
RESEARCH COMPENDIUM

Natural Polyphenols
Active Immunoglobulins

Polifenoles naturales
Inmunoglobulinas activas

FEBRUARY • FEBRERO
2012



Affinity Petcare • Veterinary Nutrition • Research Team

www.affinity-advance.com



Mission Statement

This Research Compendium is the result of Affinity Petcare’s research program on Active Immunoglobulins (bioactive peptides) and Natural Polyphenols (fruit extracts rich in polyphenols).

This document is a compilation of the publications resulting from the research carried out in recent years, with the aim of incorporating the latest technology in animal nutrition into the premium range of Affinity products.

Different non-invasive techniques have been used to test effects on health; the activity of immunoglobulins in the digestive tract has been tested, as well as their effects on the inhibition of adhesion and growth of pathogenic bacteria, evaluated in an in-vitro system of enterocyte cell cultivation.

Research has likewise been carried out on the bioavailability, antioxidant capacities and the effect on immune system cells of the natural polyphenols in fruit, following their ingestion. In order to demonstrate these effects, the latest analytical technology was used, for example, nutrigenomics, which studies how nutrients can affect the gene expression of cells.

Affinity Petcare is committed to incorporating into the Advance brand only those ingredients whose beneficial influence on health has been scientifically proven.

.....
Celina Torre Lloveras
Head of the Research Team



Propósitos

El presente Research Compendium es el resultado del programa de investigación de Affinity Petcare sobre Inmunoglobulinas Activas (peptidos bio-activos) y Polifenoles Naturales (extractos de frutas ricos en polifenoles).

En este documento, se recogen las publicaciones obtenidas tras las investigaciones realizadas durante los últimos años para poder incorporar a la gama más alta de Affinity la última tecnología en nutrición animal.

Diferentes técnicas no invasivas han sido utilizadas para poder probar los efectos sobre la salud, así se ha probado desde la actividad de las inmunoglobulinas en el tracto digestivo, como sus efectos sobre la inhibición de la adhesión y crecimiento de bacterias patógenas evaluados en un sistema in-vitro de cultivo celular de enterocitos.

De la misma forma la biodisponibilidad, capacidad antioxidante y efectos sobre las células del sistema inmunitario de los polifenoles naturales de frutas han sido probados en diferentes estudios tras la ingestión de los mismos. Las últimas tecnologías de análisis como la nutrigenómica que estudia como los nutrientes pueden afectar la expresión de los genes de las células han sido utilizadas para poder demostrar estos efectos.

Affinity Petcare tiene el compromiso de incorporar bajo la marca Advance únicamente ingredientes cuyos efectos beneficiosos sobre la salud han podido ser demostrados científicamente.

.....
Celina Torre Lloveras
Director del equipo de investigación



Index

British Small Animal Veterinary Association (2011)

Use of an in-vitro model of the canine gut epithelium to study interactions with *Campylobacter* and *E. coli* 6

British Journal of Nutrition (2011)

Effect of citrus polyphenol- and curcumin-supplemented diet on inflammatory state in obese cats 8

American Journal of Veterinary Research (2010)

Effects of consuming diets containing various fats or citrus flavanones on plasma lipid and urinary F2-isoprostane concentrations in overweight cats 10

Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics (2009)

Plant Polyphenol Intake Alters Gene Expression in Canine Leukocytes 12

British Journal of Nutrition (2008)

Absorption and pharmacokinetics of green tea catechins in beagles 14

Animal Feed Science and Technology (2007)

Porcine immunoglobulins survival in the intestinal tract of adult dogs and cats fed dry food kibbles containing spray-dried porcine plasma (SDPP) or porcine immunoglobulin concentrate (PIC) 16

British Journal of Nutrition (2007)

Absorption and pharmacokinetics of grapefruit flavanones in beagles 18

Compendium on continuing education for the practicing veterinarian -North American Edition- (2006)

Effects of Oral Plant Polyphenols on Blood Antioxidant Status of Adult Dogs 20

Experimental Biology (2006)

The inhibitory effects of natural polyphenol extracts on mast cell release of PGD₂, TNF- α and histamine in dogs 22



Índice

British Small Animal Veterinary Association (2011)

Uso de un modelo in vitro del epitelio intestinal canino para estudiar las interacciones con las bacterias *Campylobacter* y *E. coli* 7

British Journal of Nutrition (2011)

Efecto de una dieta complementada con polifenoles de cítricos y curcumina sobre el estado inflamatorio de gatos obesos 9

American Journal of Veterinary Research (2010)

Efectos de una dieta con varias grasas o flavanonas de cítricos en las concentraciones plasmáticas de lípidos y de F2-isoprostano urinario en gatos con sobrepeso 11

Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics (2009)

La ingesta de polifenoles de origen vegetal altera la expresión genética de los leucocitos de los caninos 13

British Journal of Nutrition (2008)

Absorción y farmacocinética de las catequinas del té verde en los beagles 15

Animal Feed Science and Technology (2007)

Supervivencia de las inmunoglobulinas porcinas en el tracto intestinal de perros y gatos adultos alimentados con comida seca para mascotas con plasma porcino secado por spray-dry (SDPP) o concentrado de inmunoglobulinas porcinas (PIC) 17

British Journal of Nutrition (2007)

Absorción y farmacocinética de las flavanonas de pomelo en los beagles..... 19

Compendium on continuing education for the practicing veterinarian -North American Edition- (2006)

Efecto de la administración oral de polifenoles vegetales sobre la capacidad antioxidante de la sangre en perros adultos 21

Experimental Biology (2006)

Inhibición de la liberación de PGD₂, TNF- α e Histamina en mastocitos caninos por extractos naturales de polifenoles..... 23



British Small Animal Veterinary Association

Use of an in-vitro model of the canine gut epithelium to study interactions with Campylobacter and E. coli

ANDREA LYNCH, TRISTAN COGAN, EDWARD HALL, MICHAEL DAY
School of Veterinary Sciences, University of Bristol, Langford BS40 5DU, UK

ABSTRACT

Healthy intestinal epithelium acts as a barrier between bacteria and the host. Bacteria cross this barrier by adhering to and invading epithelial cells, or by breakdown of tight junctions. Although enteropathogenic bacteria are frequently cultured from faeces of dogs with enteropathies, identification of organisms to the species level is uncommon and whether they adhere and invade is unclear. This raises questions when considering treatment, particularly given concerns regarding inappropriate antibiotic usage. We used an in-vitro model that permits investigation of bacterial invasion and translocation through an epithelial barrier. Madin-Darby Canine Kidney (MDCK) cells were grown as monolayers to examine bacterial adhesion and invasion. MDCK cells were also cultured in transwell supports to monitor bacterial translocation and reduction in transepithelial electrical resistance (TEER), indicative of breakdown of tight junctions. *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. upsaliensis*, enteropathogenic *E. coli* (EPEC) and a commensal strain of *E. coli* were added to polarized cell monolayers alone or in combination. Bacterial adhesion and invasion was determined using a gentamicin protection assay. Tight junction integrity of monolayers was monitored to measure TEER and bacterial translocation across the monolayer determined. The model was used to test the effects of a porcine plasma product (PPP) that is incorporated into a commercial canine diet. All bacteria adhered to MDCK cells and there was no reduction in adherence in the presence of PPP. *Campylobacter upsaliensis* and *C. coli* did not invade cells in this model. *Campylobacter jejuni* did invade and this invasion was reduced in the presence of PPP; this reduction was most pronounced when *C. jejuni* was co-cultured with EPEC. All bacterial combinations reduced TEER, indicating a gradual breakdown of cells or tight junctions. TEER was not affected by the presence of PPP, but the translocation of EPEC was significantly reduced in its presence. This model permits investigation of bacterial-epithelial interaction and suggests that PPP may confer a cytoprotective role in the presence of *C. jejuni* and *E. coli* infections; and therefore may be of clinical benefit for dogs with intestinal disease. The finding that *C. jejuni* was invasive, whereas *C. coli* and *upsaliensis* were not, correlates with the observation that *C. jejuni* is associated with more severe disease.

Clinical Research Abstract,
Oral presentation, 2011



British Small Animal Veterinary Association

Uso de un modelo in vitro del epitelio intestinal canino para estudiar las interacciones con las bacterias Campylobacter y E. coli

ANDREA LYNCH, TRISTAN COGAN, EDWARD HALL, MICHAEL DAY
School of Veterinary Sciences, University of Bristol, Langford BS40 5DU, UK

RESUMEN

El epitelio intestinal sano actúa como barrera entre las bacterias y el huésped. Las bacterias atraviesan esta barrera adhiriéndose e invadiendo las células epiteliales o bien rompiendo uniones tipo tight-junction. A pesar de que a menudo las bacterias enteropatógenas se cultivan a partir de las heces de perros con enteropatías, la identificación de los organismos a nivel de especie es poco frecuente, y no queda claro si se produce la adhesión e invasión. Esto plantea interrogantes a la hora de considerar un tratamiento, sobre todo por las preocupaciones en torno al uso inapropiado de antibióticos. Aquí utilizamos un modelo in vitro que permite investigar la invasión y traslocación de las bacterias en una barrera epitelial. Se cultivaron células de riñón canino Madin-Darby (MDCK) como monocapas para examinar la adhesión e invasión bacteriana. También se cultivaron células MDCK en placas Transwell para hacer un seguimiento de la traslocación de las bacterias y la reducción de la resistencia eléctrica transepitelial (TEER), indicadora de la rotura de uniones tipo tight-junction. Se añadieron las bacterias *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. upsaliensis*, *E. coli* enteropatógena (EPEC) y una cepa comensal de *E. coli* a las monocapas de células polarizadas, ya fuera solas o combinadas. La adhesión e invasión bacteriana se determinaron mediante un ensayo de protección con gentamicina. Se controló la integridad de las uniones tipo tight-junction de las monocapas para medir la TEER, y se determinó la traslocación bacteriana en la monocapa. Este modelo se utilizó para comprobar los efectos de un producto de plasma porcino (PPP) que se incorpora a un alimento comercial para perros. Todas las bacterias se adhirieron a las células MDCK, y no se observó reducción de la adherencia con la presencia del PPP. Las bacterias *Campylobacter upsaliensis* y *C. coli* no invadieron las células en este modelo. La bacteria *Campylobacter jejuni* sí las invadió, y la invasión se redujo con la presencia del PPP; la reducción más pronunciada se observó cuando la bacteria *C. jejuni* se había cultivado en combinación con la bacteria EPEC. Todas las combinaciones de bacterias redujeron la TEER, indicando una rotura gradual de células o uniones estrechas. La TEER no se vio afectada por la presencia del PPP, pero la traslocación de la bacteria EPEC sí se redujo considerablemente con su presencia. Este modelo permite investigar la interacción bacteriano-epitelial, y sugiere que el PPP puede desempeñar un papel citoprotector en presencia de infecciones por *C. jejuni* y *E. coli*, por lo que puede tener beneficios clínicos en perros con trastornos intestinales. El hallazgo de que la bacteria *C. jejuni* es invasiva, mientras que las bacterias *C. coli* y *upsaliensis* no lo son, está correlacionado con la observación de que la bacteria *C. jejuni* se asocia a patologías más severas.

Clinical Research Abstract,
Presentación oral, 2011



British Journal of Nutrition

Effect of citrus polyphenol- and curcumin-supplemented diet on inflammatory state in obese cats

LERAY V, FREUCHET B, LE BLOC'H J, JEUNETTE I, TORRE C, NGUYEN P.
LUNAM Université, Oniris, National College of Veterinary Medicine, Food Science and Engineering,
Nutrition and Endocrinology Unit, Nantes F-44307, France

ABSTRACT

Among obesity-associated disorders, low-grade inflammation has been described. The putative therapeutic properties of citrus and curcumin polyphenols could be associated with their anti-inflammatory properties. Two diets supplemented either with hesperidin (0.05 %) and naringin (0.1 %) from citrus extract or with highly bioavailable curcumin from *Curcuma longa* extract (0.09 %) were fed to eight obese cats for two 8-week periods (cross-over study design) while maintaining animals in an obese state. Plasma acute-phase protein (APP; α 1-acid glycoprotein (AGP), serum amyloid A and haptoglobin) levels were assessed before and at the end of each test period. TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-12, IL-18, transforming growth factor- β , interferon (IFN)- γ mRNA levels were determined in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) by real-time PCR. Compared with pre-study values, supplementation with citrus polyphenols resulted in lower plasma AGP and haptoglobin concentrations, while that with curcumin resulted in lower plasma AGP concentration. There were no differences between the supplementations. TNF- α , IL-1 β , IL-4, IL-5, IL-10, IL-12, IL-18, transforming growth factor- β , mRNA levels remained unaffected by either dietary supplementation. In contrast, IFN- γ and IL-2 mRNA levels were lower at the end of the citrus and the curcumin supplementation, respectively. There were no differences between the supplementations. The present study results show a slight effect of citrus and curcumin supplementation on inflammatory markers expressed by PBMC, and a decreased concentration of APP, which are mainly expressed by the liver. This would confirm that hesperidin and naringin or highly bioavailable curcumin extract have beneficial effects, targeted in the liver and could improve the obesity-related inflammatory state.



British Journal of Nutrition

Efecto de una dieta complementada con polifenoles de cítricos y curcumina sobre el estado inflamatorio de gatos obesos

LERAY V, FREUCHET B, LE BLOC'H J, JEUNETTE I, TORRE C, NGUYEN P.
LUNAM Université, Oniris, National College of Veterinary Medicine, Food Science and Engineering,
Nutrition and Endocrinology Unit, Nantes F-44307, Francia

RESUMEN

Entre los trastornos asociados a la obesidad se ha descrito un ligero estado inflamatorio. Las supuestas propiedades terapéuticas de los polifenoles de cítricos y la curcumina podrían estar relacionadas con sus propiedades antiinflamatorias. Durante dos periodos de 8 semanas (diseño cross-over), se alimentó a 8 gatos obesos con dos dietas complementadas con hesperidina (0,05%) y naringina (0,1%) procedentes de extracto de cítricos o con curcumina de alta biodisponibilidad procedente de extracto de *Curcuma longa* (0,09%), y manteniendo a los animales en un estado obeso. Al inicio y al final de cada periodo de prueba se midieron los niveles plasmáticos de proteína de fase aguda (APP; α 1-glicoproteína ácida (AGP), amiloide sérico A y haptoglobina). Se determinaron los niveles de mRNA de TNF- α , la IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-12, IL-18, el factor de crecimiento transformante β y el interferón (IFN)- γ en células mononucleares de sangre periférica (PBMC) mediante PCR a tiempo real. En comparación con los valores previos al estudio, el complemento a base de polifenoles de cítricos tuvo como resultado menores concentraciones plasmáticas de AGP y haptoglobina, mientras que el complemento a base de curcumina tuvo como resultado una menor concentración plasmática de AGP. No había diferencias entre los complementos. Los niveles de mRNA de TNF- α , la IL-1 β , IL-4, IL-5, IL-10, IL-12, IL-18 y el factor de crecimiento transformante β no se vieron afectados por ninguno de los dos complementos alimenticios. En cambio, se observaron niveles inferiores de mRNA de IFN- γ y IL-2 al finalizar la administración del complemento cítrico y el complemento de curcumina, respectivamente. No hubo diferencias entre los complementos. Los resultados de este estudio ponen de manifiesto un ligero efecto de los complementos cítricos y de curcumina sobre los marcadores inflamatorios expresados por las PBMC y una disminución de la concentración de APP, expresados principalmente por el hígado. Esto confirmaría que la hesperidina y la naringina o el extracto de cúrcuma de alta biodisponibilidad tienen efectos beneficiosos, centrados en el hígado, y podrían mejorar los estados inflamatorios relacionados con la obesidad.



American Journal of Veterinary Research

Effects of consuming diets containing various fats or citrus flavanones on plasma lipid and urinary F2-isoprostane concentrations in overweight cats

JEUSETTE I, TORRE C, SALAS A, IRACULIS N, COMPAGNUCCI M, ROMANO V, KIRSCHVINK N.
Affinity Petcare, R&D, Pl Xavier Cugat 2, Ed D, Planta 3a, Sant Cugat del Vallès, ES-08174 Barcelona, Spain
ijeusette@affinity-petcare.com

ABSTRACT

Objective: To compare in overweight cats the effects of feeding moderate-energy diets with moderate fat content but with saturated fat (beef tallow), saturated fat plus citrus flavanones, or monounsaturated fat (olive oil) on plasma lipids and urinary F2-isoprostane concentrations.

Animals: 20 overweight cats with mean \pm -SD body weight of 5.2 \pm -0.2 kg and mean body condition score of 7.8 \pm -0.2 (9-point scale).

Procedures: Body weight, plasma total cholesterol and triacylglycerol concentrations, and urinary F2-isoprostane concentration (as marker of oxidative stress) were measured at the beginning of the study, when the cats were fed a maintenance diet, and after 1, 3, and 5 months of consuming test diets.

Results: In overweight cats, citrus flavanones supplementation of the saturated fat diet was associated with lower energy intake and with lower plasma lipids and urinary F2-isoprostane concentrations than in cats fed the saturated fat alone. Monounsaturated fat feeding resulted in lower food intake than in cats fed saturated fat. However, plasma lipids concentrations remained within reference limits throughout the study.

Conclusions and clinical relevance: Although the clinical relevance of these findings is unknown, the significant differences detected indicated that lower energy intake with citrus flavanones supplementation or with substitution of saturated fat for monounsaturated fat could be good strategies for decreasing plasma lipids concentration and oxidative stress in overweight cats, even before considerable loss of body weight is observed.



American Journal of Veterinary Research

Efectos de una dieta con varias grasas o flavanonas de cítricos en las concentraciones plasmáticas de lípidos y de F2-isoprostano urinario en gatos con sobrepeso

JEUSETTE I, TORRE C, SALAS A, IRACULIS N, COMPAGNUCCI M, ROMANO V, KIRSCHVINK N.
Affinity Petcare, R&D, Pl Xavier Cugat 2, Ed D, Planta 3a, Sant Cugat del Vallès, ES-08174 Barcelona, España
ijeusette@affinity-petcare.com

RESUMEN

Objetivo: Comparar, en gatos con sobrepeso, los efectos de una dieta moderada en energía, con un contenido moderado de grasa, pero grasa saturada (sebo vacuno), grasas saturadas con flavanonas de cítricos, o bien grasas monoinsaturadas (aceite de oliva), en las concentraciones de lípidos y F2-isoprostano urinario en plasma.

Animales: 20 gatos con sobrepeso con un peso corporal medio \pm -DE de 5,2 \pm 0,2 kg y una condición física media de 7,8 \pm 0,2 (en una escala de 9 puntos).

Procedimientos: Se midieron el peso corporal, la concentración plasmática de colesterol total y triacilglicerol y F2-isoprostano urinario (como marcador de estrés oxidativo) al inicio del estudio, mientras los gatos consumían una dieta de mantenimiento, y a 1, 3 y 5 meses de consumir las dietas experimentales.

Resultados: En los gatos con sobrepeso, el hecho de complementar la dieta de grasas saturadas con flavanonas de cítricos se asoció a una menor ingesta energética y a una menor concentración plasmática de F2-isoprostano urinario y lípidos que en los gatos que consumían la dieta de grasas saturadas sin complementos. La ingesta de grasa monoinsaturada tuvo como resultado una menor ingesta de comida que en el caso de los gatos alimentados con grasa saturada. Sin embargo, las concentraciones plasmáticas de lípidos permanecieron dentro de los límites de referencia durante todo el estudio.

Conclusiones y relevancia clínica: A pesar de que se desconoce la relevancia clínica de estos hallazgos, las diferencias significativas detectadas indican que una menor ingesta energética complementada con flavanonas de cítricos o bien sustituyendo la grasa saturada por grasa monoinsaturada podría ser una buena estrategia para reducir la concentración plasmática de lípidos y el estrés oxidativo en los gatos con sobrepeso, incluso antes de observar una pérdida considerable de peso corporal.



Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics

Plant Polyphenol Intake Alters Gene Expression in Canine Leukocytes

ANNA SALAS¹, FRANCESC SUBIRADA², MIGUEL PÉREZ-ENGISO³, FRANCESC BLANCH¹,
ISABELLE JEUNETTE¹, VÍCTOR ROMANO¹, CELINA TORRE¹

ABSTRACT

Background/Aims: Polyphenol compounds may explain most of the health-related beneficial effects of plants and vegetables, mainly through their antioxidant properties. The aim of the study was to assess the main changes on leukocyte gene expression of dogs caused by intake of three natural polyphenol-rich extracts and to compare them with caloric restriction.

Methods: 20 female dogs were divided into 5 groups: control fed ad libitum (C), caloric-restricted to 30% less than control (CR), and 3 groups fed ad libitum supplemented with citrus extract (CE), green tea extract (GTE) or grape seed extract (GSE). Leukocytes gene expression was analyzed in a specially designed microarray.

Results: CE treatment mainly downregulated genes related to inflammatory (IL-8, VLA-4) and cytotoxic response (GRP 58) as well as proliferation of leukocytes. GTE induced gene expression related to leukocyte proliferation and signaling (GNAQ, PKCB). GSE upregulated some of the genes increased by CE treatment. CR downregulated genes related with energy metabolism (ATP5A1, COX7C) and inflammatory markers (VLA-4).

Conclusion: A chronic ingestion of citric, grape seed and green tea polyphenols is able to modulate canine leukocyte functions through changes in gene expression. CE ingestion reduces expression of some genes also diminished by a 30% caloric restriction.



Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics

La ingesta de polifenoles de origen vegetal altera la expresión genética de los leucocitos de los caninos

ANNA SALAS¹, FRANCESC SUBIRADA², MIGUEL PÉREZ-ENCISO³, FRANCESC BLANCH¹,
ISABELLE JEUNETTE¹, VÍCTOR ROMANO¹, CELINA TORRE¹

RESUMEN

Antecedentes/objetivos: los compuestos polifenólicos podrían explicar la mayoría de los efectos beneficiosos que las plantas tienen para la salud, básicamente por sus propiedades antioxidantes. El objetivo del estudio era evaluar los principales cambios que se producen en la expresión genética de los leucocitos de los perros con la ingesta de tres extractos naturales ricos en polifenoles y compararlos con la restricción calórica.

Métodos: se utilizaron 20 perros hembra y se dividieron en 5 grupos: grupo control alimentado *ad libitum* (C), grupo con restricción calórica del 30% respecto al grupo de control (CR) y 3 grupos alimentados *ad libitum* con un suplemento de extracto de cítricos (CE), extracto de té verde (GTE) o extracto de semilla de uva (GSE). La expresión genética de los leucocitos se analizó en un microarray especialmente diseñado al efecto.

Resultados: el tratamiento con CE básicamente ejerció una inhibición de la expresión de los genes relacionados con una respuesta inflamatoria (IL-8, VLA-4) y citotóxica (GRP 58), y de los relacionados con la proliferación de los leucocitos. El GTE indujo la expresión de los genes relacionados con la señalización y proliferación de los leucocitos (GNAQ, PKCB). El GSE estimuló la expresión de algunos de los genes incrementados con el tratamiento con CE. La CR ejerció una inhibición de la expresión de los genes relacionados con el metabolismo energético (ATP5A1, COX7C) y los marcadores inflamatorios (VLA-4).

Conclusión: la ingesta crónica de polifenoles de cítricos, semilla de uva y té verde puede modular funciones de los leucocitos de los caninos a través de cambios en la expresión génica. La ingesta de CE reduce la expresión de algunos genes disminuida también por una restricción calórica del 30%.



British Journal of Nutrition

Absorption and pharmacokinetics of green tea catechins in beagles

MATA-BILBAO MDE L, ANDRÉS-LACUEVA C, ROURA E, JÁUREGUI O, ESCRIBANO E, TORRE C, LAMUELA-RAVENTÓS RM.
Department of Nutrition and Food Science, XARTA, INSA, Faculty of Pharmacy, University of Barcelona,
Av. Joan XXIII s/n, 08028 Barcelona, Spain

ABSTRACT

The present study evaluates for the first time in dogs, the kinetics of green tea catechins and their metabolic forms in plasma and urine. Ten beagles were administered 173 mg (12.35 mg/kg body weight) of catechins as a green tea extract, in capsules. Blood samples were collected during 24 h after intake and urine samples were collected during the following periods of time: 0-2, 2-6, 6-8 and 8-24 h. Two catechins with a galloyl moiety and three conjugated metabolites were detected in plasma. Most of the detected forms in plasma reached their maximum plasma concentration (C_{max}) at around 1 h. Median C_{max} for (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG), (-)-epicatechin-3-gallate (ECG), (-)-epigallocatechin glucuronide (EGC-glucuronide), (-)-epicatechin glucuronide (EC-glucuronide), (-)-epicatechin sulphate (EC-sulphate) were 0.3 (range 0.1-1.9), 0.1 (range 0-0.4), 0.8 (range 0.2-3.9), 0.2 (range 0.1-1.7) and 1 (range 0.3-3.4) micromol/l, respectively. The areas under the plasma concentration v. time curves (AUC₀₋₂₄) were 427 (range 102-1185) micromol/l x min for EGC-glucuronide, 112 (range 53-919) micromol/l x min for EC-sulphate, 71 (range 26-306) micromol/l x min for EGCG, 40 (range 12-258) micromol/l x min for EC-glucuronide and 14 (range 0.1-124) micromol/l x min for ECG. The values of mean residence time (MRT₀₋₂₄) were 5 (range 2-16), 2 (range 1-11), 10 (range 2-13), 3 (range 2-16) and 2.4 (range 1-18) h for EGCG, ECG, EGC-glucuronide, EC-glucuronide and EC-sulphate, respectively. In urine, catechins were present as conjugated forms, suggesting bile excretion of EGCG and ECG. Green tea catechins are absorbed following an oral administration and EGC-glucuronide is the metabolic form that remains in the organism for a longer period of time, suggesting that this compound could suffer an enterohepatic cycle.

Br J Nutr.

2008 Sep; 100(3):496-502. Epub 2008 Jan 21



British Journal of Nutrition

Absorción y farmacocinética de las catequinas del té verde en los beagles

MATA-BILBAO MDE L, ANDRÉS-LACUEVA C, ROURA E, JÁUREGUI O, ESCRIBANO E, TORRE C, LAMUELA-RAVENTÓS RM.
Department of Nutrition and Food Science, XARTA, INSA, Faculty of Pharmacy, University of Barcelona,
Av. Joan XXIII s/n, 08028 Barcelona, España

RESUMEN

El presente estudio evalúa por primera vez en perros la cinética de las catequinas del té verde y sus formas metabólicas en el plasma y la orina. Se administraron 173 mg (12,35 mg/kg de peso corporal) de catequinas como extracto de té verde a un grupo de 10 beagles (en cápsulas). Se tomaron muestras de sangre durante las 24 horas posteriores a la toma, así como muestras de orina en los siguientes periodos de tiempo: 0-2, 2-6, 6-8 y 8-24 horas. Se detectaron dos catequinas con grupo funcional de ácido gálico y tres metabolitos conjugados en el plasma. La mayoría de las formas detectadas en plasma alcanzaron su máximo nivel de concentración plasmática (C_{max}) transcurrida alrededor de una hora. Las medianas de C_{max} de (-)-galato de epigallocatequina-3 (EGCG), (-)-galato de epicatequina-3 (ECG), (-)-glucuronido de epigallocatequina (EGC-glucuronide), (-)-glucuronido de epicatequina (EC-glucuronide) y (-)-sulfato de epicatequina (EC-sulphate) fueron de 0,3 (rango 0,1-1,9), 0,1 (rango 0-0,4), 0,8 (rango 0,2-3,9), 0,2 (rango 0,1-1,7) y 1 (rango 0,3-3,4) micromol/l, respectivamente. Las áreas bajo la curva de concentración plasmática- tiempo (AUC₀₋₂₄) registraron los siguientes valores: 427 (rango 102-1.185) micromol/l/min para el EGC-glucuronide, 112 (rango 53-919) micromol/l/min para el EC-sulphate, 71 (rango 26-306) micromol/l/min para el EGCG, 40 (rango 12-258) micromol/l/min para el EC-glucuronide y 14 (rango 0,1-124) micromol/l/min para el ECG. Los valores del tiempo medio de permanencia (MRT₀₋₂₄) fueron los siguientes: 5 (rango 2-16), 2 (rango 1-11), 10 (rango 2-13), 3 (rango 2-16) y 2,4 (rango 1-18) horas para el EGCG, el ECG, el EGC-glucuronide, el EC-glucuronide y el EC-sulphate, respectivamente. En la orina, las catequinas estaban presentes como formas conjugadas, lo que sugiere excreción biliar del EGCG y el ECG. Las catequinas del té verde se absorben tras la administración oral; el EGC-glucuronide es la forma metabólica que permanece más tiempo en el organismo, lo que sugiere que este compuesto podría experimentar un ciclo enterohepático.



Animal Feed Science and Technology

Porcine immunoglobulins survival in the intestinal tract of adult dogs and cats fed dry food kibbles containing spray-dried porcine plasma (SDPP) or porcine immunoglobulin concentrate (PIC)

C. RODRIGUEZ¹, F. BLANCH², V. ROMANO², N. SABORIDO¹, J. RODENAS¹, J. POLO¹

¹APC-EUROPE, Avda Sant Julià 246-258, Pol Ind El Congost, 08400 Granollers, Spain

²Affinity Petcare, Pl Xavier Cugat 2, Ed. D, Pl 3a, 08174 Sant Cugat del Valles, Barcelona, Spain

ABSTRACT

Survival of orally administered porcine immunoglobulins (PIG) was measured in the gastrointestinal tract (GIT) of adult dogs and cats fed diets containing spray-dried porcine plasma (SDPP) or porcine immunoglobulins concentrate (PIC). Nine adult Beagles and 12 mixed breed adult cats used in a 3×3 Latin square design with three and four replicates by diet, respectively. Animals were fed one of three experimental extruded dry kibble diets during 42 days. The control diet was a commercial diet coated with fat and digest, and the two experimental diets were similar to the control diet but they included 10 g of either SDPP or PIC/kg of diet. After a 10-day adaptation period to the diet total faeces were collected for four consecutive days and food and water intake, faecal score and digestibility of dietary components were determined. No significant differences in nutrient digestibility were found in dogs, although crude fiber (CF) ($P<0.01$) and ash ($P<0.05$) digestibilities were improved in cats fed the SDPP diet. The presence of dog or cat IgA and porcine IgG was measured in the faeces, and the survival of porcine IgG was calculated. The Fab and Fc fragments of porcine IgG were determined in faeces to identify the proportion of bioactive fragments that resisted the pass through the GIT. The survival of porcine IgG throughout the GIT was 7.6% and 4.9% for dogs and cats, respectively and was independent of the IgG source (SDPP or PIC) used. The porcine bioactive fragment Fab was identified in the faeces of both species fed the two sources of porcine immunoglobulins. The inclusion of porcine immunoglobulins in the diet significantly reduced ($P<0.05$) the presence of IgA in the faeces of both species. This study demonstrates that dietary porcine IgG partially resists the digestion process in dogs and cats. The identification of bioactive fragment Fab in faeces, which contains the antigen combining site, and the reduction of IgA, indicate that porcine IgG may transfer passive immunity at the intestinal level in both species as it has been suggested for humans and other mammals.

Animal Feed Science and Technology

Supervivencia de las inmunoglobulinas porcinas en el tracto intestinal de perros y gatos adultos alimentados con comida seca para mascotas con plasma porcino secado por spray-dry (SDPP) o concentrado de inmunoglobulinas porcinas (PIC)

C. RODRIGUEZ¹, F. BLANCH², V. ROMANO², N. SABORIDO¹, J. RODENAS¹, J. POLO¹

¹APC-EUROPE, Avda Sant Julià 246-258, Pol Ind El Congost, 08400 Granollers, España

²Affinity Petcare, Pl Xavier Cugat 2, Ed. D, Pl 3a, 08174 Sant Cugat del Valles, Barcelona, España

RESUMEN

Se evaluó la supervivencia de las inmunoglobulinas porcinas (PIC) administradas por vía oral en el tracto intestinal (GIT) de perros y gatos adultos alimentados con una dieta que contenía plasma porcino secado por spray-dry (SDPP) o concentrado de inmunoglobulinas porcinas (PIC). Para el estudio se utilizaron 9 beagles adultos y 12 gatos mestizos adultos en un diseño de cuadrado latino de 3 x 3 con tres y cuatro repeticiones por dieta, respectivamente. Se alimentó a los animales con una de las tres dietas experimentales a base de comida seca para mascotas durante 42 días. La dieta control era una dieta comercial con recubrimiento de grasa y digest, y las dos dietas experimentales eran parecidas a la dieta de control pero incluían 10 gramos de SDPP o de PIC por kilo. Transcurrido un periodo de 10 días de adaptación a la dieta, se recogieron todas las heces durante cuatro días consecutivos y se determinaron el consumo de alimento y de agua, la consistencia de las heces y la digestibilidad de los componentes de la dieta. No se hallaron diferencias significativas en cuanto a la digestibilidad de los nutrientes en perros, pero en los gatos alimentados con la dieta con SDPP se observó una mejora de la digestibilidad de la fibra bruta (CF) ($P < 0,01$) y las cenizas ($P < 0,05$). Se midió la presencia de IgA caninas o felinas y de IgG porcinas en las heces, y se calculó la supervivencia de las IgG porcinas. Se determinaron que los fragmentos Fab y Fc de las IgG porcinas presentes en las heces para identificar la proporción de fragmentos bioactivos que resistían el paso por el GIT. La supervivencia de las IgG porcinas tras su paso por el GIT fue del 7,6% en el caso de los perros y del 4,9% en el caso de los gatos, y resultó ser independiente de la fuente de IgG utilizada (SDPP o PIC). El fragmento porcino bioactivo Fab se identificó en las heces de ambas especies, a las que se administraron las dos fuentes de inmunoglobulinas porcinas. La inclusión de inmunoglobulinas porcinas en la dieta redujo significativamente ($P < 0,05$) la presencia de IgA en las heces de ambas especies. Este estudio demuestra que la IgG porcina en la dieta resiste parcialmente el proceso de digestión en perros y gatos. La identificación del fragmento bioactivo Fab en las heces, que contiene el centro de unión con el antígeno, y la reducción de la IgA indican que la IgG porcina puede transferir inmunidad pasiva a nivel intestinal en ambas especies, tal como se ha sugerido para el caso de los humanos y otros mamíferos.



British Journal of Nutrition

Absorption and pharmacokinetics of grapefruit flavanones in beagles

MATA-BILBAO MDE L, ANDRÉS-LACUEVA C, ROURA E, JÁUREGUI O, ESCRIBANO E, TORRE C, LAMUELA-RAVENTÓS RM.
Department of Nutrition and Food Science, CerTA, Faculty of Pharmacy, University of Barcelona,
Av Joan XXIII s/n, Barcelona, Spain

ABSTRACT

The present study evaluated the pharmacokinetics of three different grapefruit flavanone forms in dog plasma and demonstrated their absorption after an oral intake of a grapefruit extract; pharmacokinetic parameters of these forms were also determined. Ten healthy beagles were administered 70 mg citrus flavonoids as a grapefruit extract contained in capsules, while two additional dogs were used as controls and given an excipient. The grapefruit flavanone naringin, along with its metabolites naringenin and naringenin glucuronide, was detected in dog plasma. Blood samples were collected between 0 and 24 h after administration of the extract. Naringin reached its maximum plasma concentration at around 80 min, whereas naringenin and naringenin glucuronide reached their maximum plasma concentrations at around 20 and 30 min, respectively. Maximum plasma concentrations of naringin, naringenin and naringenin glucuronide (medians and ranges) were 0.24 (0.05-2.08), 0.021 (0.001-0.3) and 0.09 (0.034-0.12) micromol/l, respectively. The areas under the curves were 23.16 l (14.04-70.62) min x micromol/l for naringin, 1.78 (0.09-4.95) min x micromol/l for naringenin and 22.5 (2.74-99.23) min x micromol/l for naringenin glucuronide. The median and range values for mean residence time were 3.3 (1.5-9.3), 2.8 (0.8-11.2) and 8.0 (2.3-13.1) h for naringin, naringenin and naringenin glucuronide, respectively. The results of the present study demonstrate the absorption of grapefruit flavanones via the presence of their metabolites in plasma, thus making an important contribution to the field since the biological activities ascribed to these compounds rely on their specific forms of absorption.



British Journal of Nutrition

Absorción y farmacocinética de las flavanonas de pomelo en los beagles

MATA-BILBAO MDE L, ANDRÉS-LACUEVA C, ROURA E, JÁUREGUI O, ESCRIBANO E, TORRE C, LAMUELA-RAVENTÓS RM.
Department of Nutrition and Food Science, CerTA, Faculty of Pharmacy, University of Barcelona,
Av Joan XXIII s/n, Barcelona, España

RESUMEN

El presente estudio evaluó la farmacocinética de tres formas diferentes de flavanonas de pomelo en el plasma de perros y demostró su absorción tras la ingestión oral de un extracto de pomelo; asimismo, se determinaron los parámetros farmacocinéticos de estas formas. Se utilizaron 10 beagles sanos y se les administraron cápsulas con 70 mg de flavonoides de cítricos en forma de extracto de pomelo, mientras que a dos perros adicionales, que fueron utilizados como control, se les administró un excipiente. La flavanona naringina del pomelo, junto con sus metabolitos naringenina y glucurónido de naringenina, se detectaron en el plasma de los perros. Se tomaron muestras de sangre entre las 0 y 24 horas desde la administración del extracto. La naringina alcanzó su máxima concentración plasmática transcurridos alrededor de 80 minutos, mientras que la naringenina y el glucurónido de naringenina alcanzaron sus máximas concentraciones plasmáticas transcurridos alrededor de 20 y 30 minutos, respectivamente. Las concentraciones plasmáticas máximas de naringina, naringenina y glucurónido de naringenina (medianas y rangos) fueron las siguientes: 0,24 (0,05-2,08), 0,021 (0,001-0,3) y 0,09 (0,034-0,12), respectivamente. Las áreas bajo la curva registraron los siguientes valores: 23,16 l (14,04-70,62) min/micromol para la naringina, 1,78 (0,09-4,95) min/micromol/l para la naringenina y 22,5 (2,74-99,23) min/micromol/l para el glucurónido de naringenina. Los valores medianos y los rangos en lo que respecta al tiempo medio de permanencia fueron los siguientes: 3,3 (1,5-9,3), 2,8 (0,8-11,2) y 8,0 (2,3-13,1) horas para la naringina, la naringenina y el glucurónido de naringenina, respectivamente. Los resultados del presente estudio demuestran la absorción de las flavanonas de pomelo a través de la presencia de sus metabolitos en el plasma, lo que constituye una importante contribución en este campo, ya que las actividades biológicas atribuidas a estos compuestos dependen de sus formas específicas de absorción.



Compendium on continuing education for the practicing veterinarian -North American Edition-

Effects of Oral Plant Polyphenols on Blood Antioxidant Status of Adult Dogs

C. TORRE, I. JEUNETTE, V. ROMANO, LL. VILASECA,
Affinity-Petcare S.A., R&D Department, Barcelona, Spain

ABSTRACT

Introduction: A high antioxidant capacity of plant polyphenols (PP) has been observed both in vitro and in vivo in humans and experimental animals.

Objective: The objective of this study was to evaluate the effects of oral plant polyphenols on the blood antioxidant status of dogs.

Materials and Methods: 20 adult female Beagle dogs were divided into 5 groups (CE, citric extract; GTE, green tea extract; GSE, grape seed extract; IR, intake restriction; C, control). All groups were fed a commercial dry dog food for 3 months, either "ad libitum" (CE, GTE, GSE and C) or on a 35% intake restriction (IR). PP extracts were orally administered at a dose of: 68 mg Citrus naringin/ dog/day (CE); 77 mg Green tea epigallocatechin gallate (EGCG)/ dog/day (GTE); 45 mg grape seed proanthocyanidins/ dog/day (GSE). After 3 months, blood was analyzed for antioxidant status of dogs. Antioxidant capacity of water soluble (CATH) and lipid soluble (CATL) components were evaluated by photosensitized chemo-luminescence (Photochem system, Analyticaljena, Germany). Reduced (GSH) and Oxidized (GSSG) glutathione were analyzed with a colorimetric assay (OxyResearch, UK) and lipid peroxides were determined by spectrophotometry with an Oxysat kit (Biomedica, Austria).

Results (mean±SEM): Blood total glutathione (GSHT) was 1553±31 µM for C group. It was decreased by food restriction (1073±59 µM, p<0.05) but not affected by PP intake. GSSG was 109.3±29.3 µM for C group and was decreased in GTE group (63.8 ±12.7 µM, p<0.08). GSHT/GSSG ratio was 27.2±9.1b, 14.7±2.3a, 13.9±1.1a, 12.7±1.2a, 16.5±2.9ab respectively for GTE, CE, GSE, IR and C (p<0.05). CATH for C group was 20.25±1.9 nmol equi AA/ml and increased in CE group (42.5±12, p<0.03). CATL (nmol equi TROLOX/ml) were not affected by any treatment. Blood lipid peroxides were 64.3±12.5ba, 111.0±37.4b, 84.8±15.2ba, 66.8±12.4ba, 51.0±4.1a µmol/ml for C, IR, GSE, GTE and CE groups respectively (p<0.05).

Conclusion: Oral administration of green tea polyphenols (EGCG) and citric polyphenols (naringin) can significantly decrease some dog blood biomarkers of oxidation.



Compendium on continuing education for the practicing veterinarian -North American Edition-

Efecto de la administración oral de polifenoles vegetales sobre la capacidad antioxidante de la sangre en perros adultos

C. TORRE, I. JEUNETTE, V. ROMANO, LL. VILASECA,
Affinity-Petcare S.A., R&D Department, Barcelona, España

RESUMEN

Introducción: se ha observado una elevada capacidad antioxidante de los polifenoles de origen vegetal (PP) in vitro e in vivo, tanto en humanos como en animales experimentales.

Objetivo: el objetivo de este estudio era evaluar los efectos de la administración oral de PP sobre la capacidad antioxidante de la sangre en los perros.

Materiales y métodos: se utilizaron 20 beagles hembra adultos y se dividieron en 5 grupos (CE, extracto de cítricos; GTE, extracto de té verde; GSE, extracto de semilla de uva; IR, restricción de la ingesta; C, control). Todos los grupos fueron alimentados con una dieta seca comercial durante 3 meses, ya fuera *ad libitum* (grupos CE, GTE, GSE y C) o aplicando una restricción de la ingesta del 35% (grupo IR). Los extractos de PP se administraron oralmente en las siguientes dosis: 68 mg de naringina de cítricos por perro y día (CE); 77 mg de galato de epigallocatequina de té verde (EGCG) por perro y día (GTE); 45 mg de proantocianidinas de semilla de uva por perro y día (GSE). A los 3 meses se realizó un análisis de sangre para comprobar el status atioxidante del perro. La capacidad antioxidante de los componentes hidrosolubles (CATH) y liposolubles (CATL) se evaluó por quimioluminiscencia (sistema Photochem, Analyticaljena, Alemania). Se analizaron el glutatión reducido (GSH) y el glutatión oxidado (GSSG) mediante un ensayo colorimétrico (OxyResearch, Reino Unido), y se determinaron los peróxidos de lípidos mediante espectrofotometría con un kit Oxysat (Biomedica, Austria).

Resultados (media±ESM): el glutatión total en sangre (GSHT) fue de 1.553±31 µM para el grupo C. Disminuyó por la restricción de comida (1.073±59 µM, p<0,05) pero no se vio afectado por la ingesta de PP. El GSSG fue de 109,3±29,3 µM para el grupo C, y disminuyó en el grupo GTE (63,8 ±12,7 µM, p<0,08). El ratio GSHT/GSSG fue de 27,2±9,1b, 14,7±2,3a, 13,9±1,1a, 12,7±1,2a y 16,5±2,9ab, respectivamente, para los grupos GTE, CE, GSE, IR y C (p<0,05). En el grupo C, el CATH fue de 20,25±1,9 nmol equi AA/ml, y aumentó en el grupo CE (42,5±12, p<0,03). Los CATL (nmol equi TROLOX/ml) no se vieron afectados por ningún tratamiento. Los peróxidos en sangre fueron los siguientes: 64,3±12,5ba, 111,0±37,4b, 84,8±15,2ba, 66,8±12,4ba y 51,0±4,1a µmol/ml para los grupos C, IR, GSE, GTE y CE, respectivamente (p<0,05).

Conclusión: la administración oral de polifenoles de té verde (EGCG) y polifenoles de cítricos (naringina) puede reducir considerablemente algunos de los biomarcadores sanguíneos de oxidación en perros.



Experimental Biology

The inhibitory effects of natural polyphenol extracts on mast cell release of PGD₂, TNF- α and histamine in dogs

C. TORRE¹, V. ROMANO¹, LL. VILASECA¹, P. BRAZÍS², A. PUIGDEMONT²

Department of Nutrition and Food Science, CerTA, Faculty of Pharmacy, University of Barcelona,
Av Joan XXIII s/n, Barcelona, Spain

ABSTRACT

Objective: The aim of this study is to assess the potential of fruit extracts containing varying amounts of naringin, hesperidin, rutin, quercetin and anthocyanin to inhibit the release of inflammatory mediators in a canine mast cell line.

Materials and methods: Cell culture, cell activation and analysis: Histamine release (Elisa, Immunotech, France) was evaluated in isolated canine skin mast cells; PGD₂ release (enzyme immunoassay or EIA, Cayman Chemical Company, MI, U.S.) and TNF- α release (cytotoxic bioassay) were assessed using a canine mastocytoma cell line (C2). The release of inflammatory mediators was studied by stimulating the cells with calcium ionophore A23187.

Results: Results showed that quercetin and other natural polyphenol compounds (naringin, hesperidin, rutin) produced a dose-dependent inhibition in the histamine release of canine mast cells (a significant reduction for the highest dose), of 59%, 34%, 44%, 32% for quercetin, hesperidin-rich extract (HRE), naringin-rich extract (NRE) and mixed extract (MCF), respectively. PGD₂ release was significantly reduced ($p < 0.05$) by quercetin (35-76% at 3.4 to 34 $\mu\text{g/ml}$) and TNF- α release was significantly reduced ($p < 0.05$) by quercetin and hesperidin-rich extract (52-81% at 3.4 to 34 $\mu\text{g/ml}$ of quercetin and 50-66% at 0.58 to 5.8 $\mu\text{g/ml}$ of HRE).

Conclusion: It can be concluded that natural polyphenol extracts (quercetin, naringin, hesperidin, anthocyanins) are able to inhibit inflammatory mediators in canine mast cells. These results suggest that the addition of certain polyphenols in canine diets may help prevent symptoms of allergic and chronic inflammatory diseases. This effect must be tested in vivo.



Experimental Biology

Inhibición de la liberación de PGD₂, TNF- α e Histamina en mastocitos caninos por extractos naturales de polifenoles

C.TORRE¹, V.ROMANO¹, LL. VILASECA¹, P. BRAZÍS², A. PUIGDEMONT²

Department of Nutrition and Food Science, CerTA, Faculty of Pharmacy, University of Barcelona, Av Joan XXIII s/n, Barcelona, España

RESUMEN

Objetivo: El objetivo de este estudio es valorar el potencial de extractos vegetales de frutas que contienen unas cantidades variables de naringina, hesperidina, rutina, quercetina y antocianinas para inhibir la liberación de mediadores inflamatorios, en una línea celular de mastocitos caninos.

Materiales y métodos: Cultivo celular, activación de células y análisis: la liberación de histamina (Elisa, Immunotech, France) fue valorada en mastocitos caninos aislados de piel y la liberación de PGD₂ (inmunoensayo enzimático o EIA, Cayman Chemical Company, MI, USA) y TNF- α (bioensayo citotóxico) fueron valorados usando una línea celular canina de mastocitomas (C2). La liberación de mediadores de la inflamación se estudió estimulando las células con ionóforo cálcico A23187.

Resultados: Los resultados demostraron que la quercetina y otros compuestos polifenoles naturales (naringina, hesperidina, rutina) producen una inhibición (dosis dependiente) de la liberación de histamina de los mastocitos caninos (reducción significativa para la dosis mayor) de 59, 34, 44, 32 % para quercetina, extracto rico en hesperidina (HRE), extracto rico en naringina (NRE), y extracto mixto (MCF) respectivamente. La liberación de PGD₂ se redujo significativamente ($p < 0,05$) por la quercetina (35 – 76% a 3,4 – 34 $\mu\text{g/ml}$) y el TNF- α se redujo significativamente ($p < 0,05$) por la quercetina y el extracto rico en hesperidina (52-81 % a 3,4 – 34 $\mu\text{g/ml}$ de quercetina y 50 – 66% a 0,58 – 5,8 $\mu\text{g/ml}$ del HRE).

Conclusiones: Se puede concluir que los extractos naturales de polifenoles (quercetina, naringina, hesperidina, antocianinas) son capaces de inhibir los compuestos mediadores de la inflamación en los mastocitos caninos. Estos resultados sugieren que la adición de algunos polifenoles en las dietas caninas puede ayudar a la prevención de síntomas de enfermedades alérgicas e inflamatorias crónicas. Este efecto debe ser comprobado in vivo.



Affinity Petcare · Veterinary Nutrition · Research Team

www.affinity-advance.com



NEW FORMULA!
Superior Taste · Sabor Superior
Gusto Superiore · Goût Supérieur



REINFORCED FORMULA
IMMUNEPLUS



WITH
SCIENTIFICALLY PROVEN
ACTIVE IMMUNOGLOBULINS
& NATURAL POLYPHENOLS