

## Effect of diet supplementation with meal of *Agave tequilana* stems on hematological indicators and blood biochemistry of fattening rabbits

### Efecto de la suplementación dietética con harina de tallos de *Agave tequilana* en los indicadores hematológicos y bioquímica sanguínea de conejos de ceba

Maidelys Iser<sup>1</sup>, M. Valdiviá<sup>2</sup>, D. Sanchez<sup>3</sup>, M. Rosales<sup>3</sup>, D. Más<sup>4</sup> and Y. Martínez<sup>5\*</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Granma, Bayamo, Granma, Cuba

<sup>2</sup>Instituto de Ciencia Animal, Apartado Postal 24, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba

<sup>3</sup>Universidad de Guadalajara, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA), Departamento de Producción Animal, Guadalajara, Jalisco, México

<sup>4</sup>Laboratorio de Nutrición Animal, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro 76230, México

<sup>5</sup>Escuela Agrícola Panamericana, Valle de Yeguaré, San Antonio de Oriente 96, Honduras

\*Email: ymartinez@zamorano.edu

To evaluate the effect of diet supplementation with *Agave tequilana* stem meal on indicators of blood health and blood biochemistry of fattening rabbits, 64 animals of New Zealand x California breed, with 35 days old and for 60 days, were located according to a completely randomized design, with eight repetitions and two animals per repetition. At the end of the experiment, six rabbits were taken per treatment for laboratory analysis. Treatments consisted of a basal diet and three diets with supplements of 0.5, 1.0 and 1.5 % of stem meal of *A. tequilana*. Supplements up to 1.5 % did not change the clinical blood indicators ( $P>0.05$ ) and all values were within the normal ranges for the category and animal species under study. Also, the daily use of *A. tequilana* stem meal reduced proportionally ( $P<0.05$ ) the preprandrial values of urea nitrogen, glucose, total lipids, triacylglycerides, cholesterol, very low density lipoprotein, low density lipoprotein, high lipoprotein density and atherogenic index. In addition, serum creatinine concentration decreased with the 0.5 and 1.5 % supplementation ( $P<0.05$ ) compared to the basal diet and the 1.0 % treatment, although the latter treatments were different among them. This natural product based on *A. tequilana* stem meal, used as a diet supplement during the productive life of fattening rabbits (95 days), indicated hypoglycemic and lipid-lowering properties, without affecting blood health indicators.

Keywords: *Agave tequilana*, blood biochemistry, health indicators, rabbit fattening

Modern cuniculture production is characterized by high productive intensity, in which animals are subjected to different stress situations. These, in turn, cause imbalances in the intestinal microbiota, with the development of pathogenic microorganisms, immunosuppression, inefficient food conversion, high mortality and decreased zootechnical response (Jiya *et al.* 2018). For the above reasons, for decades, growth-promoting antibiotics have been used (Liu *et al.* 2016). Nowadays, functional foods and nutraceutical products have been used for replacing or decreasing the indiscriminate use of these sub-therapeutic antibiotics (Ebrahimi *et al.* 2016). Specifically, prebiotics are considered as a viable alternative from a technical,

Para evaluar el efecto de la suplementación dietética con harina de tallos de *Agave tequilana* en los indicadores de salud de la sangre y bioquímica sanguínea de conejos de ceba, se ubicaron 64 animales de la raza nueva Zelanda x California con 35 días de edad durante 60 días, según diseño completamente aleatorizado, con ocho repeticiones y dos animales por repetición, al finalizar el experimento se tomaron seis conejos por tratamiento para los análisis de laboratorio. Los tratamientos consistieron en una dieta basal y tres dietas con suplementaciones de 0.5, 1.0 y 1.5 % de harina de tallo de *A. tequilana*. Las suplementaciones hasta el 1.5 % no modificaron los indicadores clínicos sanguíneos ( $P>0.05$ ) y todos los valores estuvieron dentro de los rangos normales para la categoría y especie animal en estudio. También, el uso cotidiano de harina de tallo de *A. tequilana* redujo proporcionalmente ( $P<0.05$ ) los valores preprandiales de nitrógeno ureico, glucosa, lípidos totales, triacilglicéridos, colesterol, lipoproteína de muy baja densidad, lipoproteína de baja densidad, lipoproteína de alta densidad e índice aterogénico. Además, la concentración sérica de creatinina disminuyó con la suplementación de 0.5 y 1.5 % ( $P<0.05$ ) comparado con la dieta basal y el tratamiento con 1.0 %, aunque estos últimos tratamientos fueron diferentes entre ellos. Este producto natural basado en harina de tallos de *A. tequilana* usado como suplemento dietético durante la vida productiva del conejo de ceba (95 días) indicó propiedades hipoglucemiantes e hipolipemiantes, sin afectar los indicadores de salud en la sangre.

Palabras clave: *Agave tequilana*, bioquímica sanguínea, indicadores de salud, conejo ceba

La producción cunícola moderna se caracteriza por la alta intensidad productiva, en la que los animales están sometidos a diferentes situaciones de estrés. Éstas, a su vez, provocan desbalances en la microbiota intestinal, con el desarrollo de microorganismos patógenos, inmunosupresión, ineficiente conversión de los alimentos, alta mortalidad y disminución de la respuesta zootécnica (Jiya *et al.* 2018). Por las razones anteriores, durante décadas, se han utilizado los antibióticos promotores de crecimiento (Liu *et al.* 2016). En la actualidad, los alimentos funcionales y productos nutraceuticos se han utilizado para sustituir o disminuir el uso indiscriminado de estos antibióticos sub-terapéuticos (Ebrahimi *et al.* 2016). Específicamente, los prebióticos

economic and biological point of view due to the security of their inclusion and their zero residuality (Liu *et al.* 2017).

In this sense, plants belonging to the *Agave* genus have been considered as medicinal sources due to their high concentration of fructans and other chemical substances with anti-inflammatory action, so their use in animal diets promotes production and health of the host (Iser *et al.* 2016a and Padilla *et al.* 2018). Sánchez *et al.* (2015) and Chavez *et al.* (2019) showed that the addition of *Agave tequilana* stem meal (HTAT) in pig and poultry diets increased the population of cecal beneficial bacteria and modified the harmful serum lipids, respectively. Also, previous results showed that the use of up to 1.5 % of HTAT increased the productive performance and quality of fattening rabbit carcass (Iser *et al.* 2016b).

However, there is little scientific evidence that refers to the effect of this natural product (HTAT) on blood hematological and biochemical analyzes of rabbits. According to Iser *et al.* (2016a) these blood indicators are particularly affected by diet and nutraceutical additives, and it also allows to quickly assess the possible beneficial or harmful effects of the use of new natural products in animals. The objective of this study was to evaluate the effect of diet supplementation with *Agave tequilana* stem meal on the hematological indicators and blood biochemistry of fattening rabbits.

### Materials and Methods

**Experimental location.** This study was carried out at the Estación de Pruebas de Comportamiento of the facilities of the Instituto de Biotecnología Animal, “Rancho Cofradía” of the Universidad de Guadalajara, located at km 7.5 of the road to San Isidro Mazatepec, Tlajomulco de Zúñiga municipality, Jalisco, Mexico.

**Animals, diets and experimental treatments.** A total of 64 male rabbits of the New Zealand x California crossing with 35 days of age, with initial live weight of  $769 \pm 2$  g were used. They were identified by marking with indelible ink and two rabbits/cage were located for 60 days, according to completely randomized design with four treatments, eight repetitions and two animals per repetition. For sample size, it was taken into account the reports of de Blas and Mateos (2010).

Four treatments were used: T1: basal diet (DB) as a control; DB + 0.5 % of *Agave tequilana* stem meal (HTAT); DB + 1.0 % of HTAT and DB + 1.5 % of HTAT. *A. tequilana* stem meal was supplied by the Centro Universitario de Ciencia Biológicas y Agropecuarias (CUCBA), Universidad de Guadalajara, Jalisco, Mexico. According to the manufacturer (CUCBA), this natural product contains 94.10 % of dry matter, 2.17 % of crude protein, 0.34 % of ether extract, 4.01% of ash, 79.65 % of total carbohydrates and 43.24 % of fructans. Results of Sánchez *et al.* (2015) were used for selecting supplementation levels of this natural product in diets

se consideran una alternativa viable desde el punto de vista técnico, económico y biológico por la seguridad de su inclusión y su nula residualidad (Liu *et al.* 2017).

En este sentido, las plantas pertenecientes al género *Agave* se han considerado como fuentes medicinales por su alta concentración de fructanos y otras sustancias químicas con acción antiinflamatoria, por lo que su uso en las dietas de los animales promueve la producción y salud del huésped (Iser *et al.* 2016a y Padilla *et al.* 2018). Sánchez *et al.* (2015) y Chávez *et al.* (2019) mostraron que la adición de harina de tallos de *Agave tequilana* en las dietas de cerdos y aves incrementó la población de bacterias benéficas cecales y modificó los lípidos perjudiciales séricos, respectivamente. También, resultados previos demostraron que el uso de hasta 1.5 % de HTAT incrementó el comportamiento productivo y la calidad de la canal de conejos de ceba refiera (Iser *et al.* 2016b).

Sin embargo, existe poca evidencia científica que refieran el efecto de este producto natural (HTAT) en los análisis hematológicos y bioquímica sanguínea de los conejos. Según Iser *et al.* (2016a) estos indicadores sanguíneos son particularmente afectados por la dieta y por los aditivos nutracéuticos, además permite evaluar de forma rápida los posibles efectos benéficos o perjudiciales del uso de nuevos productos naturales en los animales. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la suplementación dietética con harina de tallos de *Agave tequilana* en los indicadores hematológicos y bioquímica sanguínea de los conejos de ceba.

### Materiales y Métodos

**Ubicación experimental.** El trabajo se llevó a cabo en la Estación de Pruebas de Comportamiento de las instalaciones del Instituto de Biotecnología Animal, “Rancho Cofradía” de la Universidad de Guadalajara, ubicado en el km 7,5 de la carretera a San Isidro Mazatepec, municipio de Tlajomulco de Zúñiga, Jalisco, México.

**Animales, dietas y tratamientos experimentales.** Se utilizaron un total de 64 conejos machos del cruce Nueva Zelanda x California con 35 días de edad, con peso vivo inicial de  $769 \pm 2$  g, se identificaron mediante marcaje con tinta indeleble y se ubicaron dos conejos/jaula durante 60 días, según diseño completamente aleatorizado con cuatro tratamientos, ocho repeticiones y dos animales por repetición. Para el tamaño de la muestra se tuvo en cuenta lo planteado por de Blas y Mateos (2010).

Se utilizaron cuatro tratamientos: T1: dieta basal (DB) como control; DB+0.5 % de harina de tallos de *Agave tequilana* (HTAT); DB+1.0 % de HTAT y DB+1.5 % de HTAT. La harina de tallos de *A. tequilana* se suministró por el Centro Universitario de Ciencia Biológicas y Agropecuarias (CUCBA), Universidad de Guadalajara, Jalisco, México. Según el fabricante (CUCBA), este producto natural contiene 94.10 % de materia seca, 2.17 % de proteína bruta, 0.34 % de extracto etéreo, 4.01 % de cenizas, 79.65 % de carbohidratos totales y 43.24 % de fructanos. Se tomaron los resultados de Sánchez *et al.*

for rabbits.

The basal diet for rabbits was prepared according to the nutritional requirements indicated by de Blas and Mateos (2010). The commercial concentrate was produced in an industrial feed mill, with 2.5 mm grain size, as established for this animal species (de Blas and Mateos 2010). Ingredients and nutritional contributions of the diet are shown in table 1.

(2015) para seleccionar los niveles de suplementación de este producto natural en las dietas de los conejos.

La dieta basal para los conejos se confeccionó según los requerimientos nutricionales indicados por de Blas y Mateos (2010). El concentrado comercial se elaboró en una fábrica industrial de pienso, con 2.5 mm de granulometría, según lo establecido para esta especie animal (de Blas y Mateos 2010). Los ingredientes y aportes nutricionales de la dieta se muestran en la tabla 1.

Table 1. Ingredients and nutritional contributions of the diet for fattening rabbits (35 to 95 days old)

Ingredients	Content (%)
Wheat straw	17.4
Alfalfa hay	12.0
Barley grain	19.0
Wheat bran	24.0
Sunflower meal (crude protein 30 %)	12.0
Soy bean meal (crude protein 44 %)	11.0
Soy bean oil	2.88
Sodium chloride	0.50
Monocalcium phosphate	0.50
L-lysine	0.09
L-threonine	0.08
DL-methionine	0.05
Premix <sup>1</sup>	0.50
Calculated contributions (%)	
Crude protein	16.7
Digestible energy (MJ/kg)	9.92
Neutral detergent fiber	29.1
Lysine	0.77
Methionine + cystine	0.59
Threonine	0.65
Ashes	5.37

<sup>1</sup>Each kg contains: vitamin A 12 000 IU, vitamin D3 2000 IU, vitamin B2 4160 IU, Niacin 16 700 IU, pantothenic acid 8200 IU, vitamin B6 3420 IU, folic acid 0.980 g, vitamin B12 16 mg, vitamin K 1560 IU, Vitamin E 16 g, BHT 8.5 g, cobalt 0.750 g, copper 3.5 g, iron 9.86 g, manganese 6.52 g, sodium 0.870 g, zinc 4.24 g, selenium 6.67 g

*Experimental conditions.* Rabbits were located in metal cages 76 x 76 x 45 cm long, wide and high, respectively. Food was supplied *ad libitum* twice a day (8:00 am and 4:00 pm) in galvanized tubular feeders and availability adjustments were made, based on the difference between supply and rejection. Water was also offered *ad libitum* in automatic nipple water troughs located in the cages. No medications were offered, nor veterinary therapeutic care was provided during the entire experimental stage. However, the health status of animals was daily checked (presence of diarrhea, vomiting, depression, sneezing, tearing and coughing)

*Condiciones experimentales.* Los conejos se ubicaron en jaulas metálicas de 76 x 76 x 45 cm de largo, ancho y alto, respectivamente. El alimento se suministró *ad libitum* dos veces al día (8:00 am y 4:00 pm) en comederos tubulares de lámina galvanizada y se realizaron ajustes en la disponibilidad basados en la diferencia entre la oferta y rechazo. El agua se ofreció *ad libitum* en bebederos automáticos de chupón ubicados en las jaulas. No se ofrecieron medicamentos, ni se brindó atención veterinaria terapéutica durante toda la etapa experimental. No obstante, se verificó diariamente el estado de salud de los animales (presencia de diarreas,

and possible deaths were recorded.

*Hematological indicators and blood biochemistry.* At the end of their productive life (95 days old), six rabbits were randomly selected per treatment and sacrificed by the jugular vein bleeding method, at the slaughterhouse of Instituto de Biotecnología Animal Rancho "Cofradía" de la Universidad de Guadalajara, Jalisco, Mexico. Before the sacrifice, the animals were fasted for 12 hours, only with water *ad libitum* (Iser *et al.* 2016b).

Out of the sacrificed rabbits per each treatment, 10 mL of blood were taken. To obtain blood serum, samples were let to rest for one hour in 20 mL vials, then centrifuged (Eppendorf centrifuge) at 10,000 rpm and 20 °C for 25 min. To obtain blood plasma, blood was deposited in 2 mL tubes and sodium heparin was added at a ratio of 2: 1. Both samples were stored at -20 °C, until further analysis in the laboratory.

In blood serum, colorimetric methods were used for determining glucose using the LabAssay™ Glucose kit (Wako Pure Chemical Industries Ltd., Chuo-Ku, Osaka, Japan), creatinine using the Creatinine-PAP test kit (Boehringer Mannheim GmbH, Germany), urea nitrogen with the Enzymatic Kit Urea-ammonium (Boehringer Mannheim GmbH, Germany), triglycerides by the MAK266-1KT Triglyceride Quantification Colorimetric/Fluorometric Kit (Sigma-Aldrich St. Louis, MO, USA), total cholesterol with the MAK043-1KT Cholesterol Quantitation Kit (Sigma-Aldrich St. Louis, MO, USA), for very low density lipoproteins (VLDL) and high density lipoproteins (HDL) with the Quantitation Kit (Sigma-Aldrich St. Louis, MO, USA) and the MAK045-HDL kit, respectively, and total lipids were determined with the MAK055-total lipids-CAL kit, and a Humalyzer 2000 ultraviolet spectrophotometer (Germany) was used. To determine the concentration of low density lipoprotein (LDL) and atherogenic index (AI), the formulas of Friedewald *et al.* (1972) and Dobiášová (2004) were used, respectively:

$$C_{LDL} = C_{plasma} - C_{HDL} - \frac{TG}{5} \quad AI = \frac{LDL}{HDL}$$

In blood plasma, leukocytes were analyzed by blood smear and Giemsa dye; hemoglobin, by the Hemotest method; hematocrit according to Wintrobe (1962) and total proteins by Biuret (Gornall *et al.* 1949), analyzed by means of a Shimadzu UV-Visible 160 A spectrophotometer (Japan). Erythrocytes and platelets were determined by Neubauer chamber method and by the automatic blood count method.

Mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), mean corpuscular hemoglobin (MHC) and mean corpuscular volume (MCV) were determined by the following formulas:

$$MCHC = \frac{Hb (g/100mL) \cdot 100}{Ht (\%)} \quad MCV = \frac{Ht (\%) \cdot 10}{No. erythrocytes (millions/mm^3 blood)} \quad MCH = \frac{(Hgb \cdot 10)}{leucocytes}$$

Cuban Journal of Agricultural Science, Volume 53, Number 4, 2019.

vómitos, depresión, estornudos, lagrimeo y tos) y se registraron las posibles muertes.

*Indicadores hematológicos y bioquímica sanguínea.* Al final de su vida productiva (95 días de edad), se seleccionaron al azar seis conejos por tratamiento y sacrificaron por el método de desangrado de la vena yugular, en el matadero del Instituto de Biotecnología Animal Rancho "Cofradía" de la Universidad de Guadalajara, Jalisco, México. Antes del sacrificio los animales se mantuvieron en ayuna durante 12 horas, solo con agua *ad libitum* (Iser *et al.* 2016b).

De los conejos sacrificados por cada tratamiento, se tomaron 10 mL de sangre. Para la obtención del suero sanguíneo, las muestras se dejaron en reposo durante una hora en viales de 20 mL, luego se centrifugaron (centrífuga Eppendorf) a 10 000 rpm y 20 °C durante 25 min. Para la obtención del plasma sanguíneo, la sangre se depositó en tubos de 2 mL y se adicionó heparina sódica a una proporción de 2:1. Ambas muestras se conservaron a -20 °C, hasta su futuro análisis en el laboratorio.

En el suero sanguíneo, se determinó por métodos colorimétricos: la glucosa empleando el kit LabAssay™ Glucose (Wako Pure Chemical Industries Ltd., Chuo-Ku, Osaka, Japan), creatinina mediante el paquete Creatinine-PAP test kit (Boehringer Mannheim GmbH, Germany), nitrógeno ureico con el kit Enzymatic Kit Urea-amonio (Boehringer Mannheim GmbH, Germany), triglicéridos por el kit MAK266-1KT Triglyceride Quantification Colorimetric/Fluorometric Kit (Sigma-Aldrich St. Louis, MO, USA), colesterol total con el kit MAK043-1KT Cholesterol Quantitation Kit (Sigma-Aldrich St. Louis, MO, USA), para las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y lipoproteínas de alta densidad (HDL) con el Quantitation Kit (Sigma-Aldrich St. Louis, MO, USA) y el kit MAK045-HDL, respectivamente y los lípidos totales se determinaron con el kit MAK055-total lipids-CAL, se utilizó un espectrofotómetro ultravioleta marca Humalyzer 2000 (Alemania). Para determinar la concentración de la lipoproteína de baja densidad (LDL) e índice aterogénico (IA), se utilizaron las fórmulas de Friedewald *et al.* (1972) y Dobiášová (2004), respectivamente:

$$C_{LDL} = C_{plasma} - C_{HDL} - \frac{TG}{5} \quad IA = \frac{LDL}{HDL}$$

En el plasma sanguíneo, los leucocitos se analizaron por frotis sanguíneo y colorante de Giemsa; la hemoglobina, por el método Hemotest; el hematocrito según Wintrobe (1962) y las proteínas totales por Biuret (Gornall *et al.* 1949), leídas mediante un espectrofotómetro Shimadzu UV-Visible 160 A (Japón). Los eritrocitos y las plaquetas se determinaron mediante el método de la cámara de Neubauer y por el método cuenta glóbulos automáticos.

La concentración de la hemoglobina corpuscular media (CHCM), hemoglobina corpuscular media (HCM) y volumen corpuscular medio (VCM) se determinaron por las fórmulas siguientes:

$$MCHC = \frac{Hb (g/100mL) \cdot 100}{Ht (\%)} \quad MCV = \frac{Ht (\%) \cdot 10}{No. eritrocitos (millones/mm^3 sangre)} \quad MHC = \frac{(Hgb \cdot 10)}{leucocitos}$$

Hematological studies were carried out in the laboratory of the Centro de Investigación de Patología Animal, Departamento de Medicina Veterinaria, División de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Guadalajara, Jalisco, Mexico.

*Statistical analysis.* Data was processed using one-way analysis of variance (Anova) in a completely randomized design. In the necessary cases, Duncan (1955) test was applied. The statistical software SPSS version 20.0.1. 2012 was used.

### Results and Discussion

Table 2 shows that hematological indicators of fattening rabbits were not altered ( $P > 0.05$ ) when up to 1.5 % of HTAT was added in the diets. They were also within the normal physiological ranges for the species and breed under study (Giusti *et al.* 2012). Currently, hematological indicators are taken as health indicators in humans and animals. A variation of them may indicate bacterial, viral, parasitic and fungal infections, as well as poisoning, dehydration and blood clotting problems (El-Ratel *et al.* 2017). These results confirm that animals were maintained throughout the experimental period without visible clinical symptoms.

Los estudios hematológicos se realizaron en el laboratorio del Centro de Investigación de Patología Animal, Departamento de Medicina Veterinaria, División de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Guadalajara, Jalisco, México.

*Análisis estadísticos.* Los datos se procesaron mediante análisis de varianza (Anova) en un diseño totalmente aleatorizado. En los casos necesarios se aplicó la Dócima de comparación múltiple de Duncan (1955). Se usó el software estadístico SPSS versión 20.0.1. 2012.

### Resultados y discusión

La tabla 2 muestra que los indicadores hematológicos de conejos de ceba no se alteraron ( $P > 0.05$ ) cuando se adicionó hasta 1.5 % de HTAT en las dietas, además se mantuvieron dentro de los rangos fisiológicos normales de la especie y la raza en estudio (Giusti *et al.* 2012). En la actualidad, los indicadores hematológicos son tomados como indicadores de salud en humanos y animales. Una variación de estos indicadores puede indicar infecciones bacterianas, virales, parasitarias y micóticas, así como intoxicaciones, deshidratación y problemas de coagulación sanguínea (El-Ratel *et al.* 2017). Estos resultados confirman que los animales se mantuvieron durante todo el período experimental sin síntomas clínicos visibles.

Tabla 2. Effect of diet supplementation with *Agave tequilana* stem meal on hematological indicators of fattening rabbits (95 days old)

Items	<i>Agave tequilana</i> stem meal (%)						R Value <sup>1</sup>
	0	0.5	1.0	1.5	SE±	P Value	
Erythrocytes (millions/mm <sup>3</sup> )	6.53	6.42	6.44	6.48	0.27	0.093	4.5-7.0
Leucocytes (thousands/mm <sup>3</sup> )	6.69	6.45	6.46	6.40	0.46	0.209	6.0-9.3
Hb (g/dL)	13.44	13.90	13.52	13.32	0.89	0.312	8.0-15.0
Ht (%)	40.50	41.60	40.70	40.34	0.98	0.266	30.0-50.0
MCH (Pg)	20.08	21.55	20.92	20.81	0.88	0.868	19.0-30.0
MCV (fL)	62.02	64.79	63.19	62.25	1.15	0.744	40.0-80.0
MCHC (g/dL)	33.18	33.41	33.22	33.01	0.27	0.206	32.0-38.0
Platelets (thousands/mm <sup>3</sup> )	549.20	547.40	550.40	555.40	3.87	0.208	400.0-700.0
TP (gm/dL)	7.28	7.24	7.60	7.66	0.22	0.448	5.2-7.8

MCH: mean corpuscular hemoglobin; MCV: mean corpuscular volume, MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration; TP: total protein; Ht: hematocrits; Hb: hemoglobin.

<sup>1</sup>Giusti *et al.* (2012)

In general, the introduction of a new food and/or additive in animal diets, especially those that do not have enzymatic affinity cause changes in polymorphonuclear leucocytes (neutrophils and eosinophils), by activating the immune system to eliminate the foreign body and/or the possible toxic and allergenic compound (Ghasemi *et al.* 2010 and Giusti *et al.* 2012). HTAT with a high fructan concentration and the presence of secondary metabolites (Chávez *et al.* 2019) did not cause adverse symptoms with its nutraceutical addition in the diet of rabbits and did not decrease the defenses (white blood cells). The

Por lo general, la introducción de un nuevo alimento y/o aditivo en las dietas de los animales, sobre todo aquellos que no tienen afinidad enzimática provocan cambios en los leucocitos polimorfonucleares (neutrófilos y eosinófilos), por la activación del sistema inmune para eliminar el cuerpo extraño y/o el posible compuesto tóxico y alergénico (Ghasemi *et al.* 2010 y Giusti *et al.* 2012). La HTAT con alta concentración de fructanos y con presencia de metabolitos secundarios (Chávez *et al.* 2019) no provocó síntomas adversos con su adición nutraceutica en la dieta de los conejos y no disminuyó las defensas (glóbulos blancos). El valor de hemoglobina señala que la adición de la HTAT

hemoglobin value indicates that the addition of HTAT may not have affected iron absorption, as, according to Martínez *et al.* (2013), the tannins found in HTAT (Velázquez *et al.* 2019) prevent the absorption of this mineral, which induces iron deficiency anemia.

In addition, the hematocrit value reflects that animals were subjected to suitable hydration conditions, this indicator increases due to a hemoconcentration due to water deficit (Martínez *et al.* 2013). In this sense, Iser *et al.* (2016a) found similar results when supplementing up to 1.5% of *Agave fourcroydes* stem meal in rabbit diets. This demonstrates that the daily use of HTAT in the diet (up to 1.5 %) during the productive life of rabbits does not cause adverse reactions.

Table 3 shows that the diet supplementation of three levels of *Agave tequilana* stem meal statistically modified ( $P < 0.05$ ) all the biochemical (blood) indicators measured in fattening rabbits. The use of this natural product (HTAT), up to 1.5 % in the diet, proportionally reduced ( $P < 0.05$ ) urea nitrogen, glucose, total lipids, triacylglycerides, cholesterol, VLDL, LDL, HDL and AI. In addition, serum creatine

pudo no haber afectado la absorción del hierro, ya que según Martínez *et al.* (2013), los taninos encontrados en el HTAT (Velázquez *et al.* 2019) impiden la absorción de este mineral, lo que induce anemia ferropriva.

Además, el valor de hematocrito refleja que los animales se sometieron a condiciones idóneas de hidratación, este indicador aumenta debido a una hemoconcentración por déficit hídrico (Martínez *et al.* 2013). En este sentido, Iser *et al.* (2016a) encontraron resultados similares cuando suplementaron hasta 1.5 % de harina de tallos de *Agave fourcroydes* en las dietas de los conejos. Esto demuestra que el uso cotidiano de la HTAT en la dieta (hasta 1.5 %) durante la vida productiva de los conejos no provoca reacciones adversas.

En la tabla 3 se observa que la suplementación dietética de tres niveles de harina de tallos de *Agave tequilana* modificó estadísticamente ( $P < 0.05$ ) todos los indicadores bioquímicos (sanguíneos) medidos en los conejos de ceba. El uso de este producto natural (HTAT) hasta 1.5% en la dieta redujo proporcionalmente ( $P < 0.05$ ) el nitrógeno ureico, glucosa, lípidos totales, triacilglicéridos, colesterol, VLDL, LDL, HDL e IA. Además, la concentración sérica de creatina disminuyó

Table 3. Effect of diet supplementation with *Agave tequilana* stem meal on blood biochemistry and atherogenic index of fattening rabbits (95 days old)

Items (mg/dL)	<i>Agave tequilana</i> stem meal (%)				SE±	P Value
	0	0.5	1.0	1.5		
Urea nitrogen	39.20 <sup>a</sup>	34.00 <sup>b</sup>	30.52 <sup>c</sup>	25.22 <sup>d</sup>	0.74	<0.001
Glucose	129.80 <sup>a</sup>	105.50 <sup>b</sup>	95.20 <sup>c</sup>	81.60 <sup>d</sup>	1.42	<0.001
Creatinine	0.98 <sup>a</sup>	0.76 <sup>c</sup>	0.83 <sup>b</sup>	0.78 <sup>c</sup>	0.02	<0.001
TL	585.20 <sup>a</sup>	553.80 <sup>b</sup>	539.00 <sup>c</sup>	512.00 <sup>d</sup>	2.48	<0.001
TAG	180.60 <sup>a</sup>	142.60 <sup>b</sup>	144.40 <sup>b</sup>	133.68 <sup>c</sup>	1.89	<0.001
Cholesterol	213.60 <sup>a</sup>	185.60 <sup>b</sup>	180.60 <sup>b</sup>	172.40 <sup>c</sup>	2.40	<0.001
VLDL	41.80 <sup>a</sup>	36.40 <sup>b</sup>	31.00 <sup>c</sup>	31.20 <sup>c</sup>	0.87	<0.001
LDL	184.60 <sup>a</sup>	85.60 <sup>b</sup>	86.00 <sup>b</sup>	67.00 <sup>c</sup>	1.88	<0.001
HDL	65.44 <sup>ab</sup>	67.20 <sup>a</sup>	63.80 <sup>b</sup>	52.20 <sup>c</sup>	0.91	<0.001
AI	2.82 <sup>a</sup>	1.27 <sup>b</sup>	1.34 <sup>b</sup>	1.28 <sup>b</sup>	0.03	<0.001

<sup>a,b,c,d</sup> Means with different letters differ at  $P < 0.05$  (Duncan 1955)

TL: total lipids; TAG: triacylglycerides, HDL: high density lipoproteins, LDL: low density lipoproteins, VLDL: very low density lipoproteins and AI: atherogenic index

concentration decreased with HTAT, mainly with T2 and T4.

According to Bossart *et al.* (2001), blood urea nitrogen is the final product of protein catabolism and it is often used as an indicator of renal and hepatic function, as well as a measure of relative hydration status of animals. A decrease in this biochemical indicator (table 3) with the addition of HTAT indicated that this product increases protein efficiency of the diet, by controlling urea synthesis and liver hydration (Li *et al.* 2011).

On the other hand, serum creatinine is one of the main

con la HTAT, principalmente con el T2 y T4.

Según Bossart *et al.* (2001), el nitrógeno ureico en sangre es el producto final del catabolismo de proteínas y se utiliza a menudo como un indicador de la función renal y hepática, así como un medidor del estado de hidratación relativa de los animales. Una disminución de este indicador bioquímico (Tabla 3) con la adición de HTAT indicó que este producto incrementa la eficiencia proteica de la dieta, por el control de la síntesis de urea y la hidratación del hígado (Li *et al.* 2011).

La creatinina sérica es uno de los principales indicadores bioquímicos sanguíneos, este indicador está asociado al

blood biochemical indicators. This indicator is associated with kidney functioning, and a high concentration may indicate acute, chronic kidney diseases and kidney failure (Kin *et al.* 2016). Although rabbits remained without apparent diseases, a decrease in this biochemical indicator with HTAT by 0.22 mg/dL could be the starting point for future research in animals and humans (table 3).

Many reports indicate that foods rich in fructans, such as agaves, reduce serum glucose, by increasing the secretion of glucagon-like peptide 1 (GLP 1) in the endocrine L cells of the intestine. In addition, they stimulate insulin secretion from pancreatic  $\beta$  cells and inhibition of secretion of glucagon from  $\alpha$  cells (Tappenden *et al.* 2003 and Urías *et al.* 2008). Hernández *et al.* (2016) found a hypoglycemic effect when using *Agave tequilana* extracts in the diets of obese laboratory mice.

Although there are contradictions about the importance of reducing serum glucose in animals, especially since glucose is an important energy source for several metabolic processes, according to Yin *et al.* (2010), a decrease in serum glucose suggests a high efficiency in the use of glucose and protein. In addition, Delzenne and Williams (2002) reported that a reduction of this carbohydrate favors the decrease of blood circulation of harmful lipids. It was demonstrated that HTAT has an important hypoglycemic effect, since it decreased serum glucose by 48.2 mg/dL with respect to the control.

Since the 20th century, rabbits have been used as a model to study the influence of food, additives or drugs on the reduction of harmful lipids (Niimi *et al.* 2016). A relevant fact in this study is that the addition of HTAT in the diet of rabbits has an important hypolipidemic effect, due to the reduction of preprandial serum harmful lipids. According to Liu *et al.* (2016), a combination of several physiological, biochemical and microbiological mechanisms is necessary for the reduction of these lipids. Research has shown that HTAT with high concentration of fructans and some beneficial secondary metabolites (Chavez *et al.* 2019) improves the growth of cecal lactic acid bacteria (LAB) and, in turn, the intestinal health of monogastric animals (Sánchez *et al.* 2015 and Chávez *et al.* 2019), which could influence on the decrease in serum cholesterol by 41.2 mg/dL with respect to control.

It is known that LABs increase VFA production, which decreases the enzymatic activity of HMG-CoA that synthesizes endogenous cholesterol. This causes a decrease in the circulation of this lipid due to lower intestinal absorption (Barclay 2010). In this sense, Shehata *et al.* (2016) demonstrated that probiotic strains are capable of assimilating the cholesterol present in the medium and lowering these blood levels. In this sense, Hernández *et al.* (2016) found that HTAT has a hypocholesterolemic effect in mice

funcionamiento de los riñones. Su concentración elevada puede indicar enfermedades renales agudas, crónicas e insuficiencia renal (Kin *et al.* 2016). Aunque los conejos se mantuvieron sin enfermedades aparentes, una disminución de este indicador bioquímico con el HTAT en 0.22 mg/dL podría ser el punto de partida para futuras investigaciones en animales y humanos (Tabla 3).

Muchos reportes indican que alimentos ricos en fructanos como los agaves reducen la glucosa sérica, mediante un aumento de la secreción del péptido 1 tipo glucagón (GLP 1) en las células L endocrinas del intestino. Además, estimulan la secreción de insulina de las células  $\beta$  pancreáticas y la inhibición de la secreción de glucagón de las células  $\alpha$  (Tappenden *et al.* 2003 y Urías *et al.* 2008). Hernández *et al.* (2016) encontraron un efecto hipoglucemiante al utilizar extractos de *Agave tequilana* en las dietas de ratones de laboratorio obesos.

Aunque existen contradicciones acerca de la importancia de reducir la glucosa sérica en los animales, sobre todo porque la glucosa es una fuente energética importante para varios procesos metabólicos, según Yin *et al.* (2010) una disminución de la glucosa sérica sugiere una alta eficiencia en el uso de glucosa y proteína. Además, Delzenne y Williams (2002) reportaron que una reducción de este carbohidrato favorece la disminución de la circulación sanguínea de los lípidos perjudiciales. Se demostró que la HTAT tiene un efecto hipoglucemiante importante, ya que disminuyó en 48.2 mg/dL la glucosa sérica con respecto al control.

Desde el siglo XX, el conejo ha sido utilizado como modelo para estudiar la influencia de los alimentos, aditivos o fármacos en la reducción de los lípidos perjudiciales (Niimi *et al.* 2016). Un hecho relevante en este estudio es que la adición de HTAT en la dieta de los conejos tiene un efecto hipolipidémico importante, por la reducción de los lípidos perjudiciales séricos preprandiales. Según Liu *et al.* (2016), para la reducción de estos lípidos es necesario una combinación de varios mecanismos fisiológicos, bioquímicos y microbiológicos. Investigaciones han demostrado que la HTAT con alta concentración de fructanos y algunos metabolitos secundarios benéficos (Chávez *et al.* 2019) mejora el crecimiento de bacterias ácido lácticas (BAL) cecales y a su vez la salud intestinal de animales monogástricos (Sánchez *et al.* 2015 y Chávez *et al.* 2019), lo que podría influir en la disminución del colesterol sérico en 41.2 mg/dL con respecto al control.

Es conocido que las BAL incrementan la producción de AGV, lo que disminuye la actividad enzimática de HMG-CoA, que sintetiza el colesterol endógeno, esto provoca una disminución de la circulación de este lípido por menor absorción intestinal (Barclay 2010). En este sentido, Shehata *et al.* (2016), demostraron que cepas probióticas son capaces de asimilar el colesterol presente en el medio y disminuir estos niveles en sangre. En este sentido, Hernández *et al.* (2016) encontraron que la HTAT tiene un efecto hipocolesterolémico en ratones con dislipidemia. También, el uso de compuestos como inulina, fructanos

with dyslipidemia. Also, the use of compounds such as inulin, fructans and other prebiotics in diets for non-ruminant species, reduce this lipid in blood (Pérez *et al.* 2017).

Generally, a decrease in circulating cholesterol affects a lower concentration of LDL, with high content of esterified cholesterol and low in apolipoprotein (Martínez *et al.* 2015). In addition, Navab *et al.* (2001) report that a decrease of serum cholesterol increases the hepatic expression of LDL receptor and the uptake of these lipoproteins by the liver. Perhaps this caused a decrease of LDL by 117.6 mg/dL, compared to the control.

In addition, triacylglycerides decreased due to the effect of HTAT by 46.92 mg/dL, compared to the control. According to Clarke *et al.* (2002), foods rich in fructans and essential fatty acids induce triglyceridemia, since they decrease liver lipogenesis and stimulate the oxidation of fatty acids in liver and muscle. Likewise, a reduction in the circulation of VLDLs was found, consisting mainly of this simple lipid (Bennett *et al.* 1995). Little is known about the action of nutraceutical additives in VLDL. However, some studies state that VLDL have a direct relationship with C-reactive protein, which is activated by innate immunity (Shrivastava *et al.* 2015). It seems that the circulation of this lipoprotein will depend on the immunological status of rabbits, however, other studies are necessary to corroborate this hypothesis.

In general, a lower concentration of LDL increases HDL, something that did not occur in this experiment. This natural product (HTAT) reduces both serum lipoproteins, although with greater emphasis on LDL, which has the highest percentage of esterified cholesterol and harmful effect (Martínez *et al.* 2015). However, HTAT reduced atherogenic index by 1.01 compared to basal diet. This indicator showed the effectiveness of HTAT for the decrease in harmful lipids. Currently, there are no indicators of atherogenic indexes for rabbits. However, a decrease in this index should favor the health of these growing animals.

This natural product based on *Agave tequilana* stem meal, used as a diet supplement during the productive life of fattening rabbit (95 days), showed hypoglycemic and hypolipidemic properties, without affecting hematological health indicators. This article confirms that *Agave tequilana* stem meal is an effective natural product to be used as a diet supplement in fattening rabbit diets.

y otros prebióticos en las dietas de especie no rumiantes reducen este lípido en sangre (Pérez *et al.* 2017).

Generalmente, una disminución del colesterol circulante incide en una menor concentración de las LDL, con alto contenido de colesterol esterificado y bajos en apolipoproteína (Martínez *et al.* 2015). Además, Navab *et al.* (2001) refieren que una disminución de colesterol sérico aumenta la expresión hepática del receptor de las LDL y la captación de estas lipoproteínas por el hígado. Quizás esto provocó una disminución de las LDL en 117.6 mg/dL, con respecto al control.

También, los triacilglicéridos disminuyeron por efecto del HTAT en 46.92 mg/dL respecto al control. Según Clarke *et al.* (2002), los alimentos ricos en fructanos y en ácidos grasos esenciales inducen trigliceridemia, ya que estos disminuyen la lipogénesis hepática y estimulan la oxidación de los ácidos grasos en el hígado y el músculo. Asimismo, se encontró una reducción de la circulación de las VLDL, constituida principalmente por este lípido simple (Bennett *et al.* 1995). Poco se conoce sobre la acción de aditivos nutraceuticos en las VLDL. Sin embargo, algunos estudios afirman que las VLDL tienen relación directa con la proteína C reactiva, que se activa con la inmunidad innata (Shrivastava *et al.* 2015), al parecer la circulación de esta lipoproteína dependerá del estatus inmunológico de los conejos, sin embargo, son necesarios otros estudios para corroborar esta hipótesis.

Por lo general, una menor concentración de las LDL incrementa las HDL, algo que no ocurrió en este experimento, este producto natural (HTAT) reduce ambas lipoproteínas séricas, aunque con mayor énfasis en la LDL, que posee el mayor por ciento de colesterol esterificado y efecto perjudicial (Martínez *et al.* 2015). Sin embargo, la HTAT redujo el índice aterogénico en 1.01 en comparación con la dieta basal. Este indicador mostró la efectividad de la ATAT para el descenso de los lípidos perjudiciales. Actualmente, no existen indicadores de índices aterogénicos para conejos. No obstante, una disminución de este índice debería favorecer la salud de estos animales en crecimiento.

Este producto natural basada en harina de tallos de *Agave tequilana* usado como suplemento dietético durante la vida productiva del conejo de ceba (95 días) mostró propiedades hipoglucemiantes e hipolipemiantes, sin afectar los indicadores de salud hematológicos. En este artículo se confirma que la harina de tallos de *Agave tequilana* es un producto natural eficaz para ser usado como suplemento dietético en las dietas de conejos de ceba.

## References

- Barclay, T., Ginic, M., Cooper, P. & Petrovski, N. 2010. Inulin -a versatile polysaccharide with multiple pharmaceutical and food chemical uses. *J. Excip. Food Chem.*1(3):27-50. ISSN: 2150-2668.
- Bennett, J., Billett, A., Salter, M., Mangiapane, H., Bruce, S., Anderton, L., Marenah, B., Lawson, N. & White, D.A. 1995. Modulation of hepatic apolipoprotein B, 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase and low-density lipoprotein receptor mRNA and plasma lipoprotein concentrations by defined dietary fats. Comparison of trimyristin, tripalmitin, tristearin and triolein. *Biochem. J.* 311(1):167-173. ISSN: 1470-8728. DOI: 10.1042/bj3110167.
- Bossart, G., Reidarson, L., Dierauf, A. & Duffield, A. 2001. Clinical pathology, In: CRC handbook of marine mammal medicine.



- 2nd. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida. USA. p. 383. ISBN: 9880849308390.
- Chávez, I., Sánchez, D., Galindo, J., Ayala, M.Á., Duifhuis, T. & Ly, J. 2019. Effect of agave oligofructose feed on egg production from laying hens. *Rev. MVZ Córdoba*. 24(1):7108-7112. ISSN: 1749-6632. DOI: 10.1111/j.1749-6632.202.tb04284.x.
- Clarke, S.D., Gasperikova, D., Nelson, C., Lapillonne, A. & Heird, W. 2002. Fatty acid regulation of gene expression. *Ann. NY. Acad. Sci.* 967(1):283-298. ISSN: 1749-6632. DOI: 10.1111/j.1749-6632.202.tb04284.x.
- de Blas, J. & Mateos, G. 2010. Feed formulation. In: de Blas C; Wiseman J. (Eds). *The Nutrition of the Rabbit*. 2nd ed. CABI Publishing. CAB International, Wallingford, Oxon, UK. p. 222. ISBN: 978-1-84593-669-3.
- Delzenne, N. & Williams, C. 2002. Prebiotics and lipid metabolism. *Curr. Opin. Lipidol.* 13(1):61-67. ISSN: 1473-6535.
- Dobiášová, M. 2004. Atherogenic index of plasma theoretical and practical implications. *Clin. Chem.* 50(7):1113-1115. ISSN: 1530-8561. DOI: 10.1373/clinchem.2004.033175.
- Duncan, D.B. 1955. Multiple range and multiple F tests. *Biometrics*. 11(1):1-42. ISSN: 1541-0420. DOI: 10.2307/3001478.
- Ebrahimi, H., Rahimi, S., Khaki, P., Grimes, J.L. & Kathariou, S. 2016. The effects of probiotics, organic acid, and a medicinal plant on the immune system and gastrointestinal microflora in broilers challenged with *Campylobacter jejuni*. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 40(3):329-336. ISSN: 1300-0128. DOI: 10.3906/vet-1502-68.
- El-Ratel, I.T., Abdel-Khalek, A. E., El-Harairy, M.A., Fouda, S.F. & El-Bnawy, L.Y. 2017. Impact of green tea extract on reproductive performance, hematology, lipid metabolism and histogenesis of liver and kidney of rabbit does. *Asian J. Anim. Vet. Adv.* 12(1):51-60. ISSN: 1683-9989 DOI: 10.3923/ajava.2017.51.60.
- Friedewald, W., Levy, R. & Fredrickson, D. 1972. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem.* 18(6):499-502. ISSN: 1530- 8562.
- Ghasemi, R., Zarei, M. & Torki, M. 2010. Adding medicinal herbs including garlic (*Allium sativum*) and thyme (*Thymus vulgaris*) to diet of laying hens and evaluating productive performance and egg quality characteristics. *American J. Anim. Vet. Sci.* 5(2):151-154. ISSN: 1557-4555. DOI: 10.3844/ajavap.2010.151.154.
- Giusti, M., Raúl, L., Osvaldo, H. & Roberto, R. 2012. Indicadores bioquímicos, hematológicos y productividad de conejos alimentados con dietas normo e hipoproteica versión impresa. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*. 46(2):213-219. ISSN: 0325-2957.
- Gornall, A.G. Bardawill, C.J. & David, M.M. 1949. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem.* 177:751-766. ISSN: 1083351X.
- Hernández, S.O., Bricio, R.I., Ramos, M.G., Zavalza, A.B., Cardona, E.G., García, L., Martínez, E. & Pascoe, S. 2016. Effect of inulin from *Agave tequilana* Weber Blue Variety on the metabolic profile of overweight and obese dyslipidemic patients. *J. Clin. Trials*. 6(254):2167-0870. ISSN: 1179-1519. DOI: 10.4172/2167-0870. 1000254.
- Iser, M., Martínez, Y., Ni, H., Jiang, H., Valdiviá, M., Wu, X., Al-Dhabi, N., Rosales, M., Duraipandiyan, V. & Fang, J. 2016a. Effects of *Agave fourcroydes* powder as a dietary supplement on growth performance, gut morphology, concentration of IgG and hematology parameters of broiler rabbits. *Biomed Res. Int.* 1-7. ISSN: 23146133. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2016/3414319>.
- Iser, M., Martínez, Y., Valdiviá, M., Sánchez, D. & Rosales, M. 2016b. Comportamiento productivo y características de la canal de conejos alimentados con harina de *Agave tequilana*. *Rev. Electrón. Vet.* 17(10):1-12. ISSN: 1695-7504.
- Jiya, Z. E., Abdumojeed, I. T., John, A. O., John, M. O. & Salamatu, S. 2018. Response of growing rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) fed diets containing raw tallow (*Detarium microcarpum*) seed meal. *J. Agri. Sci.* 63(2):171-183. ISSN: 1450-8109. DOI: 10.2298/JAS 18021Z.
- Kin, B., Tekce, H., Aktas, G. & Uyeturk, U. 2016. The role of the uncertainty of measurement of serum creatinine concentrations in the diagnosis of acute kidney injury. *Renal failure*. 38(2):305-310. ISSN: 1525-6049. DOI: 10.3109/0886022X.2015.1117925.
- Li, L., Yin, B., Zhang, H., Peng, F., Li, N., Zhu, D., Hou, Y., Yin, J., Luo, Z., Tang, R. & Liu, G. 2011. Dietary supplementation with *Atractylodes macrophala* Koidz polysaccharides ameliorate metabolic status and improve immune function in early-weaned pigs. *Livest. Sci.* 142(1-3):33-41. ISSN: 1471-1413. DOI: 10.1016/j.livsci.2011.06-013.
- Liu, G., Aguilar, Y. M., Ren, W., Chen, S., Guan, G., Xiong, X., Liao, P., Li, T., Huang, R. L., Park, I., Kim, S. W. & Yin, Y. L. 2016. Dietary supplementation with sanguinarine enhances serum metabolites and antibodies in growing pigs. *J. Anim. Sci.* 94(supl 3):75-78. ISSN: 0021-8812. DOI: 10.2527/jas.2015-9719.
- Liu, G., Lei, Y., Martínez, Y., Ren, W., Duraipandivan, V., Ni, H., Yin, Y. & Al-Dhabi, N. 2017. Dietary *Saccharomyces cerevisiae* cell wall extract supplementation alleviates oxidative stress and serum amino acids profiles in weaned piglets. *Oxid. Med Cell. Longev.* 2017: 1-7. ISSN: 1942-0900. DOI:10.1155/2017/3967439.
- Martínez, Y., Carrión, Y., Rodríguez, R., Valdiviá, M., Olmo, C., Betancur, C. & Duraipandiyan, V. 2015. Growth performance, organ weights and some blood parameters of replacement laying pullets fed with increasing levels of wheat bran. *Braz. J. Poult. Sci.* 17(3):347-354. ISSN: 1806-9061. DOI:10.1590/1516-635X 1703347-354.
- Martínez, Y., Martínez, O., Liu, G., Ren, W., Rodríguez, R., Fonseca, Y., Olmo, C., Iser, M., Aroche, R., Valdiviá, M. & Nyachoti, C. 2013. Effect of dietary supplementation with *Anacardium occidentale* on growth performance and immune and visceral organ weights in replacement laying pullets. *J. Food Agric. Environ.* 13(3-4):1352-1357. ISSN: 1459-0263. DOI:10.1234/4.2013.4855.
- Navab, M., Berliner, J. & Subbanagounder, G. 2001. HDL and the inflammatory response induced by LDL-derived oxidized phospholipids. *Arterioscl. Throm. Vas. Biol.* 21(4):481-488. ISSN: 1524-4636.
- Niimi, M., Yang, D., Kitajima, S., Ning, B., Wang, C., Li, S., Liu, E., Zhang, J. Chen, E. & Fan, J. 2016. ApoE knockout rabbits: a novel model for the study of human hyperlipidemia. *Atherosclerosis*. 245(Feb):187-193. ISSN: 0021-9150. DOI:10.1016/j.atherosclerosis.2015.12.2002.
- Padilla, E., Barragán, C.P., Diaz, N.E., Rathod, V. & Flores, J.M. 2018. Effects of Agave fructans (*Agave tequilana* Weber var.

- azul) on body fat and serum lipids in obesity. *Plant Food Hum Nutr.* 73(1):34-39. ISSN: 1573-9104. DOI:10.1007/s1113.
- Pérez, Y.E., Becerra, E.M., Sáyago, S.G., Rocha, N.E., García, E.G., Castañeda, A., Montalvo, R., Rodríguez, C. & Montalvo, E. 2017. Nutritional characteristics and bioactive compound content of guava purees and their effect on biochemical markers of hyperglycemic and hypercholesterolemic rats. *J. Funct. Foods.* 35(August):447-457. ISSN: 1756-4646. DOI:10.1016/j.jff.2017.06.027.
- Sánchez-Chiprés, D. S., leal, E., Galindo, J., Valdavines, M. A. & Ly, J. 2018. Features of carcass performance and characteristics and meat quality in pigs fed Agave oligofructans. *Cuban J. Agric. Sci.* 52(1): 41-48. ISSN: 0864-0405.
- Shehata, M.G., El Sohaimy, S.A., El-Sahn, M.A. & Youssef, M.M. 2016. Screening of isolated potential probiotic lactic acid bacteria for cholesterol lowering property and bile salt hydrolase activity. *Ann. Agric. Sci.* 61(1):65-75. ISSN: 0570-1783. DOI: 10.1016/j.aos.2016.03.001
- Shrivastava, A.K., Singh, H.V., Raizada, A. & Singh, S.K. 2015. C-reactive protein, inflammation and coronary heart disease. *Egypt. Heart J.* 67(2):89-97. ISSN: 2090-911X. DOI: 10.1016/j.bhj.2014.11.005.
- Tappenden, K., Albin, D., Bartholome, A. & Mangian, H. 2003. Glucagon-like peptide-2 and short chain fatty acids: a new twist to an old story. *J. Nutr.* 133(11):3717-3720. ISSN: 1541-6100. DOI: 10.1093/jn/133.11.3717.
- Uñas, J., Cani, P., Delmeé, E., Neyrinck, A., López, M. & Delzenne, N. 2008. Physiological effects of dietary fructans extracted from *Agave tequilana* Gto. and *Dasyilirion* spp. *Brit. J. Nutr.* 99(2):254-261. ISSN: 1475-2662. DOI:10.1017/S0007114507795338.
- Velázquez, I.O., González, G., Mellado, E., Veloz, R.A., Dzul, J.G., López, M.G. & García-Vieyra, M.I. 2019. Phytochemical profiles and classification of Agave syrups using 1H-NMR and chemometrics. *Food Sci. Nutr.* 7(1):3-13. ISSN: 2048-7177. DOI:10.1002/fsn3.753
- Wintrobe, M.M. 1962. Clinical hematology. *Acad. Med.* 37(1):78. ISSN: 1040-2446.
- Yin, F., Zhang, Z., Huang, J. & Yin, Y. 2010. Digestion rate of dietary starch affects systemic circulation of amino acids in weaned pigs. *Brit. J. Nutr.* 103(10):1404-1412. ISSN: 1475-2662. DOI: 10.1017/S0007114589993321.

**Received: July 11, 2019**