 2275.

Zielke C, Kosik O, Ainalem M-L, Lovegrove A, Stradner A, Nilsson L (2017) Characterization of cereal β -glucan extracts from oat and barley and quantification of proteinaceous matter. *PLoS ONE* 12(2): e0172034. doi:10.1371/journal.pone.0172034