

LEONARDO DE ANDRADE PRÍNCIPE

THIAGO HENRIQUE ANNIBALE VENDRAMINI

**Metabolômica sérica revela alterações metabólicas em
gatos obesos alimentados com farinha de vísceras
frango hidrolisada**



Assinatura do Autor



Assinatura do Orientador

Metabolômica sérica revela alterações metabólicas em gatos obesos alimentados com farinha de vísceras frango hidrolisada

Resumo: A obesidade representa uma doença metabólica complexa em gatos, com seus efeitos no metabolismo não totalmente compreendidos. Este estudo teve como objetivo investigar os efeitos da farinha de vísceras de frango hidrolisada enzimaticamente (FVHE-c) no perfil metabolômico sérico de gatos obesos. Dezesesseis gatos maduros, obesos, castrados e sem raça definida ($8,46 \pm 0,69$ anos; ECC $8,71 \pm 0,19$) foram aleatoriamente designados para dois grupos. Duas dietas isonutritivas foram formuladas: uma dieta controle [30,8% de farinha de subprodutos de aves convencional (FVA-c); 0,0% FVHE-c] e uma dieta teste (17,07% FVA-c; 12,0% FVHE-c). Os animais foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos experimentais de acordo com as dietas. Os gatos foram avaliados em T0 (0 dia) e T45 (45 dias), com necessidades energéticas determinadas por $130 \text{ kcal} \times \text{peso corporal}^{0,4}$. Os espectros metabólicos foram adquiridos por ressonância magnética nuclear e analisados usando o Metaboanalyst 5.0. Análise de componentes principais (PCA), Análise Discriminante de Mínimos Quadrados Parciais Ortogonais (OPLS-DA), análise de vias metabólicas ($P \leq 0,10$; impacto $\geq 0,001$) e análise univariada foram realizadas para avaliar os dados. A PCA não revelou diferenças metabólicas globais significativas entre os grupos, embora alterações específicas em metabólitos e vias individuais tenham sido observadas. Após 45 dias, valina, acetato e 1-Metilhistidina foram menores, enquanto o glicerol foi maior no grupo de teste em comparação ao controle. A redução da 1-Metilhistidina sugere menor *turnover* proteico e diminuição da degradação muscular, enquanto a diminuição na valina é notável, pois altos níveis deste aminoácido de cadeia ramificada estão ligados à resistência à insulina e intolerância à glicose na obesidade. Além disso, o aumento no glicerol sugere lipólise aumentada, o que pode ser um efeito benéfico no contexto da obesidade. A análise da via indicou efeito significativo na via de metabolismo dos glicerolípídeos ($P = 0,033$) após 45 dias. Essas mudanças metabólicas sugerem maior utilização de aminoácidos de cadeia ramificada e mobilização de gordura aprimorada, apoiando o metabolismo energético.

Palavras chave: lipólise, metabolismo energético, metabólitos, obesidade

Introdução

A obesidade felina apresenta alta prevalência global e é uma das doenças metabólicas mais complexas em gatos, com efeitos no metabolismo ainda não totalmente compreendidos (Cave et al., 2012; Corbee, 2014; Sadek et al., 2018; Chiang et al., 2022). Embora sua etiologia seja multifatorial, a obesidade decorre principalmente de um desequilíbrio nutricional, do aumento da ingestão calórica e redução do gasto energético, que causam um balanço energético positivo e acúmulo excessivo de gordura (Zoran, 2010). Essa situação favorece o surgimento de comorbidades, como diabetes mellitus, doenças ortopédicas, distúrbios urinários, condições dermatológicas e neoplasia, além de estar associada a alterações significativas no metaboloma (Bermudez et al., 2021; Pallotto et al., 2021; Vendramini et al., 2021).

A restrição energética é o eixo central dos programas de perda de peso e indispensável para reverter a obesidade, embora traga desafios consideráveis. Segundo Butterwick & Hawthorne (1998), a taxa ideal de perda de peso para gatos é de 0,5 a 1%, pois, assim como em humanos, uma redução calórica rápida e severa pode levar a uma perda acelerada, em que uma maior proporção da massa perdida corresponde à massa muscular, e não à gordura. Por isso, dietas para redução de peso, enriquecidas com proteínas, aminoácidos essenciais, ácidos graxos e micronutrientes devem equilibrar a perda de gordura com a preservação da massa muscular (Linder et al., 2013).

Nesse cenário, a farinha de vísceras de frango hidrolisada surge como um ingrediente inovador. A hidrólise enzimática fragmenta as proteínas em moléculas menores, aumentando sua digestibilidade e reduzindo seu potencial alergênico (Cave, 2006; Olivry et al., 2017). Além disso, essa farinha apresenta um excelente perfil aminoacídico, baixo impacto ambiental e custo reduzido (Meeker; Meisinger, 2015), potencializando a bioatividade de peptídeos capazes de modular o metabolismo (Lee; Hur, 2017; Mas-Capdevila et al., 2019).

Por fim, a metabolômica tem se consolidado na nutrição como uma estratégia inovadora para desvendar os mecanismos que regulam a saúde e avaliar os impactos das intervenções dietéticas (Allaway, 2015). Contudo, sua aplicação na medicina felina ainda é limitada, tanto na avaliação de doenças (Hall et al., 2020; Gottlieb et al., 2020) quanto em intervenções nutricionais (Godfrey et al., 2022;

Rankovic et al., 2024). Poucos estudos exploraram os processos bioquímicos e o metabolismo de gatos obesos. Diante dos desafios dos programas de perda de peso, explorar e testar novos ingredientes, aliados à abordagem metabólica, pode otimizar o emagrecimento felino, garantindo maior segurança e eficácia.

Este estudo teve como objetivo explorar os efeitos da farinha de vísceras de frango hidrolisada enzimaticamente (FVHE-c) no perfil metabólico sérico de gatos obesos, visando compreender as alterações metabólicas associadas e validar o uso potencial deste ingrediente em intervenções nutricionais.

Material e Métodos

O estudo foi conduzido de acordo com as normas da Comissão de Ética no Uso de Animais, sob protocolo número 8609280422. Dezesesseis gatos adultos, obesos [8,46 ± 0,69 anos; escore de condição corporal (ECC) 8,71 ± 0,19], castrados, sem raça definida. Duas dietas isonutritivas foram formuladas: uma dieta controle [30,8% de farinha de subprodutos de aves convencional (FVA-c); 0,0% FVHE-c] e uma dieta teste (17,07% FVA-c; 12,0% FVHE-c). Os animais foram randomizados em dois grupos experimentais de acordo com as dietas (controle x teste). A necessidade energética foi estimada de acordo com a equação 130 kcal/peso corporal^{0,4} (NRC, 2006). Os animais receberam o seu respectivo alimento durante 75 dias, dos quais 30 dias foram destinados a padronização dietética e 45 dias para observação dos efeitos da dieta no metabolismo. As coletas de metabólica sérica foram realizadas nos dias 31 (T0) e no dia 77 (T45).

Os metabólitos foram atribuídos com base nos deslocamentos químicos e multiplicidades de sinal, no software Chenomx (Beckonert et al., 2007). Os espectros metabólicos foram adquiridos por ressonância magnética nuclear e analisados usando o Metaboanalyst 5.0 (Chong et al., 2019). Análise de componentes principais (PCA), Análise Discriminante de Mínimos Quadrados Parciais Ortogonais (OPLS-DA) e análise de via ($P \leq 0,10$; impacto $\geq 0,001$) e análise univariada foram realizadas para avaliar os dados. A análise de variância foi realizada para comparar as abundâncias médias dos metabólitos entre os grupos, por meio do procedimento MIXED do programa Statistical Analysis System, versão 9.4.

Resultados

Na análise de PCA foi observada uma maior predominância de sobreposição

entre os grupos experimentais com base na variabilidade dos metabólitos encontrados em cada grupo. Desta forma, a PCA não revelou diferenças metabólicas globais significativas entre os grupos (Figura 1).

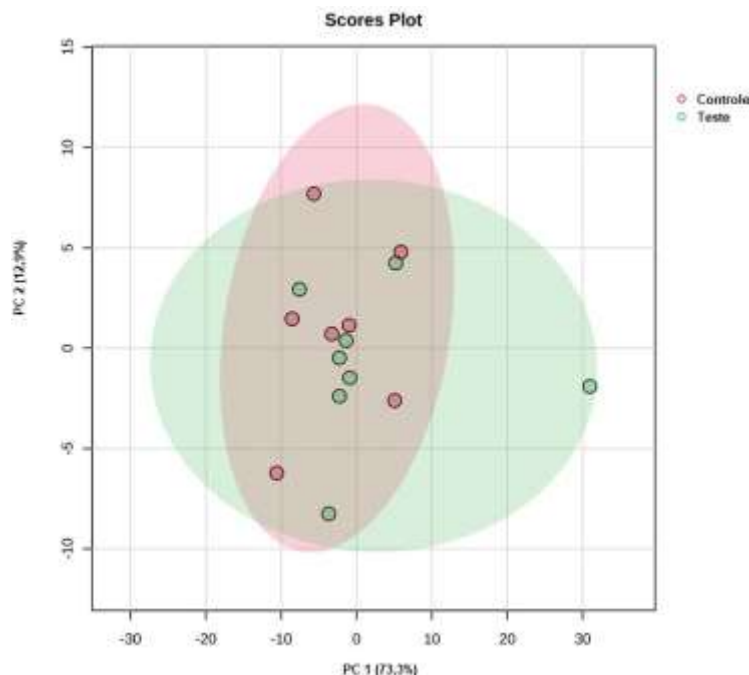


Figura 1. Gráfico de pontuação da análise de componentes principais (PCA) da distribuição do metaboloma entre os tratamentos

Embora a PCA não tenha mostrado segregação entre os tratamentos, a OPLS-DA revelou uma separação entre os grupos. Essa abordagem serviu de base para a análise de segregação, permitindo a apresentação do VIP score para destacar a contribuição de cada metabólito na projeção da OPLS-DA (Figura 2).

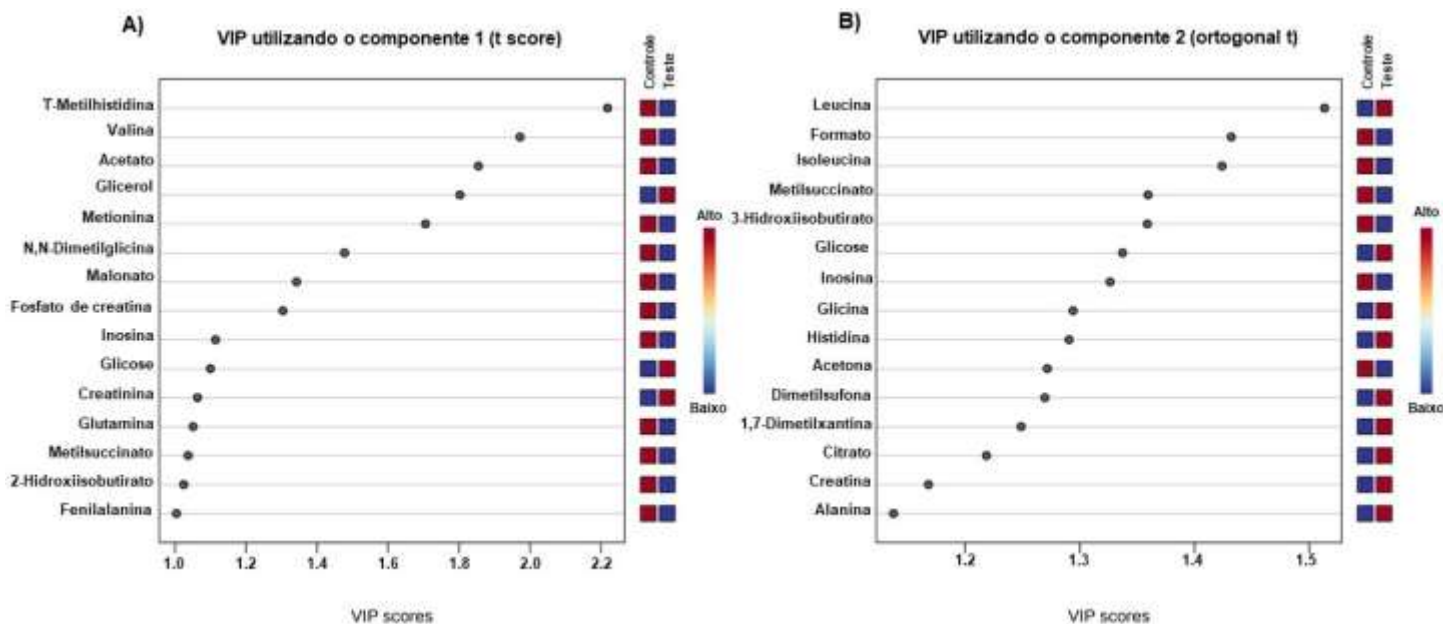


Figura 2. Pontuações VIP derivadas da análise OPLS-DA. (A) Pontuações VIP baseadas no componente 1 (t score) e (B) Pontuações VIP baseadas no componente 2 (ortogonal t), destacando a contribuição relativa de cada metabólito para a projeção

Assim, foi possível observar que após 45 dias, valina, acetato, glicerol, T-Metilhistidina foram significativamente diferentes entre os grupos. No qual houve o aumento das concentrações de glicerol e redução de T-Metilhistidina, acetato e valina nos animais do grupo teste. Por fim, a partir das concentrações de todos os metabólitos identificados no período T45, foi realizada a análise de vias metabólicas. As vias metabólicas estão descritas na figura 3, e possuem $P < 0,10$ e Impacto > 0 . Dessa forma, a análise da vias metabólicas indicou efeito significativo na via do metabolismo dos glicerolípídeos ($P = 0,033$) após 45 dias (Figura 3).

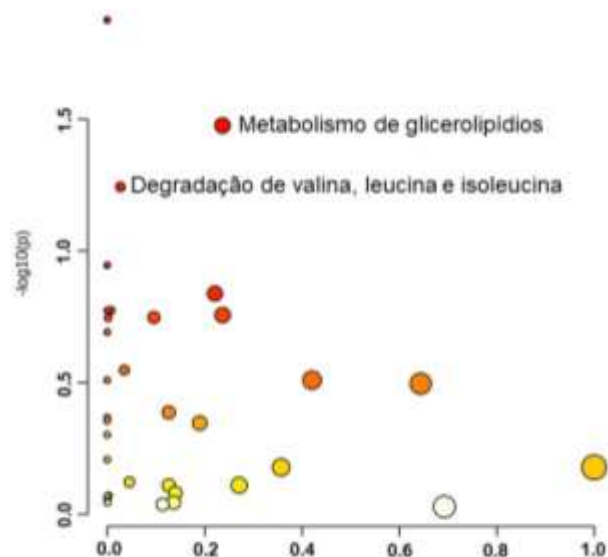


Figura 3. Análise da via metabólica com base nas concentrações de metabólitos em T45

Discussão

Os resultados deste estudo evidenciam alterações metabólicas relevantes em gatos obesos submetidos ao consumo da FVHE-c. Após 45 dias, valina, acetato e T-Metilhistidina foram menores, enquanto o glicerol foi maior no grupo de teste em comparação ao controle.

Os aminoácidos de cadeia ramificada (BCAAs), como leucina, isoleucina e valina, possuem um efeito anabólico superior na síntese proteica (Sakata et al., 2024), influenciando a capacidade da via da rapamicina, responsável por regular esse processo em mamíferos (Garcia-Macia et al. 2021). Em seres humanos, sugere-se que a redução de BCAAs reflita em uma menor liberação de BCAAs provenientes da degradação de proteínas (Holecek et al., 2021). Além disso, a diminuição na valina é notável, pois altos níveis deste aminoácido de cadeia ramificada estão ligados à resistência à insulina e intolerância à glicose na obesidade (Huffman et al., 2009). Apesar de que, somente a redução nas concentrações de valina foi observada no presente estudo.

O acetato é um metabólito intermediário fundamental no metabolismo energético, especialmente na β -oxidação dos ácidos graxos (Canfora; Blaak, 2017). Estudos prévios em gatos obesos submetidos à restrição energética demonstraram um aumento nos níveis de acetoacetato, produto final da conversão do acetato, indicando uma intensificação da oxidação lipídica (Palloto et al., 2021; Grant et al., 2024). Entretanto, a redução das concentrações de acetato observada em nosso estudo sugere um gasto energético menor em comparação com animais sob restrição energética.

A histidina é um aminoácido essencial para gatos, desempenhando uma função estrutural e na síntese de glicogênio no organismo (NRC, 2006), enquanto que, a T-Metilhistidina é um metabólito proveniente da degradação da histidina (Stifel & Herman, 1971). Por essa razão, a T-Metilhistidina é considerada um biomarcador da degradação de proteínas musculares. A redução das concentrações séricas de T-Metilhistidina nos gatos obesos sugere menor *turnover* proteico e diminuição da degradação muscular. Ambos efeitos no metabolismo são essenciais para preservação de massa magra do paciente obeso durante o programa de perda de peso.

Já o glicerol, é uma molécula que se associa aos ácidos graxos para formar triglicerídeos, que são armazenados no tecido adiposo e liberados durante o processo de lipólise (Collet et al., 2017). Grant et al. (2024) observaram que gatos obesos submetidos à restrição calórica demonstraram uma redução numérica nos níveis de glicerol, aproximando-os dos valores observados em gatos magros pertencentes ao grupo controle. Os autores relacionaram esse resultado à diminuição da produção de glicerol para armazenamento. De forma similar, Palloto et al. (2021) relataram aumentos em glicerol em gatos com sobrepeso e obesos em perda de peso, evidenciando maior atividade lipolítica.

Esse resultado nos permite considerar que aumento no glicerol sugere lipólise aumentada e redução da produção de glicerol para armazenamento do tecido adiposo, o que ambos podem ser um efeitos benéficos no contexto da obesidade. Vale ressaltar que, durante todo o período experimental, todos os gatos pertencentes aos dois grupos experimentais se mantiveram obesos (ECC $8,71 \pm 0,19$), sem apresentar perda de peso, e que não houve diferença entre os grupos em relação ao ECC desses animais.

As alterações nas concentrações dos metabólitos apresentadas anteriormente

relacionam-se com os resultados observados na análise das vias metabólicas. A análise de enriquecimento metabólico evidenciou uma via potencialmente impactada pelo tratamento, relacionada ao metabolismo de glicerolipídios. É importante ressaltar que, de maneira geral, o metabolismo de aminoácidos e lipídios já é disfuncional em gatos obesos, por conta da obesidade (Zoran, 2010).

A maior ativação do metabolismo de glicerolipídios está relacionado com o aumento das concentrações de glicerol no grupo teste, que permite sugerir uma maior mobilização de lipídios, e indicar um possível aumento na utilização de gordura como fonte de energia através da lipólise. Em seres humanos, a restrição calórica aguda resulta em um aumento dos níveis de glicerol provenientes da lipólise (Collete et al., 2017).

Hoening et al. (2006) observaram que gatos obesos apresentam maior liberação de ácidos graxos, predominância da oxidação lipídica e maior lipólise em comparação com gatos magros, que oxidam mais glicose. No entanto, essas diferenças ocorreram entre animais com composições corporais distintas, sem restrição energética. Grant et al. (2024) relataram que, apesar da restrição não alterar significativamente os níveis de glicerol, estes permaneceram elevados em gatos obesos, sugerindo maior concentração de ácidos graxos e intensificação da lipólise.

Em nosso estudo, todos os gatos eram obesos, ou seja, não apresentavam diferenças na composição corporal e não foram submetidos a restrição calórica, única diferença foi o consumo da FVHE-c através da dieta. A maior ativação do metabolismo de glicerolipídios, juntamente com o aumento de glicerol no grupo teste, permite inferir que a inclusão desse ingrediente otimizou o metabolismo lipídico ao intensificar a lipólise, um mecanismo essencial para a mobilização de lipídeos e redução da massa gorda em indivíduos obesos.

Dessa forma, os resultados destacam a importância de estratégias nutricionais que modulam o metabolismo de aminoácidos e lipídios em gatos obesos. A degradação de BCAAs e a maior mobilização de lipídios sugerem que a inclusão da FVHE-c pode melhorar o perfil metabólico e a sensibilidade à insulina, prevenindo comorbidades associadas à obesidade felina.

Conclusão

A inclusão da FVHE-c na dieta de gatos obesos promoveu alterações metabólicas benéficas, sugerindo maior otimização do metabolismo de energético.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLAWAY, D. Nutritional metabolomics: lessons from companion animals. **Current metabolomics**, v. 3, p. 80–89, 2015.

BECKONERT, O. et al. Metabolic profiling, metabolomic and metabonomic procedures for NMR spectroscopy of urine, plasma, serum and tissue extracts. **Nature protocols**, v. 2, p. 2692–2703, 2007.

BERMUDEZ, S. S. et al. Untargeted fecal metabolome analysis in obese dogs after weight loss achieved by feeding a high-fiber-high-protein diet. **Metabolomics: official journal of the metabolomic society**, v. 17, n. 7, p. 66, 2021.

BUTTERWICK, R. F.; HAWTHORNE, A. J. Advances in dietary management of obesity in dogs and cats. **Journal of nutrition**, v. 128, n. 12 Suppl, p. 2771S-2775S, 1998.

CANFORA, E. E.; BLAAK, E. E. Acetate: a diet-derived key metabolite in energy metabolism: good or bad in context of obesity and glucose homeostasis? **Current opinion in clinical nutrition & metabolic care**, v. 20, n. 6, p. 477-483, 2017

CAVE, N. J. et al. A cross-sectional study to compare changes in the prevalence and risk factors for feline obesity between 1993 and 2007 in New Zealand. **Preventive veterinary medicine**, v. 107, p. 121–133, 2012.

CHIANG, C-F. et al. Prevalence, risk factors, and disease associations of overweight and obesity in cats that visited the Veterinary Medical Teaching Hospital at the University of California, Davis from January 2006 to December 2015. **Topics in companion animal medicine**, v. 47, p. 100620, 2022.

CHONG, J. et al. Using MetaboAnalyst 4.0 for Comprehensive and Integrative Metabolomics Data Analysis. **Current protocols in bioinformatics**, v. 68, p. e86, 2019.

COLLET, T-H. et al. A metabolomic signature of acute caloric restriction. **Journal of clinical endocrinology & metabolism**, v. 102, p. 4486–4495, 2017.

CORBEE, R. J. Obesity in show cats. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 98, n. 6, p. 1075–1080, 2014.

GODFREY, H. et al. Circulating direct infusion MS and NMR metabolomic profiles

of post-gonadectomy kittens with or without additional dietary choline supplementation. **British journal of nutrition**, p. 1–20, 2022.

GOTTLIEB, S. et al. Metabolic profiling of diabetic cats in remission. **Frontiers in veterinary science**, v. 7, 2020.

GARCIA-MACIA, M. et al. A mammalian target of rapamycin-perilipin 3 (mTORC1-Plin3) pathway is essential to activate lipophagy and protects against hepatosteatosis. **Hepatology**, v. 74, n. 6, p. 3441-3459, 2021.

GRANT, C. E. et al. Description of the fasted serum metabolomic signature of lean and obese cats at maintenance and of obese cats under energy restriction. **PLoS ONE**, v. 19, n. 3, p. e0299375, 2024.

HALL, J. A. et al. Chronic kidney disease in cats alters response of the plasma metabolome and fecal microbiome to dietary fiber. **PLoS ONE**, v. 15, p. e0235480, 2020.

HOENIG, M. et al. Effect of high and low carbohydrate diet on respiratory exchange ratio and heat production in lean and obese cats before and after weight loss. **Compendium on continuing education for the practicing veterinarian**, v. 28, n. Suppl 4, p. 71, 2006.

HOLEČEK, M. The role of skeletal muscle in the pathogenesis of altered concentrations of branched-chain amino acids (valine, leucine, and isoleucine) in liver cirrhosis, diabetes, and other diseases. **Physiological research**, v. 70, p. 293–305, 2021.

HUFFMAN, K. M. et al. Relationships between circulating metabolic intermediates and insulin action in overweight to obese, inactive men and women. **Diabetes care**, v. 32, p. 1678–1683, 2009.

LEE, S. Y.; HUR, S. J. Antihypertensive peptides from animal products, marine organisms, and plants. **Food chemistry**, v. 228, p. 506-517, 2017.

LINDER, D. E. et al. Status of selected nutrients in obese dogs undergoing caloric restriction. **BMC Veterinary Research**, v. 9, p. 219, 2013.

MAS-CAPDEVILA, A. et al. Long-term administration of protein hydrolysate from poultry feet induces antihypertensive effect and confers vasoprotective pattern in

diet-induced hypertensive rats. **Journal of functional foods**, v. 55, p. 8-35, 2019.

MEEKER, D.; MEISINGER, J. Companion Animals Symposium: rendered ingredients significantly influence sustainability, quality, and safety of pet food. **Journal of animal science**, v. 93, n. 3, p. 835–847. 2015.

NRC (2006). Nutrient Requirements of Dogs and Cats. Washington, DC: **National Research Council**.

OLIVRY, T. et al. Extensive protein hydrolyzation is indispensable to prevent IgE-mediated poultry allergen recognition in dogs and cats. **BMC veterinary research**, v. 13, n. 1, p. 251, 2017.

PALLOTTO, M. R. et al. Effects of weight loss and moderate-protein, high-fiber diet consumption on the fasted serum metabolome of cats. **Metabolites**, v. 11, n. 5, p. 324, 2021.

RANKOVIC, A. et al. Serum metabolomic analysis of the dose-response effect of dietary choline in overweight male cats fed at maintenance energy requirements. **PLoS ONE**, v. 18, p. e0280734, 2023.

SADEK, T. et al. Feline Feeding Programs: Addressing behavioral needs to improve feline health and wellbeing. **Journal of feline medicine and surgery**, v. 20, n. 11, p. 1049–1055, 2018.

SAKATA, H. et al. Effect of a single intravenous injection of branched chain amino acids on body temperature of cats undergoing general anesthesia. **Veterinary anaesthesia and analgesia**, v. 51, n. 1, p. 44-51, 2024.

STIFEL, F. B.; HERMAN, R. H. Histidine metabolism. **The american journal of clinical nutrition**, v. 24, n. 2, p. 207-217, 1971.

VENDRAMINI, T. H. A. et al. Serum metabolomics analysis reveals that weight loss in obese dogs results in a similar metabolic profile to dogs in ideal body condition. **Metabolomics: Official journal of the metabolomic society**, v. 17, n. 3, p. 27, 2021.

ZORAN, D. L. Obesity in dogs and cats: a metabolic and endocrine disorder. **Veterinary clinics: small animal practice**, v. 40, n. 2, p. 221-239, 2010.