

Melhora clínica da doença respiratória infecciosa felina após suplementação com L-lisina e parede celular de leveduras mortas na dieta

Marúcia de Andrade Cruz – Médica veterinária, Mestre em Ciências Veterinárias - Clínica Mania de Gato, Curitiba-PR.

Fabiano Montiani-Ferreira – Médico veterinário, Mestre em Ciências Veterinárias, Doutor – Professor da Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR.

Patrícia Yukiko Montaña – Acadêmica do quarto ano do curso de Medicina Veterinária – Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR.

José Sidney Flemming – Médico veterinário, Mestre em Ciências Veterinárias, Doutor – Professor da Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR.

Cruz MA, Montiani-Ferreira F, Montaña PY, Flemming JS. Informativo Organnact.

Resumo

Um estudo com um suplemento, em pó, à base de 50% de cloridrato de L-lisina e 50% de parede celular de leveduras mortas foi conduzido. Empregou-se a dose de 500 mg do suplemento por dia para um grupo de quatro gatos com diagnóstico clínico de Doença Respiratória Infecciosa Felina (DRIF). Nos animais que receberam o suplemento alimentar observou-se melhora do estado geral, o que os tornou ligeiramente mais dispostos. Durante os 45 dias de investigação, notou-se supressão da secreção nasal, redução dos estridores, redução do número de espirros, diminuição da quantidade de secreção ocular e desaparecimento de quemose. No quadro clínico do paciente controle não ocorreram alterações quanto ao quadro descrito, a não ser uma leve melhora do estado geral, mas sem desaparecimento dos sinais clínicos. Os resultados obtidos nessa investigação preliminar foram promissores. As indicações para o emprego do suplemento de L-lisina e parede celular de levedura na dieta poderiam incluir: 1) Participação na terapia padrão da DRIF ativa; 2) Suplemento para gatos carreadores saudáveis para evitar a reativação viral da DRIF; 3) Participação na formulação de uma ração específica a ser prescrita por médicos veterinários.

Introdução

Nos últimos anos, várias publicações referem-se aos potenciais efeitos benéficos da suplementação dietética com o aminoácido lisina para gatos.

Entre os potenciais efeitos da suplementação de lisina exógena, o de maior significância veterinária certamente seria aquele da diminuição dos sinais clínicos típicos da Doença Respiratória Infecciosa Felina (DRIF)¹⁻³. Esta enfermidade respiratória é também conhecida como Complexo Respiratório Viral Felino (CRVF) ou Rinotraqueíte Infecciosa Felina (RIF), sendo que estas duas últimas denominações dão ênfase apenas aos agentes virais da doença. Independente do nome desta afecção, o fato é que apresenta múltiplos agentes etiológicos infecciosos que já foram identifica-

dos, dentre eles o *Herpesvirus felino tipo-1* (HVF-1), *calicivirus*, *Chlamydophila psittaci* e *Bordetella bronchiseptica*. Todos causando, em intensidade variável, lesões no aparelho respiratório superior, conjuntiva e cavidade oral⁴⁻⁵. Nessas infecções da DRIF, o isolamento de mais de um agente é muito comum⁴⁻⁵.

Seguramente, o agente de maior morbidade, capaz até de causar mortalidade em filhotes de gatos, é o HVF-1, um vírus membro da subfamília alfa-herpesvirus, que é envelopado e contém DNA de helicoide dupla⁴⁻⁵. A infecção por HVF-1 é a doença infecciosa mais comum em gatos em todo o mundo. Certamente, o HVF-1 é também, por mais espantoso que possa parecer, o principal agente causador de todas as enfermidades oculares em gatos⁶. As lesões oculares podem ser de-

vastadoras, principalmente em filhotes⁴. As diferentes lesões e agressões teciduais ocasionadas pelo HVF-1 se dão na ocasião da replicação viral na mucosa respiratória, ocular e oral, e nos ossos turbinados⁴. O estado de infecção latente manifesta-se em aproximadamente 80% dos gatos que foram infectados quando filhotes⁶. O HVF-1, nesses casos, passa a residir em estado dormente, com sua replicação controlada pela atividade do sistema imune, principalmente no gânglio do nervo trigêmio, V par de nervos cranianos⁶. Durante a vida desses gatos portadores saudáveis do HVF-1 acredita-se que cerca de 50% deles apresentarão reativação e disseminação do vírus em algum momento⁶. Tais episódios de reativação da infecção viral ocorrem quase sempre por imunodepressão e podem ocorrer de várias formas: 1) espontaneamente e sem explicação definitiva; 2) relacionados à uma condição genética predisponente do paciente, 3) ligados ao estresse em sua aceção mais ampla, incluindo deficiência nutricional, parasitoses, maus-tratos ou ainda ação de outro agente infeccioso, ou ainda 4) combinação das formas já citadas⁴⁻⁶.

Vários protocolos terapêuticos foram sugeridos ao longo dos anos para o controle da DRIF. Existe uma vacina comercial eficiente cujo uso é bastante difundido⁴⁻⁶. Todavia, quando o filhote já foi contaminado, a vacinação obviamente não elimina a doença e o animal torna-se, muitas vezes, um carreador saudável quando adulto⁴⁻⁶. Muito embora variáveis graus de controle da infecção ativa pelo HVF-1 bem como o manejo do estado de latência do agente possam ser alcançados, os tratamentos mais usualmente empregados ainda não são totalmente satisfatórios. Para ilustrar, as drogas antivirais empregadas foram todas desenvolvidas para serem empregadas contra o herpes simplex de seres humanos e não contra o HVF-1. Alguns desses antivirais são muito eficientes em seres humanos, mas podem ser problemáticos na clínica de gatos. O Valaciclovir pode causar supressão da atividade da medula óssea, necrose renal e hepática em gatos⁶. O Aciclovir não atinge concentração plasmática terapêutica eficiente em gatos e tem efeito limitado contra o HVF-1 devido à diferenças relacionadas à enzima timidina-quinase codificada pelo material genético do herpes simplex em relação ao HVF-16. Com relação aos antivirais tópicos, frequentemente empregados no combate dos sinais oculares e nasais, sabe-

se que as formulações destinadas ao tratamento do herpes simplex de seres humanos são irritantes para gatos e não são eficientes, exigindo administrações diárias múltiplas, por até seis vezes ao dia, para mostrar alguma eficácia⁶. A realização de testes baseados em técnicas de biologia molecular⁷⁻⁹ ainda não é muito difundida no meio médico-veterinário nacional. Portanto, a identificação de animais portadores sadios e o controle da disseminação causada por eles, durante episódios de reativação da infecção, é um desafio ao médico veterinário. Em função das limitações existentes atualmente, tanto no protocolo terapêutico da DRIF ativa como, no controle dos animais em estado portador, os autores acreditam que ainda existe uma lacuna substancial a ser preenchida por investigações clínicas, criação de novos fármacos ou, ainda, adoção de estratégias nutracêuticas como a doravante proposta.

Relatos indicam que altas concentrações de lisina reduzem a replicação de HVF-1. Todavia, tal redução foi comprovada apenas *in vitro* quando o meio de cultivo celular apresenta altas concentrações de lisina e baixas concentrações de outro aminoácido, a arginina, sabendo-se que este é essencial para a replicação do agente 10. Mais pesquisas *in vitro* ainda devem ser realizadas para elucidar os supostos mecanismos dessa ação. Uma tendência à redução dos sinais clínicos da DRIF já foi observada¹⁻³. Seguramente, mais pesquisas em situações *in vivo* deverão ser realizadas para comprovar definitivamente e caracterizar a magnitude do efeito desta estratégia nutracêutica. O objetivo deste trabalho é relatar os efeitos clínicos da suplementação dietética de 500 mg de L-lisina por dia, sem restrição de arginina, por 45 dias, em quatro gatos apresentando sintomatologia crônica de DRIF.

Material e métodos

Um grupo de 30 gatos que vivia em regime de confinamento num abrigo auxiliado por uma organização não governamental foi localizado em Curitiba - PR. Esses animais nunca haviam sido vacinados pregressamente, e alguns apresentavam sinais clínicos crônicos compatíveis com o da Doença Respiratória Infecciosa Felina (DRIF). Foram escolhidos cinco gatos que apresentavam histórico de manifestação de sinais clínicos e problemas respiratórios severos na época do desma-

me. Esses gatos foram considerados suspeitos de apresentarem DRIF ativa. Os sinais clínicos observados em todos os gatos selecionados foram: aumento de tamanho dos linfonodos submandibulares, gengivite, secreção ocular seromucosa, congestão conjuntival, edema conjuntival (quemose), blefaroespasmos, secreção nasal (seromucosa ou mucopurulenta), depressão, presença de espirros e estridores durante a auscultação do aparelho respiratório com estetoscópio. Três dos cinco gatos apresentavam sinais de doença ocular, particularmente conjuntivite (Figuras 1 e 2). Muito embora, dois desses animais já terem perdido um dos olhos em detrimento da multiplicação viral no epitélio da córnea e sua consequente perfuração, pode-se dizer que em um deles o grau de congestão e secreção ocular era moderada e os sinais respiratórios eram mais severos. Já no outro gato, que apresentava colapso do bulbo ocular (*phthisis bulbi*) havia secreção oculonasal abundante. Todos os cinco gatos foram escolhidos para participar da investigação, sendo que um deles foi selecionado para servir como controle da investigação, não recebendo o tratamento, apenas 5 ml de solução salina a 0,9% por via oral, uma vez ao dia.

Formulou-se então² um suplemento em pó à base de 50% de cloridrato de L-lisina (apresentação comercial industrial que contém 78% de L-lisina) e 50% de parede celular de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* mortas (usualmente conhecida por SCCW). A dose total empregada foi 500 mg de cloridrato de L-lisina por dia, dose equivalente a já empregada em outras pesquisas³. O suplemento à base de L-lisina em pó foi misturado à cerca de 5 ml de solução salina à 0,9%, produzindo uma pasta que foi administrada diariamente, por via oral direta, em uma única administração ao dia, pela manhã, com os pacientes em jejum. Esta terapia foi aplicada por 45 dias.

As alterações dos sinais clínicos respiratórios e oculares, além de considerações sobre a palatabilidade, em cada um dos pacientes, foram anotadas diariamente em fichas de exame clínico padronizadas. Os gatos foram fotografados antes e ao final do período de suplementação. Não foram empregados outros fármacos para o tratamento desses pacientes, foram fornecidos abrigo, água e ração comercial à vontade para todos os animais.

Resultados

A palatabilidade do produto diluído em solução salina foi considerada razoável. Cinco episódios de sialorreia excessiva foram anotados ao longo do estudo. Nos quatro gatos que receberam a suplementação com o produto, uma notável supressão da secreção nasal e diminuição substancial da presença de estridores foram observadas, o que não ocorreu no paciente controle, que permaneceu com secreções nasais até o final da investigação. A intensidade e o número de espirros foram lentamente diminuindo nos pacientes que receberam a suplementação ao longo dos 45 dias.

Ao final desse período, espirros foram observados ocasionalmente em apenas um dos gatos tratados. Por outro lado, o paciente controle continuou com a mesma intensidade e número de espirros do início do teste. Uma substancial diminuição da quantidade de secreção ocular e a redução de quemose e blefaroespasmos também foram observadas particularmente em um dos pacientes (Figura 1). Nos outros dois pacientes, a diminuição na secreção ocular foi apenas discreta permanecendo com alguma quantidade de secreção residual ao final da investigação (Figura 2).



Figura 1. Caso clínico representativo dos resultados observados. As quatro fotos são do mesmo gato. As duas fotografias da fileira superior (A & B) demonstram o paciente com severos sinais respiratórios e oculares. Note a presença de secreção ocular e nasal (A), além de quemose e blefaroespasmos (B). As duas fotos da fileira de baixo (C & D) demonstram a completa recuperação da fase ativa da infecção 45 dias após a administração do suplemento. Note ausência da secreção ocular e nasal das duas fotos de baixo.



Figura 2. Outro caso clínico representativo dos resultados de melhora óculo nasal observados no experimento. A comparação das duas fotos (A & B) demonstra boa recuperação da fase ativa da infecção 45 dias após a administração do suplemento neste paciente. Note a ausência de secreção nasal e discreta, mas considerável diminuição de secreção ocular (B).

Uma mudança expressiva na qualidade e no aspecto da secreção ocular foi notada em todos os gatos tratados. De uma consistente secreção seromucosa, os que receberam a formulação apresentavam, ocasionalmente, leve secreção serosa ou apenas crostas de secreção ressecada. A melhora do estado geral dos pacientes que receberam a suplementação também foi notável, assim como melhora de disposição no paciente controle.

Discussão

Muito embora a infecção pelo HVF-1 não tenha sido confirmada na população estudada, por meio de ferramentas moleculares⁷⁻⁹, o diagnóstico clínico desses gatos certamente foi de DRIF. Igualmente, sabe-se que a infecção por HVF-1 é a mais prevalente nesses quadros e apresenta grande morbidade. Portanto, seria admissível assumir que todos os gatos dessa população apresentavam infecção por HVF-1. A eliminação da secreção nasal, bem como a diminuição do número e da intensidade dos espirros nos gatos que receberam o suplemento poderia sugerir que a ação antiviral ou, alternativamente, imunostimulante do suplemento foi clinicamente expressiva.

A melhora clínica observada nos pacientes que demonstravam sinais de DRIF pode ter sido causada não apenas pela ação da suplementação dietética com L-lisina, mas por uma ação somatória ocasionada pelas condições gerais satisfatórias de higiene do gatil utilizado na pesquisa e pelo uso de parede celular de leveduras mortas na formulação. Relatos citam que a adição da

parede celular de leveduras mortas na dieta pode apresentar uma ação estimulante à imunidade leucocitária entérica e, por conseguinte, um estímulo também ao sistema imune como um todo, pelo menos em vários animais de produção e em pequenos animais¹¹⁻¹³. Os glucanos e os mananos contidos na parede celular de leveduras estimulam o sistema imune por meio de uma via complementar. Eles atuam gerando uma reação a esses produtos que redundam num aumento das células fagocitárias como os macrófagos e, em tese, também podem funcionar como prebióticos no aparelho digestório, melhorando a saúde intestinal e, conseqüentemente, poderiam melhorar a resposta imune¹¹⁻¹³. Ainda assim seria cedo para teorizar a respeito de uma eventual ação sinérgica dos dois compostos, L-lisina e parede celular de leveduras, mas a eficácia clínica alcançada no controle da infecção observada por meio da diminuição discreta dos sinais oculares e, particularmente dos sinais respiratórios, faz com que tal argumentação seja uma das prováveis explicações. Cabe aqui a menção do fato de que os gatos selecionados para a presente investigação apresentavam, inicialmente, sinais respiratórios mais severos do que sinais oculares, talvez por isso tenham demonstrado recuperação respiratória mais aparente do que ocular. Uma explicação para a melhora na disposição do paciente controle seria a da influência positiva da higienização rotineira do gatil experimental e, em algum grau, efeito placebo.

A forma em pó, não diluída em solução salina, apenas despejada sobre a ração, que foi tentada no projeto-piloto desse estudo foi absolutamente rejeitada pela maioria dos gatos estudados. Todos os pacientes continuaram recebendo o suplemento. As administrações em jejum pela manhã foram assim escolhidas com o intuito de promover melhor absorção do aminoácido. Um fato interessante é que a administração do suplemento foi cessada em um dos três pacientes do grupo experimental após os 45 dias. A decisão de encerrar a administração foi baseada em uma particularidade individual que objetivava a palatabilidade da formulação. Curiosamente, após três dias sem receber o suplemento, o paciente voltou a apresentar secreção nasal seromucosa, o que demonstrou que a administração da formulação inibia, de algum modo, o aparecimento dos sinais respiratórios.

Como conclusão, acredita-se que os resulta-

dos obtidos nessa investigação preliminar foram bastante promissores. A suplementação com a formulação investigada, apesar de não ter promovido a completa regressão nos sinais clínicos observados no início do experimento, a não ser pelo desaparecimento da secreção nasal, promoveu sua expressiva atenuação. Verifica-se também que a suplementação pode apresentar ação sinérgica com os outros fármacos tradicionalmente empregados, tais como antibióticos, drogas antivirais e interferon. No futuro, existindo repetição dos efeitos benéficos, em um maior número de gatos doentes, preferencialmente com a participação pelo HVF-1 comprovada por métodos consagrados⁷⁻⁹, o suplemento poderá ser empregado em larga escala, como na formulação de rações. As indicações para o uso do suplemento proposto na presente investigação poderiam, então, incluir:

1. participação da suplementação como parte integrante, junto com os fármacos tradicionalmente usados, do protocolo terapêutico padrão da DRIF ativa;
2. administração crônica do suplemento para gatos carreadores saudáveis de DRIF, ou seja, aqueles infectados pelo HVF-1 quando filhotes (preferencialmente checados por ferramentas moleculares⁷⁻⁹);
3. adição do suplemento na formulação de uma ração específica a ser prescrita em situações de risco, como para pacientes jovens vivendo em grupos grandes de animais em abrigos públicos, particulares ou de organizações não governamentais.

Referências

1. MAGGS, D. J.; SYKES, J. E.; CLARKE, H. E.; YOO, S. H.; KASS, P. H.; LAPPIN, M. R.; ROGERS, Q. R.; WALDRON, M. K.; FASCETTI, A. J. Effects of dietary lysine supplementation in cats with enzootic upper respiratory disease. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 9:97-108, 2007.
2. STILES, J.; TOWNSEND, W. M.; ROGERS, Q. R.; KROHNE, S. G. Effect of oral administration of L-lysine on conjunctivitis caused by feline herpesvirus in cats. *American Journal of Veterinary Research*; 63:99-103, 2002
3. MAGGS, D. J.; NASISSE, M. P.; KASS, P. H. Efficacy of oral supplementation with L-lysine in cats latently infected with feline herpesvirus. *American Journal of Veterinary Research*; 64:37-42, 2003.
4. HOSKINS, J. D. Feline respiratory diseases. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice* 29:945-958, 1999. 5 - GASKELL, R.; DAWSON, S. Feline respiratory disease, p. 97-102. In C. E. Greene (ed.). *Infectious diseases of the dog and cat*, 2nd ed. W. B. Saunders, Philadelphia, PA, 1998.
5. LOW, H. C.; POWELL, C. C.; VEIR, J. K.; HAWLEY, J. R.; LAPPIN, M. R. Prevalence of feline herpesvirus 1, *Chlamydomyces felis*, and *Mycoplasma* spp DNA in conjunctival cells collected from cats with and without conjunctivitis. *American Journal of Veterinary Research*; 68:643-648, 2007.
6. HELPS, C.; REEVES, N.; EGAN, K.; HOWARD, P.; HARBOUR, D. Detection of *Chlamydomyces felis* and feline herpesvirus by multiplex real-time PCR analysis. *Journal of Clinical Microbiology*; 41(6):2734-2736, 2003.
7. STILES, J.; MCDERMOTT, M.; WILLIS, M.; ROBERTS, W.; GREENE, C. Comparison of nested polymerase chain reaction, virus isolation, and fluorescent antibody testing for identifying feline herpesvirus in cats with conjunctivitis. *American Journal of Veterinary Research*; 58:804-807, 1997.
8. BURGESSER, K. M.; HOTALING, S.; SCHIEBEL, A.; ASHBAUGH, S. E.; ROBERTS, S. M.; COLLINS, J. K. Comparison of PCR, virus isolation, and indirect fluorescent antibody staining in the detection of naturally occurring feline herpesvirus infections. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*; 11:122-126, 1999.
9. MAGGS, D. J.; COLLINS, B. K.; THORNE, J. G.; NASISSE, M. P. Effects of L-lysine and L-arginine on in vitro replication of feline herpesvirus type-1. *American Journal of Veterinary Research*; 61:1474-1478, 2000.

10. MIDDELBOS, I. S.; GODOY, M. R.; FASTINGER, N. D.; FAHEY, G. C. A dose-response evaluation of spray dried yeast cell wall supplementation of diets fed to adult dogs: Effects on nutrient digestibility, immune indices, and fecal microbial populations. *Journal of Animal Science*; 0:1, 2007-2079, 2007.
11. DUGAS, B.; MERCENIER, A.; LENOIR-WIJKOOP, I.; ARNAUD, C.; DUGAS, N.; POSTAIRE, E. Immunity and Probiotics. *Immunology Today*, 20:9, 387-390, 1999.
12. KOCKHER, A.; TUCKER, L. The gut health response to dietary Bio Mos: effects on gut microbiology, intestinal morphology and immune response In: *Nutritional Biotechnology In The Feed And Food Industries*, 21st Annual symposium, 382-388. Nottingham University Press, 2005.