

MARIANA FRAGOSO RENTAS

**Efeitos da ingestão de beta-glucanos na microbiota fecal e na
metabolômica de gatos saudáveis e obesos**

Pirassununga

2022

MARIANA FRAGOSO RENTAS

**Efeitos da ingestão de beta-glucanos na microbiota fecal e na
metabolômica de gatos saudáveis e obesos**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Doutor em Ciências.

Departamento:

Nutrição e Produção Animal

Área de concentração:

Nutrição e Produção Animal

Orientador:

Prof. Dr. Marcio Antonio Brunetto

Pirassununga

2022

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virgínia Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

4227
FMVZ

Rentas, Mariana Fragoso
Efeitos da ingestão de beta-glucanos na microbiota fecal e na metabólica de gatos saudáveis e obesos / Mariana Fragoso Rentas. – 2022.
131 f. : il.

Doutorado (Tese) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, Pirassununga, 2022.

Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal.

Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Marcio Antonio Brunetto.

1. Metabólitos. 2. Felinos. 3. Obesidade. 4. Prebiótico. 5. Ilumina. I. Título.

**CERTIFICADO**

Certificamos que a proposta intitulada "Efeitos da ingestão de beta-glucanos na microbiota fecal e na metabolômica de gatos saudáveis e obesos", protocolada sob o CEUA nº 8713140219 (ID 006167), sob a responsabilidade de **Márcio Antônio Brunetto** e equipe; *Mariana Fragoso Rentas* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 20/02/2019.

We certify that the proposal "Effects of beta-glucans intake on fecal microbiota and metabolomics of healthy and obese cats", utilizing 20 Cats (males and females), protocol number CEUA 8713140219 (ID 006167), under the responsibility of **Márcio Antônio Brunetto** and team; *Mariana Fragoso Rentas* - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 02/20/2019.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa](#)

Vigência da Proposta: de [07/2019](#) a [06/2022](#)

Área: [Nutrição E Produção Animal](#)

Origem: [Animais de proprietários](#)

Espécie: [Gatos](#)

sexo: [Machos e Fêmeas](#)

idade: [1 a 10 anos](#)

N: [20](#)

Linhagem: [diversas raças ou srd](#)

Peso: [2 a 12 kg](#)

Local do experimento: CEPEN PET

São Paulo, 04 de abril de 2019

Profa. Dra. Anneliese de Souza Traldi

Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

Roseli da Costa Gomes

Secretária

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: RENTAS, MARIANA FRAGOSO

Título: **Efeitos da ingestão de beta-glucanos na microbiota fecal e na metabólica de gatos saudáveis e obesos**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho,

Aos meus pais, Robson Galeote Rentas e Miriam de Lourdes Chiari Fragoso Rentas, e ao meu irmão Marco Aurélio Fragoso Rentas que sempre estiveram ao meu lado em todos os momentos, me incentivando a nunca desistir do meu sonho.

Aos meus avós Nelson Rentas Iglesias (in memoriam), Shirley Rosa Galeote Rentas, René Ourique Fragoso (in memoriam) e Edna Zenaidir Chiari Fragoso (in memoriam), por todo carinho e ensinamentos de vida.

Com carinho, dedico.

AGRADECIMENTOS

- Primeiramente gostaria de agradecer a Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade São Paulo, que vem sendo a minha segunda durante todos os anos de graduação, mestrado e agora doutorado, foram cerca de 11 anos de muito aprendizado, dedicação e conhecimento, tenho muito orgulho de pertencer a essa escola.
- Ao Departamento de Nutrição e Produção Animal, pela oportunidade e acolhimento.
- À Biorigin, por ter disponibilizado o aditivo Macrogard® e possibilitado o objeto de pesquisa do presente estudo e por contribuir com os avanços da ciência brasileira.
- À Premier Pet por possibilitar aos pesquisadores brasileiros a oportunidade de mostrar seu trabalho em congressos no exterior, com o prêmio de pesquisa anual que eles promovem na área de nutrição de cães e gatos.
- Ao CEPEN PET, como instituição, por ser um local ímpar de desenvolvimento à pesquisa e que permite que tantos estudantes aproveitem da ciência e contribuam para o desenvolvimento da sociedade e ao seu idealizador, professor Márcio Brunetto, por ter proporcionado a existência deste laboratório que impactou e impactará tão expressivamente a vida de tantas pessoas.
- À CAPES pela concessão da bolsa de estudos por grande parte do período em que eu fui pós graduanda e me concedeu a possibilidade da obtenção do título de doutora em ciências.
- À Coordenadoria de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, da Universidade de São Paulo, na pessoa do Coordenador Prof. Dr. Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso e do secretário João Paulo de Oliveira Barros, pela pronta atenção dispensada.
- A todos os funcionários do Departamento de Nutrição e Produção Animal, em especial ao João Paulo de Oliveira Barros, Alessandra de Cassia Terassi da Silva, Fábila Silene Iaderozza, Renata Maria Consentino Conti, Simi Luiza Durante Aflalo, Lucinéia Mestieri e Josane Leão Ferraz.
- Aos professores da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, da Universidade de São Paulo, pela positiva participação na minha formação, desde a graduação em Medicina Veterinária.

- Ao Prof. Dr. Márcio Antonio Brunetto, pela orientação e ensinamentos tanto para minha formação acadêmica como pessoal, pela confiança, amizade, paciência, disponibilidade e oportunidades.
- Ao professor Ferrioli e à Karina Pfimer, por terem possibilitado a execução da análise do deutério e colaborado com o presente estudo.
- A toda equipe de funcionários, colaboradores e animais do CEPEN PET por fazerem meus dias mais felizes, amo vocês.
- A Deus, por me dar saúde e força para conseguir realizar esse trabalho.
- Aos meus pais, Robson e Miriam por toda a dedicação, esforço e amor para que eu pudesse realizar mais esse sonho, os anos de pandemia não foram fáceis, mas vocês estavam sempre ao meu lado, mesmo longe, sendo minha força para continuar.
- Ao meu irmão, Marco Aurélio pela companhia, carinho, risadas, brigas e crescimento, sem você eu não seria a mesma.
- Aos meus avós Shirley, Nelson (in memoriam), Edna (in memoriam) e René (in memoriam) por serem essas pessoas tão maravilhosas, por terem me ensinado tanto sobre o amor. Sou muito grata por todos os anos que fizeram parte da minha vida.
- Aos meus padrinhos Isabel e Renato, que me apoiaram e deram sua casa muitas vezes para que eu pudesse estudar e descansar. A todos os meus tios, tias e primos por sempre por todas as risadas em momentos de desespero, todo carinho quando precisei e pela força nos momentos difíceis que passamos juntos.
- Aos meus melhores amigos, Renan Zala, Talita Alves, e Filipe Zanferari, e afilhada Pietra que estão sempre presentes mesmo distantes, enchendo meu coração de alegria.
- Ao meu namorado, Caio Ueda Arata (Val) por cuidar de mim nesses momentos em que nem eu mesma achava que conseguiria.
- A Nozes, minha segunda família. Vocês tornam meus dias mais sorridentes, obrigada por tudo, vocês são demais: Lari, Robs, Dressete, Perini, Tobs, Rafa, Cati e Lucas.
- Queria agradecer em especial a minha amiga, companheira de projeto Larissa Risolia, por ser essa mulher incrível, inteligente e acima de tudo alegre. A sua felicidade contagiante acalentou meu coração nos dias em que as coisas não

davam certo. Ter você ao meu lado durante esse processo foi essencial para manter minha calma e me deixar pé no chão.

- À Roberta, minha amiga para todas as horas, sempre que precisava desabafar ela estava lá para me ouvir e me abraçar.
- Ao Rafa que dividiu comigo muitos momentos de plantão, risadas, artigos, cursos, aulas, cafés e trapalhadas. Aprendi muito com você durante esse processo e sei que posso contar contigo para o que der e vier.
- Ao Tobs por sempre ser aquele que apazigua os ânimos e nos faz rir nos momentos mais inusitados, pessoas como você fazem toda a diferença no mundo.
- Dressete pelos ensinamentos compartilhados, ao longo de todos os anos da pós, que mesmo distante se fez presente. E claro, quando eu cheguei em São Paulo teve toda a paciência do mundo para me ensinar os protocolos, planilhas e sistema do hospital, tornando meus dias mais fáceis e felizes.
- A Mariana Perini, pelo auxílio durante o projeto, por acolher e cuidar dos meus bebês quando eu ia para São Paulo, por todos os momentos de descontração e alívio regado a cerveja e risoto ao longo desses anos.
- Ao Lucas (meu filhinho) que foi um presente do CEPEN PET por muitos momentos de risadas ate perder o ar, pelos cafés da manhã com pãozinho nos finais de semana, pelo carinho, pelas conversas e pela ajuda agora na reta final com o trabalho e a pós. Quando eu precisava você estava lá para me acalmar.
- Aos meus amigos do HOVET São Paulo, Dressete, Bru, Vini e Ro, Fábio, Vivian, assim como os demais alunos de pós, residentes e funcionários por terem me acolhido e me ensinado tanto no final dessa jornada.
- Aos amigos que fiz durante minha jornada, pelas risadas, festas, choros e experiencias compartilhadas, amo vocês: Laís Helena (cunhada), Monica Quintal, Natasha Crippa, Paula Rodriguês, Izabelle Jardim, Marisa França, Gabriela Pombo, Bruna Gomes, Thaís Longo e Andressa Guterres.
- A todos os colegas de pós graduação, em especial aos grandes amigos que levarei para sempre em meu coração: Hortencia Mazzo, Maurício Machado, Patrícia Massae Oba e Rafael Nascimento.
- Aos meus grandes amigos das republicas do meu coração (Tatu currido e Nostravamos) por todas as conversar, risadas e churrascos, em especial para Nicolas, André, Jacó, Thi, Tigi, Lin, Darth entre tantos outros que me acolheram.

- Aos meus colegas de trabalho da equipe de comunicação corporativa da ADIMAX, pelos últimos meses de muito aprendizado e conhecimento compartilhado.
- Aos meus "filhos" de quatro patas, Timão (in memoriam), Pink (in memoriam), Lise (in memoriam), Keeper, Muffin, Petit Gateau (in memoriam), Cappuccino, Paçoca (in memoriam), Shiro, Juju, Átila (in memoriam) e Perola, por serem tão companheiros e amorosos. Foram inspiração para que eu escolhesse essa profissão linda.
- A todos os tutores e gatos que participaram do experimento

Meus sinceros agradecimentos.

"Só sei que nada sei, e o fato de saber isso, me coloca em vantagem sobre aqueles que acham que sabem alguma coisa"

Sócrates

*" Nunca deixe que lhe digam que não vale a pena
Acreditar no sonho que se tem...
Quem acredita sempre alcança"*

Renato Russo

"Scientia vinces"

Universidade de São Paulo

RESUMO

RENTAS, M. F. **Efeitos da ingestão de beta-glucanos na microbiota fecal e na metabolômica de gatos saudáveis e obesos**: 2022. Número 131. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

A obesidade felina é uma afecção cada vez mais recorrente e pode implicar no desenvolvimento de diversas comorbidades, tais como resistência insulínica, diabetes, hiperlipidemia e disbiose. A composição da dieta pode influenciar nos parâmetros glicêmicos, lipidêmicos, saciedade e na microbiota de animais obesos com resistência insulínica. Um exemplo de aditivo que pode ser utilizado com este propósito são os beta-glucanos (BG), que podem diminuir as concentrações séricas de colesterol, triglicérides, glicemia pós-prandial e aumentar a saciedade. Além de ter potencial prebiótico e poder modular a saúde intestinal através da microbiota. O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos da inclusão de 0,06% de BG na dieta de gatos obesos e em escore de condição corporal (ECC) sobre a microbiota retal. Foram selecionados 20 gatos, machos e fêmeas, SRD, com idades entre 1 e 7 anos, na rotina de uma clínica veterinária particular. Os animais foram divididos em dois grupos: Grupo obeso [(OB), ECC 8 e 9/9, gordura corporal média de $28,8 \pm 7,9\%$; determinada pelo método de diluição de isótopos de deutério] e grupo controle [(CO) ECC 5/9 e gordura corporal média de $17,4 \pm 6,6\%$]. Todos os animais foram alimentados por 21 dias (T0) com um alimento controle (AC - 0,0% de BG) e depois por 90 dias (T90) com um alimento teste (AT - mesma composição do AC, porém com adição de 0,06% de BG). Amostras de sangue e *swab* retal foram coletadas em T0 e T90 para avaliação da microbiota e do perfil metabolômico (cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas). O DNA total foi extraído das fezes e estas foram sequenciadas pela metodologia Illumina. As abundâncias observadas foram avaliadas usando um modelo linear generalizado, considerando distribuição binomial e usando a função de *link logit*, a comparação entre os grupos e o efeito da dieta foi realizado pelo teste ANOVA com medidas repetidas no tempo no SAS. Não foi encontrada diferença entre os índices de alfa e beta diversidade levantados nesse estudo. Não foi observado efeito principal de tratamento (entre os grupos OB x GC; $p > 0,05$), houve efeito principal de tempo (efeito da suplementação de beta glucano T0 x T90; $p < 0,05$) para o filo Bacteroidetes, para as famílias Campylobacteraceae e

Peptostreptococcaceae, e para o gênero *Campylobacter*. Por fim, houve efeito de interação (tratamento x tempo; $p < 0,05$) para os filos: Actinobacteria, Firmicutes, Fusobacteria e Proteobacteria; para as famílias: Bacillales, Bacteroidaceae, Bacteroidales, Desulfovibrionaceae, Enterobacteriaceae, [Firmicutes], Fusobacteriaceae, Oxalobacteraceae, Pasteurellaceae, Prevotellaceae e Veillonellaceae; para os gêneros: Bacillales, Bacteroidales, Bacterioides, Desulfovibrio, [Enterobacteriaceae], Firmicutes, [Fusobacteriaceae], Macellibacteroides, [Oxalobacteraceae], [Pasteurellaceae], Prevotella, Succinispira e [Veillonellaceae]. A análise de metabolômica mostrou efeito de grupo (OB x GC) nos metabólitos: valina, isoleucina, fenilalanina, tirosina, ácido esteárico, ácido linoleico, ácido araquidônico e alfa-tocoferol. Também foi observado efeito de tratamento (0,0 x 0,6% de BG) em: ureia, ácido piroglutâmico, arginina, triptamina e trealose. Conclui-se que a microbiota retal de indivíduos obesos e em ECC ideal não difere, porém a suplementação de BG mostrou-se efetiva em modular a microbiota desses indivíduos e influenciou no perfil de metabólitos dos animais avaliados. Além disso, os metabólitos encontrados nesse estudo destacam a influência de biomarcadores presentes na obesidade na evolução de outras comorbidades como resistência insulínica, diabetes e alterações do perfil lipídico.

Palavras-chave: Metabólitos. Felinos. Obesidade. Prebiótico. Illumina.

ABSTRACT

RENTAS, M. F. **Effects of beta-glucan intake on fecal microbiota and metabolomics in healthy and obese cats**: 2022. Número 131. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

Feline obesity is an increasingly recurrent condition and can lead to the development of several comorbidities, such as insulin resistance, diabetes, hyperlipidemia, and dysbiosis. Diet composition can influence glycemic, lipid and satiety parameters and the microbiota of obese insulin-resistant animals. An example of an additive that can be used for this purpose are beta-glucans (BG), which can decrease serum concentrations of cholesterol, triglycerides, postprandial blood glucose and increase satiety in addition to having prebiotic potential and being able to modulate intestinal health through the microbiota. The aim of the present study was to evaluate the effects of the inclusion of 0.06% of BG in the diet of obese cats and in body condition score on the rectal microbiota. We selected 20 cats, male and female, SRD, aged between 1 and 7 years, in the routine of a private veterinary clinic. The animals were divided into two groups: Obese group [(OB), body condition score (BCS) 8 and 9/9, mean body fat of $28.8 \pm 7.9\%$; determined by the deuterium isotope dilution method] and control group [(CO) ECC 5/9 and mean body fat of $17.4 \pm 6.6\%$]. All animals were fed for 21 days (T0) with a control diet (0.0% BG) and then for 90 days (T90) with a test diet (same composition as the control diet, but with the addition of 0.06% BG). Blood and rectal swab samples were collected at T0 and T90 to evaluate the microbiota and metabolomic profile (gas chromatography coupled to mass spectrometry). Total DNA was extracted from feces and these were sequenced using the Illumina methodology. The observed abundances were evaluated using a generalized linear model, considering binomial distribution, and using the link logit function, the comparison between groups and the diet effect was performed by the ANOVA test with repeated measures in the time in SAS. No difference was found between the alpha and beta diversity indexes found in this study. No main treatment effect was observed (between OB x GC groups; $p > 0.05$), there was a time main effect (effect of T0 x T90 beta glucan supplementation; $p < 0.05$) for the Bacteroidetes phylum, for the Campylobacteraceae and Peptostreptococcaceae families, and for the Campylobacter genus. Finally, there was an interaction effect (treatment x time; $p < 0.05$) for the phyla: Actinobacteria,

Firmicutes, Fusobacteria and Proteobacteria; for families: Bacillales, Bacteroidaceae, Bacteroidales, Desulfovibrionaceae, Enterobacteriaceae, [Firmicutes], Fusobacteriaceae, Oxalobacteraceae, Pasteurellaceae, Prevotellaceae and Veillonellaceae; for the genera: Bacillales, Bacteroidales, Bacterioides, Desulfovibrio, [Enterobacteriaceae], Firmicutes, [Fusobacteriaceae], Macellibacteroides, [Oxalobacteraceae], [Pasteurellaceae], Prevotella, Succinispira and [Veillonellaceae]. Metabolomics analysis showed a group effect (OB x GC) on the metabolites: valine, isoleucine, phenylalanine, tyrosine, stearic acid, linoleic acid, arachidonic acid and alpha-tocopherol. Treatment effect (0.0 x 0.6% OB) was also observed in: urea, pyroglutamic acid, arginine, tryptamine, and trehalose. It is concluded that the rectal microbiota of obese individuals and in body condition score does not differ, but BG supplementation was effective in modulating the microbiota of these individuals and influenced the metabolite profile of the evaluated animals. In addition, the metabolites found in this study highlight the influence of biomarkers present in obesity on the evolution of other comorbidities such as insulin resistance, diabetes, and changes in the lipid profile.

Keywords: Metabolites. Feline. Obesity. Prebiotic. Illumina.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Modelos não-supervisionados de PCA, contendo os controles de qualidade (QCs) (A e B) e sem os controles de qualidade (QCs) (C e D).	78
Figura 2: Modelos supervisionados dos dados (PLS) para o grupo controle antes (1) e depois (2) da suplementação (A e B) e para grupo obeso antes (1) e depois (2) da suplementação (C e D).	79
Figura 3: Validação cruzada para o PLS.....	80
Figura 4: Análise de alfa diversidade pelo índice de faith dos grupos experimentais	103
Figura 5: Análise de Pairwise permanova dos grupos experimentais	104
Figura 6: Análise de alfa diversidade pelo índice de evenness dos grupos experimentais.....	104
Figura 7: Gráficos de PCAs dos dados absolutos e relativos.....	104
Figura 8: Efeitos principais de tempo (T0 x T90) nas abundâncias relativas de filo, famílias e gênero que não apresentaram interação entre tempo e tratamento.	106
Figura 9: Mudanças nas abundâncias relativas de filamentos ao longo do tempo (T0 x T90) em diferentes tratamentos (CO x OB).	111
Figura 10: Mudanças nas abundâncias relativas de famílias ao longo do tempo (T0 x T90) em diferentes tratamentos (CO x OB).	112
Figura 11: Mudanças nas abundâncias relativas de gêneros ao longo do tempo (T0 x T90) em diferentes tratamentos (CO x OB).	112

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição química analisada e ingredientes das dietas experimentais.	71
Tabela 2: Características físico-químicas do aditivo contendo beta-glucanos utilizado na dieta experimental (Macrogard®).	71
Tabela 3: Média dos valores de massa magra (MM) e de massa gorda (MG) em gatos obesos e de escore de condição corporal (ECC) ideal, antes e depois da suplementação de 0,06% de beta-glucanos.	76
Tabela 4: Consumo de beta-glucanos em gramas (g) por quilo de peso metabólico e por quilo de peso corporal pelos gatos obesos e de escore de condição corporal (ECC) ideal obtido pela dieta experimental (dieta BG) contendo 0,1% de Macrogard® (aditivo com 0,06% de beta-glucanos).	77
Tabela 5: Os metabólitos que apresentaram p valores abaixo de 0,05 de acordo com o efeito de (tratamento, tempo ou interação) após análise univariada.	81
Tabela 6: Composição química analisada e ingredientes das dietas experimentais.	98
Tabela 7: Características físico-químicas do aditivo contendo beta-glucanos utilizado na dieta experimental (Macrogard®).	99
Tabela 8: Média dos valores de massa magra (MM) e de massa gorda (MG) em gatos obesos e de escore de condição corporal (ECC) ideal, antes e depois da suplementação de 0,06% de beta-glucanos.	103
Tabela 9: Abundância relativa de filos encontrados nos grupos (OB x CO) e nos tempos (T0 x T90) experimentais.	106
Tabela 10: Abundância relativa de famílias encontrados nos grupos (OB x CO) e nos tempos (T0 x T90) experimentais.	107
Tabela 11: Abundância relativa de gêneros encontrados nos grupos (OB x CO) e nos tempos (T0 x T90) experimentais.	109

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Artigos publicados na área de nutrição de cães e gatos com o emprego das ciências ômicas	33
Quadro 2: Artigos publicados na área de nutrição com foco na avaliação da microbiota intestinal/fecal de gatos	46

LISTA DE ABREVIÇÕES

AAA	Aminoácidos aromáticos
AACR	Aminoácidos de cadeia ramificada
AC	Alimento controle
AE	Ácido graxo esteárico
AL	Ácido graxo linoleico
ARA	Ácido graxo araquidônico
AT	Alimento teste
BG	Beta-glucanos
CO	Grupo controle
DRC	Doença renal crônica
ECC	Escore de condição corporal
NEM	Necessidade energética de manutenção
OB	Grupo obeso
OMS	Organização Mundial da Saúde
OTUs	Unidades taxonômicas
PCA	Análise de componente principal
QCs	coeficiente de variação no controle de qualidade
RI	Resistência insulínica
T0	Primeiro período de coleta (0 dias)
T90	Segundo período de coleta (90 dias)

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	21
1. Introdução geral e objetivos	22
1.1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	22
1.2 OBJETIVOS GERAIS	23
1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	23
1.4 REFERÊNCIAS	24
CAPÍTULO 2	25
2. Revisão bibliográfica	26
2.1 OBESIDADE EM FELINOS: DADOS EPIDEMIOLÓGICOS	26
2.2 OBESIDADE E SUAS IMPLICAÇÕES.....	27
2.3 BETA-GLUCANOS COMO NUTRACÊUTICO MODULADOR DO METABOLISMO	29
2.4 BETA-GLUCANOS COMO POSSÍVEL MODULADOR DA MICROBIOTA DE ANIMAIS OBESOS	42
2.5 REFERÊNCIAS	54
CAPÍTULO 3	65
3. Caracterização do metaboloma de gatos obesos e em escore de condição corporal ideal antes e após suplementação com beta-glucanos.....	66
3.1 RESUMO.....	66
3.2 INTRODUÇÃO.....	68
3.3 MATERIAL E MÉTODOS.....	69
3.1.1. Local, instalações e animais.....	69
3.1.2. Dietas experimentais	70
3.1.3. Protocolo experimental.....	71
3.1.4. Análise de composição corporal.....	72
3.1.5. Análise de metabolômica	73
3.1.6. Análises estatísticas	75
3.4 RESULTADOS	76
3.5 DISCUSSÃO	81

3.6	CONCLUSÕES	86
3.7	REFERÊNCIAS	87
CAPÍTULO 4	92
4. EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE BETA-GLUCANOS SOBRE A MICROBIOTA RETAL DE GATOS OBESOS E EM ESCORE DE CONDIÇÃO CORPORAL IDEAL	93
4.1.	RESUMO	93
4.2.	INTRODUÇÃO.....	95
4.3.	MATERIAL E MÉTODOS.....	96
4.3.1.	Local, instalações e animais.....	97
4.3.2.	Dietas experimentais	97
4.3.3.	Protocolo experimental.....	99
4.3.4.	Análise de composição corporal.....	100
4.3.5.	Análise de microbiota	100
4.3.6.	Análise estatística.....	102
4.4.	RESULTADOS	102
4.5.	DISCUSSÃO	116
4.6.	CONCLUSÃO	123
4.7.	REFERÊNCIAS	124

CAPÍTULO 1

Introdução geral e objetivos

1. INTRODUÇÃO GERAL E OBJETIVOS

1.1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Segundo o IBGE (2015), a população de gatos domiciliados está estimada em 22,1 milhões, alocados em 11,5 milhões de lares, o que corresponde a 17,7% dos domicílios brasileiros. Nos últimos anos ocorreu aumento no número de felinos no Brasil e isso se deve principalmente pelas características de adaptação desses animais à verticalização das cidades. Além disso, a diminuição de tempo, espaço e recursos financeiros dos tutores fez com que os gatos se tornassem os pets ideais para esse século (AAFCO, 2019). Outra mudança nítida foi a percepção dos tutores em relação a este animal de companhia, a maioria das pessoas que possuem um gato consideram esse animal como membro da família. Segundo a CVA Pet Care (2016), 29% da população avaliada consideraram os felinos como um membro da família e 27% os classificaram como um filho. Essa preocupação dos tutores com seus pets mudou a visão e ampliou o mercado pet como um todo, e esse aspecto não difere para o segmento de alimentos.

A saúde dos animais em longo prazo correlacionada com a ingestão de alimentos e seus efeitos no metabolismo foram pouco estudados. Atualmente já se sabe que o objetivo da nutrição não está apenas ligado a satisfação da fome e sobrevivência, mas também no bem-estar, melhora da saúde e redução do risco de doenças. Dentre as afecções, a obesidade é um problema em expansão e o aumento de sua prevalência está intimamente relacionado aos hábitos dos animais, como redução do gasto energético e o fornecimento de alimento seco de forma *ad libitum*, prática muito comum entre tutores de felinos. Além disso, ressalta-se a dificuldade que os animais dessa espécie possuem para perder peso, o que está correlacionado ao fato da adaptação e redução do metabolismo destes animais após o ganho de tecido adiposo.

O acúmulo excessivo de gordura pode levar ao aparecimento de comorbidades como lipidose hepática, doença do trato urinário inferior, alterações dermatológicas, resistência insulínica (RI) e diabetes. O status inflamatório ocasionado pela condição obesa parece ter influência direta sobre o aparecimento dessas condições. Além disso, gatos obesos podem apresentar também dislipidemia, já caracterizada como alterações no perfil de lipoproteínas e aumento

de triglicerídeos e colesterol. Essas alterações podem implicar em mais efeitos deletérios à saúde desses animais.

Com o propósito de amenizar os efeitos negativos associados à obesidade, aditivos e nutracêuticos vêm sendo estudados no âmbito da nutrição animal. Dentre eles, destacam-se os beta-glucanos (BG), que são polissacarídeos capazes de alterar o metabolismo de glicose e lipídeos, além de proporcionarem possível efeito de aumento de saciedade nos animais. Diversos estudos com seres humanos já evidenciaram seus benefícios no controle glicêmico e na dislipidemia em pacientes diabéticos e com RI. Na medicina veterinária as informações são limitadas, mas estudos iniciais apontam aplicações promissoras. Além disso, sabe-se que a obesidade altera a microbiota intestinal dos seres vivos, que é essencial para manter a saúde e proteger o hospedeiro contra possíveis infecções. Os BG, por possuírem características prebióticas, também podem trazer benefícios aos animais obesos, por serem possivelmente capazes de modular o perfil destes microrganismos.

Considerando as alterações deletérias ocasionadas pela obesidade e os possíveis efeitos benéficos dos BG sobre estas alterações, buscou-se com este projeto avaliar os efeitos da inclusão deste nutracêutico na microbiota e metabólica de gatos obesos e saudáveis.

1.2 OBJETIVOS GERAIS

Avaliar os efeitos da inclusão de 0,1% (1g/Kg de alimento) de Macrogard® na dieta de gatos saudáveis e obesos em parâmetros metabólicos e na microbiota fecal.

1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1.3.1 Caracterizar o metaboloma de gatos saudáveis e obesos;
- 1.3.2 Comparar o metaboloma dos dois grupos;
- 1.3.3 Caracterizar a microbiota de gatos obesos através da metodologia de sequenciamento Illumina®;
- 1.3.4 Comparar a microbiota de gatos obesos e em escore ideal, antes e após suplementação de BG.

1.4 REFERÊNCIAS

AAFCO. **Association of American Feed Control Officials**. Oxford, MI: Official Publication, 2019.

CVA PET CARE. **Como o brasileiro cuida e quanto gasta com seus pets:**

IBGE. Presença de animais no domicílio. In: **Pesquisa Nacional de Saúde: 2013: acesso e utilização dos serviços de saúde, acidentes e violências: Brasil, grandes regiões e unidades da federação**. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2015. p. 26–27.

CAPÍTULO 2

Revisão bibliográfica

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 OBESIDADE EM FELINOS: DADOS EPIDEMIOLÓGICOS

A obesidade é definida pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como sendo o acúmulo anormal ou excessivo de gordura que pode prejudicar o bem-estar e a vida saudável. Em animais de companhia, esta condição é considerada presente quando o animal está 20% ou mais acima do seu peso corporal ideal (BURKHOLDER, 2000). O ganho de peso está correlacionado com o balanço energético positivo caracterizado pelo desequilíbrio entre o consumo e gasto de calorias, o qual leva ao acúmulo de energia na forma de gordura e alteração da composição corporal dos animais (MCCRORY et al., 2000). Estima-se que na Grã-Bretanha a prevalência de felinos obesos e em sobrepeso seja de 39 e 52%, respectivamente (RUSSELL et al., 2000; COURCIER et al., 2010). Nos Estados Unidos, Lund et al. (2005) notificaram prevalência de 35% de obesidade e sobrepeso na população felina. Enquanto isso, na Europa, a prevalência foi ainda maior, de 52% (RUSSELL et al., 2000). No Brasil, um estudo realizado no Espírito Santo constatou a prevalência de 14% de obesidade em uma população de 50 gatos domiciliados (MENDES-JUNIOR et al., 2013). Estes dados demonstram a importância de se estudar esta afecção, uma vez que ela acomete um número cada vez maior de animais e pode levar ao desenvolvimento de comorbidades, tais como lipídose hepática (MARKS; ROGERS; STOMBECK, 1994), doença do trato urinário inferior (WILLEBERG; PRIESTER, 1976), condições dermatológicas (SCARLETT; DONOGHUE, 1998), RI e diabetes (APPLETON et al., 2001).

Fatores de risco associados ao desenvolvimento da obesidade felina incluem aspectos individuais, como o sexo, castração, raça, inatividade física, alimento e fatores ambientais (LUND et al., 2005; GERMAN; MARTIN, 2008). Além destes, associa-se também a esta condição os hábitos dos proprietários e suas práticas de alimentação (KIENZLE; BERGLER, 2006). Além do aumento da prevalência, sabe-se que há grande dificuldade em se realizar programas de perda de peso em gatos, o que agrava ainda mais esta condição. Foi demonstrado em um estudo, que o metabolismo destes animais se adapta e aumenta com o maior consumo de calorias na fase inicial de ganho de peso e depois disso, reduz. Este fator, de acordo com os autores, acelera a deposição de gordura em animais obesos e contribui para a dificuldade de emagrecimento dessa espécie (HOENIG et al., 2013).

2.2 OBESIDADE E SUAS IMPLICAÇÕES

Estudos demonstraram que a obesidade consiste em uma condição inflamatória crônica, a qual também implica no desenvolvimento de RI em algumas espécies, contudo, os mecanismos pelos quais este efeito ocorre ainda não foram totalmente elucidados (FANTUZZI, 2005; MARCELL et al., 2005). Em seres humanos obesos, estudos demonstraram que as concentrações de citocinas possuem correlação positiva com a RI (BASTARD et al., 2002; SHOELSON; LEE; GOLDFINE, 2006). A leptina e a adiponectina demonstraram estar envolvidas em alterações na ação insulínica. A leptina parece estar correlacionada com a RI, já a adiponectina com a melhora da sensibilidade insulínica, como demonstrado em outras espécies (HÄRLE; STRAUB, 2006; HOENIG et al., 2007, 2011). A leptina atua no hipotálamo sinalizando saciedade e aumento da taxa metabólica basal. Contudo, também é um membro da família das citocinas IL-6 e possui características pró-inflamatórias (LORD et al., 1998; BRENNAN; MANTZOROS, 2007). Enquanto isso, a concentração de adiponectina circulante reduz com a obesidade e aumenta com a perda de peso (FRUEBIS et al., 2001) e possui efeitos anti-inflamatórios e anti-aterogênicos (HOENIG et al., 2013).

O estado inflamatório crônico provocado pelo excesso de tecido adiposo leva a predisposição de outras afecções, como hiperlipidemia e RI por exemplo. A sensibilidade insulínica é definida como a redução da glicemia para uma determinada quantidade de insulina e, RI se refere à redução acentuada desta sensibilidade (PORTE, 1991). Em felinos, a obesidade está diretamente associada à RI e pode levar ao diabetes (APPLETON et al., 2001; HOENIG et al., 2007). De acordo com Appleton et al. (2001), a sensibilidade à insulina de gatos é reduzida para menos da metade quando o peso corporal aumenta em 44%. Existem diversos mecanismos que elucidam a influência da obesidade na indução de RI. Um deles é a redução de receptores de insulina e defeitos nos receptores e pós-receptores envolvidos no metabolismo da glicose (KOLTERMAN et al., 1981). Outra maneira que pode implicar em redução da sensibilidade insulínica é a secreção de adipocitocinas pelos adipócitos, dentre elas a resistina e a adiponectina, que estão correlacionadas à regulação da sensibilidade insulínica (SILHA et al., 2003). Além disso, o excesso de tecido adiposo corporal pode resultar em redução da expressão

do transportador GLUT4, que possui resposta rápida e eficiente frente à insulina (BRENNAN; HOENIG; FERGUSON, 2004).

Ao desenvolver RI, animais obesos tendem a aumentar a produção de insulina pelas células beta do pâncreas, o que resulta em hiperinsulinemia compensatória (PORTE, 1991). Uma vez nesta condição, pode ocorrer a exaustão das células beta, mediada por danos oxidativos que culminam em apoptose celular e deposição de amilina nas células onde a insulina é produzida (ROSSETTI; GIACCARI; DEFRONZO, 1990). Estes danos podem potencialmente resultar em perda permanente destas células pancreáticas (YANO; HAYDEN; JOHNSON, 1981; PANCIERA et al., 1990), o que resulta no possível desenvolvimento de diabetes mellitus. Como as concentrações de amilina podem estar elevadas em condições associadas à RI em gatos obesos (HENSON et al., 2011), sua determinação pode ser importante para a avaliação da integridade pancreática e possível desenvolvimento de diabetes mellitus em felinos.

Além da RI, gatos obesos podem também apresentar hiperlipidemia. Nestes animais há aumento da expressão de TNF-alfa, uma das citocinas inflamatórias produzida pelo tecido adiposo, a qual tem sido correlacionada com a redução da expressão da atividade da lipoproteína-lipase, enzima responsável pela partição das lipoproteínas no tecido muscular (HOENIG et al., 2013). Por conta disso, observou-se alterações em tamanho das partículas e sub-classes das lipoproteínas (JORDAN et al., 2008). O perfil de lipídeos neste caso é constituído por LDL de partículas pequenas em maior quantidade, triglicerídeos/colesterol aumentados no período pós-prandial e alta concentração de HDL (JORDAN et al., 2008). Em gatos, observou-se também a presença de mais partículas de VLDL e estas lipoproteínas constituídas de partículas maiores do que em animais magros (JORDAN et al., 2008). Em seres humanos, sabe-se que a hiperlipidemia caracterizada pelo aumento das concentrações de lipoproteínas VLDL, IDL e LDL em associação com a redução de HDL resultou em maior deposição de placas de gordura nas artérias, podendo causar aterosclerose (VERKEST, 2014).

Apesar de apresentarem dislipidemia, não foram descritos relatos de gatos obesos com aterosclerose e sugere-se que outros fatores anti-ateroscleróticos estejam possivelmente presentes nestes animais (JORDAN et al., 2008). Dados não

publicados de Hoenig et al. (2013) demonstraram que em gatos obesos não foi identificada a presença de aterosclerose na avaliação *post mortem* e, os autores acreditam que isso ocorra pelo aumento da concentração de HDL.

Além de seus efeitos metabólicos, a obesidade pode afetar o microbioma intestinal levando a disbiose em cães (MACEDO et al., 2022). A disbiose é definida como a condição de ter desequilíbrios microbianos associados a uma patologia (GÉRARD, 2016). Estudos pioneiro realizados em camundongos mostrou animais obesos têm uma redução de 50% na abundância de Bacteroidetes e um aumento proporcional de Firmicutes (LEY et al., 2005). Diferenças semelhantes foram também observadas na microbiota intestinal de humanos (LEY et al., 2006). Além disso, a proporção Bacteroidetes para Firmicutes aproximou-se de um fenótipo magro após 52 semanas de perda de peso induzida por dieta. Juntos, esses resultados obtidos em camundongos e humanos sugeriram que a obesidade altera a natureza da microbiota intestinal e levantou a possibilidade de que a manipulação da microbiota intestinal para uma relação Firmicutes/Bacteroidetes mais baixa possa ser uma nova estratégia para o tratamento de pessoas obesas. Em cães, estudos demonstraram diferença entre a microbiota fecal de animais obesos e magros (MACEDO et al., 2022). Além disso, a perda de peso promovida por restrição energética associada ao uso de um alimento comercial de baixa caloria (baixa energia e alto teor de fibras e proteínas) resultou em alterações na microbiota fecal (MACEDO et al., 2022).

Poucos estudos avaliaram a influência da obesidade na microbiota de gatos. Apenas um trabalho (KIELER et al., 2016) comparou a microbiota de gatos magros e obesos utilizando a técnica de PCR. Nesse estudo, os autores observaram menor contagem média de Clostridium cluster XIVa, Bacteroidetes, Fusobacteria e Epsilonproteobacteria em gatos com sobrepeso e obesos em comparação com gatos magros. Além disso, os gatos com sobrepeso e obesos tiveram maiores contagens médias dos grupos Clostridium cluster IV e Enterobacteriaceae.

2.3 BETA-GLUCANOS COMO NUTRACÊUTICO MODULADOR DO METABOLISMO

A composição da dieta dos animais, bem como o uso de nutracêuticos pode beneficiar animais obesos com RI e diabéticos. Neste sentido, os BG podem promover possíveis benefícios para estes animais, pois são polissacarídeos capazes de alterar o metabolismo da glicose (VETVICKA; OLIVEIRA, 2014; DE

OLIVEIRA SILVA et al., 2015) e de lipídeos (ANDRADE et al., 2016; FERREIRA, 2016). Estruturalmente, são compostos por monômeros de glicose ligados entre si por ligações β -glicosídicas (GUILLON; CHAMP, 2000). Estes polissacarídeos são os principais componentes estruturais da parede celular de leveduras, fungos e algumas bactérias. Cereais, como cevada e aveia, também contêm BG como parte da parede celular e endosperma (VOLMAN; RAMAKERS; PLAT, 2008).

Na literatura médica humana existem diversos estudos que apontaram a eficácia do uso de BG no controle glicêmico e da hiperlipidemia de pacientes com RI e diabetes (RAMI; ZIDEK; SCHOBBER, 2001; JENKINS et al., 2002; TAPOLA et al., 2005). Em 1997, a FDA (Food and Drug Administration) passou a recomendar a ingestão de 3g/dia de BG com o intuito de reduzir o colesterol. Em um estudo que avaliou esta concentração, concluiu-se que esta dose pode ser usada como terapêutica para a redução de colesterol, principalmente de pacientes com diabetes mellitus do tipo II, uma vez que estes são mais propensos a desenvolverem doenças cardiovasculares (LIATIS et al., 2009). Acredita-se que o efeito de redução de colesterol dos BG seja causado pela sua ligação com ácidos biliares no lúmen intestinal, o que levaria a redução na circulação enterohepática de ácidos biliares e consequente aumento do uso de colesterol para a produção de ácidos biliares (LIA et al., 1997; ANDERSSON; ELLEGÅRD; ANDERSSON, 2002). Outra teoria para este efeito hipolipemiante relaciona-se com o aumento da viscosidade do conteúdo intestinal ocasionada pelo nutracêutico, o que implicaria em uma barreira física para a absorção dos ácidos biliares (KERCKHOFFS et al., 2002).

Brockman et al. (2013) alimentaram ratos obesos e hiperglicêmicos com dieta formulada com altas doses de BG e avaliaram seu efeito sob o controle glicêmico, lipemia e marcadores de resistência à insulina. Como resultados, os animais alimentados com BG apresentaram menor área abaixo da curva da glicose durante teste oral de tolerância, menor porcentagem de hemoglobina glicada e maior concentração de adiponectina plasmática. Estes resultados embasam a hipótese de que o consumo dos BG pode melhorar a sensibilidade à insulina e o controle glicêmico. Além disso, também foi observado no grupo teste menor peso do fígado, com menor concentração de lipídeos totais, comparado ao grupo controle positivo. Os autores também constataram menor concentração de colesterol hepático e

aumento da viscosidade no conteúdo do intestino delgado dos ratos pertencentes ao grupo teste.

Em cães, há um trabalho não publicado que avaliou os efeitos da administração de 15mg/kg de BG por via oral, no perfil glicêmico desses animais com hiperglicemia (induzida pela administração de estreptozomicina), que resultou em diminuição da glicemia (Biorigin, não publicado). Além disso, um recente trabalho realizado por nosso grupo de pesquisa encontrou efeitos benéficos na redução da concentração sérica de glicose, insulina, colesterol e triglicérides de cães obesos ao receberem dieta enriquecida com 0,1% de BG (FERREIRA, 2016). Neste mesmo trabalho também foram encontrados indícios de atuação dos BG na saciedade. Considerando-se que a obesidade em animais de companhia é uma afecção cada vez mais frequente, associada à dificuldade relacionada ao seu tratamento, a busca por estratégias alternativas que auxiliem na prevenção e no tratamento desta situação é muito importante dentro do cenário da nutrição de gatos. Neste contexto, os BG são potenciais aditivos que podem promover mudanças importantes no metabolismo de animais obesos.

Os metabólitos são produtos intermediários ou finais do metabolismo em uma amostra biológica (FIEHN, 2002). O conjunto desses metabólitos que possuem massa molecular de até 1500 Da, presentes em um sistema biológico, é chamado de metaboloma (CANUTO et al., 2018). A metabolômica foi definida em 2002 como a análise abrangente e quantitativa do metaboloma de um sistema biológico (FIEHN, 2002). Ela pode ser utilizada para dois objetivos: A análise de metabolômica alvo ou "*targeted metabolomics*", definida como a análise quantitativa de um ou mais metabólitos pré-selecionados de determinada classe química, ou que estejam associados a rotas metabólicas específicas; análise de metabolômica global ou "*untargeted metabolomics*", que está baseada na análise qualitativa do maior número de metabólitos possível, pertencentes a diversas classes químicas, contidas no sistema biológico em estudo (CANUTO et al., 2018). Essa técnica mede as mudanças relativas de concentração de uma ampla gama de metabólitos de baixo peso molecular, incluindo lipídios, açúcares e aminoácidos (FIEHN, 2002).

Quando empregada na área de nutrição pode ser nomeada nutrimetabolômica, a qual permite a caracterização de fenótipos individuais, por meio da medida de centenas ou milhares de metabólitos, após a exposição a uma

dieta específica, por exemplo. De um modo geral, a nutrimetabolômica está focada em: descoberta de biomarcadores por meio da avaliação do efeito de uma dieta (BRENNAN; HOENIG; FERGUSON, 2004), demonstrar intervenção de dietas em rotas metabólicas específicas (GIBBONS; O'GORMAN; BRENNAN, 2015), associar o tipo de dieta a doenças, ou a influência de dietas sobre uma determinada doença (CANUTO et al., 2018). Em gatos, nenhum estudo foi realizado até o momento comparando o metaboloma de animais obesos e magros, tão pouco o efeito de aditivos sobre esses metabólitos, ou vias metabólicas específicas. Portanto, neste estudo, além de se caracterizar e comparar o metaboloma de gatos magros e obesos, objetiva-se verificar o efeito da utilização dos BG nas possíveis mudanças metabólicas de gatos obesos.

No quadro 1 estão listados os poucos estudos realizados na área de nutrição de cães e gatos que utilizaram as ciências ômicas para entender alguns efeitos metabólicos. Tal levantamento aponta a necessidade de mais estudos nessa nova área do conhecimento, principalmente quando tentamos entender as diferenças metabólicas existentes entre animais saudáveis e em condições de doença.

Quadro 1: Artigos publicados na área de nutrição de cães e gatos com o emprego das ciências ômicas

AUTOR/ANO	TÍTULO	OBJETIVOS	PRINCIPAIS RESULTADOS
Barry et al. (2012)	Effects of dietary fiber on the feline gastrointestinal metagenome.	Elucidar o microbioma fecal e metagenoma do gato, e como eles são afetados por dietas com fontes suplementares de fibras, celulose, frutooligosacárides ou pectina, utilizando a técnica 454 GS-FLX de pirosequenciamento e comparar esses genomas com os metagenomas bacterianos de outras espécies.	Os filos encontrados em maior abundância foram: Firmicutes, Bacteroidetes e Proteobacteria. Categorias funcionais primárias determinadas por KEGG (<i>Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes</i>) foram associadas ao metabolismo de carboidratos. As categorias funcionais primárias determinadas pelo COG (<i>Clusters of Orthologous Groups of Proteins</i>) foram associadas ao metabolismo e transporte de aminoácidos e, metaboloma de carboidratos. Análise de enzimas ativas de carboidratos revelou modificações em várias hidrolases glicosídicas, glicosil-transferases e moléculas de ligação a carboidratos com FOS e pectina. Enquanto o gato é um animal carnívoro obrigatório, seu microbioma intestinal tem características filogenéticas semelhantes à microbiota de animais onívoros.
Puurunen et al. (2016)	Non-targeted metabolite profiling reveals changes in oxidative stress, tryptophan and lipid metabolisms in fearful dogs.	Estudo piloto com objetivo de fazer uma abordagem metabolômica em cães medrosos e não medrosos para identificação de possíveis biomarcadores para fins de fenotipagem.	A análise metabolômica global detectou 932 metabólitos, dos quais 239 diferiram entre os grupos teste. Foram observadas mudanças em 13 metabólitos, incluindo hipoxantina, indoxilsulfato e vários fosfolipídios. Estas moléculas estão envolvidas no estresse oxidativo, no metabolismo de triptofano e lipídios.

Continuação

AUTOR/ANO	TÍTULO	OBJETIVOS	PRINCIPAIS RESULTADOS
Söder et al. (2019)	Plasma metabolomics reveals lower carnitine concentrations in overweight Labrador Retriever dogs.	Investigar a resposta pós-prandial de metabólitos no plasma utilizando um teste desafio de refeição, e identificar variações metabólicas relacionadas com excesso de peso espontâneo em cães de tutores.	Onze metabólitos, todos aminoácidos, tiveram respostas pós-prandiais diferentes entre os grupos. A carnitina foi relacionada ao excesso de peso por regressão logística e, também quando comparada por medidas repetidas no tempo, de forma que cães com excesso de peso possuíam concentrações de carnitina sérica ou urinária inferiores ao outro grupo. Por fim, a concentração média de carnitina em jejum em cães com sobrepeso foi próxima ao de um animal com insuficiência de carnitina.
Young et al. (2016)	Pre- and post-weaning diet alters the faecal metagenome in the cat with differences vitamin and carbohydrate metabolism gene abundances.	Investigar os efeitos das dietas extrusada seca ou úmida nas fases de pré e pós-desmame de gatos na composição e função da microbiota fecal por sequenciamento metagenômico e atribuição taxonômica e funcional de genes usando MG-RAST (<i>the metagenomics RAST</i>).	Os autores observam que 147 das 195 espécies bacterianas identificadas apresentavam abundâncias relativas médias diferentes entre os gatos alimentados com dietas enlatadas. Os filhotes alimentados com dietas secas tiveram abundâncias relativamente maiores de <i>Lactobacillus</i> , <i>Bifidobacterium</i> e <i>Collinsella</i> . Genes envolvidos na biossíntese, metabolismo e transporte de vitaminas, foram mais frequentes nos metagenomas dos filhotes alimentados com dieta enlatada. O impacto da dieta pós-desmame sobre o metagenoma sugere que a modulação da função do microbioma através da dieta pode ser um caminho para melhorar a nutrição dos animais de companhia.

Continuação

AUTOR/ANO	TÍTULO	OBJETIVOS	PRINCIPAIS RESULTADOS
Söder et al. (2017)	The urine metabolome differs between lean and overweight Labrador Retriever dogs during a feed-challenge.	Investigar se a avaliação metabolômica baseada em Ressonância Magnética Nuclear (RMN) pode ser usada para diferenciar a urina pós-prandial da urina em jejum de cães e, para avaliar se os perfis metabólicos diferem entre cães magros e com excesso de peso em jejum e pós-prandial, respectivamente.	Os metabólitos da urina em jejum e pós-prandial diferiram. Análises univariadas de metabólitos discriminantes mostraram que as concentrações de taurina e citrato foram elevadas na urina pós-prandial, enquanto a alantoína diminuiu. Curiosamente, os cães magros e com excesso de peso apresentaram diferenças nos metabólitos relativos na urina pós-prandial, mas não na urina em jejum. Cães com excesso de peso apresentaram menor concentração de taurina pós-prandial e tendência a maiores concentrações de alantoína em comparação com outro grupo. Os metabólitos da urina podem diferenciar em 3 horas após a alimentação e, estes podem ser mais úteis para identificação de alterações ligadas ao excesso de peso.
Forster et al. (2018)	A Comparative Study of Serum Biochemistry, Metabolome and Microbiome Parameters of Clinically Healthy, Normal Weight, Overweight, and Obese Companion Dogs.	Comparar o microbioma fecal, plasma, metabolitos fecais e urinários e bioquímica sérica de cães adultos de acordo com os escores de condição corporal.	A análise identificou 185 metabólitos no plasma, 37 fecais, e 45 na urina que diferiram entre os cães magros, sobrepeso ou obesos. Houve diferença na abundância relativa de várias frações fosfolipídicas plasmáticas e ácidos graxos de cadeia curta fecais entre os fenótipos de peso. As combinações de microbiota hospedeira e intestinal e alterações metabólicas sugerem um padrão que pode ajudar na detecção de alterações metabólicas precoces em cães com sobrepeso antes do desenvolvimento da doença relacionada à obesidade.

Continuação

AUTOR/ANO	TÍTULO	OBJETIVOS	PRINCIPAIS RESULTADOS
Hall et al. (2018)	Comparison of circulating metabolite concentrations in dogs and cats when allowed to freely choose macronutrient intake.	Determinar as diferenças entre cães e gatos quando lhes é dada a oportunidade de escolher a ingestão de macronutrientes.	Gatos tinham maiores concentrações plasmáticas de histidina, isoleucina, fenilalanina e valina, mas menor de lisina, metionina e treonina em comparação com cães. No geral, os aminoácidos não essenciais foram mais elevados nos gatos. Em relação aos lipídios, os gatos apresentaram concentrações plasmáticas aumentadas de ácidos graxos poli-insaturados após 28 dias, embora o ácido araquidônico tenha sido maior em cães. Concentrações plasmáticas de intermediários do ciclo da ureia, antioxidantes e compostos metilados também foram diferentes entre as espécies.
Hall et al. (2018b)	When fed foods with similar palatability, healthy adult dogs and cats choose different macronutrient compositions.	Comparar as diferenças entre cães e gatos em relação ao consumo de macronutrientes quando alimentados com dietas de palatabilidade similar. Também as relações entre a ingestão de alimentos (composição dos macronutrientes) e a idade, massa corporal e metabólica plasmática.	Análise metabólica de intermediários do ciclo da ureia mostrou que o aumento da ingestão de proteína em gatos jovens foi associado a concentrações aumentadas de arginina e homoarginina. As concentrações plasmáticas de ureia não aumentaram com a ingestão de proteína. Em gatos mais velhos, as concentrações de produtos catabólicos microbianos sulfatados como sulfato de p-cresol e sulfato de 4-etil-fenil apresentaram aumento.
Schmidt et al. (2018)	The fecal microbiome and metabolome differs between dogs fed Bones and Raw Food (BARF) diets and dogs fed commercial diets.	Investigar as diferenças no microbioma fecal e no metaboloma entre cães alimentados com dieta BARF ou dieta comercial (seca ou úmida).	Não houve diferença nas concentrações de ácidos biliares fecais, porém animais alimentados com dieta BARF apresentaram maior quantidade de gordura nas fezes.

Continuação

AUTOR/ANO	TÍTULO	OBJETIVOS	PRINCIPAIS RESULTADOS
Allaway et al., (2019)	Metabolomic profiling to identify effects of dietary calcium reveal the influence of the individual and postprandial dynamics on the canine plasma metabolome.	Comparar o metaboloma do plasma em jejum (amostrado em intervalos de 8 semanas ao longo de 40 semanas) de cães alimentados com duas dietas. Uma dieta contendo concentração de cálcio próximo do limite mínimo e outra próxima ao limite máximo.	Em jejum, nenhum efeito foi observado entre as dietas. No estado pós-prandial, o fosfato foi diferente entre as dietas. A análise do perfil metabólico indicou que o limite superior do Ca na dieta foi seguro. Adicionalmente, o metaboloma do plasma canino foi caracterizado, fornecendo informações sobre a estabilidade dos perfis individuais ao longo de 40 semanas, a resposta ao consumo de uma refeição nutricionalmente completa ao longo de 4 h pós-prandial e diferentes categorias cinéticas de absorção pós-prandial.
Apper et al. (2020)	Relationships Between Gut Microbiota, Metabolome, Body Weight, and Glucose Homeostasis of Obese Dogs Fed with Diets Differing in Prebiotic and Protein Content	Avaliar os efeitos dos níveis de proteína dietética e suplementação de prebióticos no metabolismo da glicose e relações entre o intestino, microbiota, metaboloma e fenótipo de cães obesos.	As dietas não afetaram a homeostase energética, mas a suplementação de FOS modificou a composição da microbiota fecal e induziu mudanças significativas no metaboloma fecal. Ácidos biliares e vários aminoácidos foram relacionados à homeostase da glicose, enquanto bactérias específicas reunidas em metavariáveis tiveram um alto número de ligações com parâmetros fenotípicos e metabolômicos.
Ephraim et al., (2020)	Varying Protein Levels Influence Metabolomics and the Gut Microbiome in Healthy Adult Dogs	Avaliar o impacto do consumo a longo prazo de alimentos contendo baixos, médios e altos níveis de proteína no soro, urina, metabólitos fecais e microbioma intestinal em beagles.	No soro e/ou urina, metabólitos associados à inflamação e disfunção renal apresentaram níveis mais elevados nos animais que consumiram alimento com alta proteína, enquanto os metabólitos da via glicolítica diminuíram.

Continuação

AUTOR/ANO	TÍTULO	OBJETIVOS	PRINCIPAIS RESULTADOS
Jewell & Jackson (2020)	Dietary Fatty Acids Change Circulating Fatty Acids, Microbial Putrefactive Postbiotics and Betaine Status in the Cat	Avaliar o efeito de dietas ricas em EPA e DHA em comparação com ARA sobre os lipídios circulantes, pós-bióticos e metabólitos em gatos.	O aumento de EPA e DHA dietético resultou na redução do colesterol, betaína, dimetilglicina, sarcosina e 4-etilfenilsulfato. O aumento do ARA dietético resultou na redução da betaína, dimetilglicina e sarcosina e aumento da concentração de indoleacetato, indolepropionato e indoleacetilglutamina.
Hall et al., (2020)	Changes in the Fecal Metabolome Are Associated with Feeding Fiber Not Health Status in Cats with Chronic Kidney Disease	O objetivo foi determinar os efeitos da alimentação com diferentes fontes de fibra para gatos com doença renal crônica (DRC) em comparação com gatos saudáveis (ambos n = 10) em metabólitos fecais.	Depois de alimentar ambas as fontes de fibra, algumas concentrações de metabólitos fecais foram significativamente diferentes em comparação com a linha de base. Muitas toxinas urêmicas fecais diminuíram, embora em gatos saudáveis algumas tenham aumentado. As alterações nas concentrações de ácidos biliares secundários foram mais numerosas em gatos saudáveis em comparação com gatos com DRC, e os gatos em ambos os grupos tiveram aumento em alguns ácidos biliares secundários após consumirem bagaço de maçã em comparação com FOS.

Continuação

AUTOR/ANO	TÍTULO	OBJETIVOS	PRINCIPAIS RESULTADOS
Hall et al., (2020)	Chronic kidney disease in cats alters response of the plasma metabolome and fecal microbiome to dietary fiber	Os objetivos foram determinar os efeitos da alimentação de diferentes tipos de fibras para gatos saudáveis e gatos com DRC nos metabólitos plasmáticos e no microbioma fecal.	Os gatos com DRC apresentaram maiores concentrações dos metabólitos de glutathione peroxidase após consumirem bagaço de maçã em comparação com FOS, bem como maiores concentrações de metabólitos inflamatórios de esfingolípídeos após consumirem bagaço de maçã, mas não FOS. Após consumir FOS, os gatos com DRC apresentaram menores concentrações das toxinas fenólicas urêmicas sulfato de guaiacol e sulfato de 4-vinilfenol em comparação com após o consumo de bagaço de maçã.
Jackson & Jewell (2020)	Docosahexaenoate-enriched fish oil and medium chain triglycerides shape the feline plasma lipidome and synergistically decrease circulating gut microbiome-derived putrefactive postbiotics	examinar a influência de triglicerídeos contendo ácidos graxos de cadeia média (MCT), triglicerídeos contendo ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa e sua combinação no metaboloma plasmático de gatos (<i>Felis catus</i>), incluindo pós-bióticos circulantes derivados da microbiota.	A adição de óleo de peixe (FO) e MCT levou a efeitos sinérgicos não observados com nenhum deles isoladamente em várias classes de lipídios, incluindo ácidos graxos, acilcarnitinas e aminas aciladas, incluindo endocanabinóides. O grupo FO + MCT teve um aumento na produção de corpos cetônicos em relação à linha de base e além do observado com MCT sozinho. N-acil taurinas, cujo acúmulo tem sido implicado no início do diabetes tipo 2, foram significativamente diminuídos no grupo FO+MCT. Diminuições significativas nas classes pós-bióticas derivadas do microbioma intestinal de indóis/sulfatos indólicos e fenóis/sulfatos fenólicos foram observadas apenas no grupo FO+MCT.

Continuação

AUTOR/ANO	TÍTULO	OBJETIVOS	PRINCIPAIS RESULTADOS
Pasławski et al., (2021)	Effect of 6-Month Feeding with a Diet Enriched in EPA + DHA from Fish Meat on the Blood Metabolomic Profile of Dogs with Myxomatous Mitral Valve Disease	O objetivo foi avaliar se 6 meses de alimentação com uma dieta enriquecida com EPA + DHA em cães com insuficiência cardíaca por degeneração mitral impacta o perfil metabólico e o estado clínico dos cães.	Após 6 meses de alimentação com a dieta enriquecida com DHA + EPA (de carne de peixe), houve uma redução favorável nos níveis de glicerofosfolina e xantina, mas um aumento adverso de lactato e furvan e uma diminuição de alanina não foram interrompidos.
Pallotto et al., (2021)	Effects of Weight Loss and Moderate-Protein, High-Fiber Diet Consumption on the Fasted Serum Metabolome of Cats	utilizar técnicas metabolômicas para identificar biomarcadores e obter informações mecanísticas sobre as alterações dos metabólitos séricos associadas à redução da ingestão de alimentos e perda de peso em gatos com sobrepeso.	A maioria dos metabólitos lipídicos diminuiu com a perda de peso; entretanto, corpos cetônicos e pequenas partículas lipídicas aumentaram com a perda de peso. A maioria dos metabólitos de carboidratos diminuiu com a perda de peso. Os metabólitos proteicos tiveram resultado variável, com alguns aumentando, mas outros diminuindo com a perda de peso. Os mediadores metabólicos da inflamação, estresse oxidativo, xenobióticos e resistência à insulina diminuíram com a perda de peso.
Vendramini et al., (2021)	Serum metabolomics analysis reveals that weight loss in obese dogs results in a similar metabolic profile to dogs in ideal body condition	investigar o perfil metabólico do soro sanguíneo de cães obesos, cães controle e cães submetidos ao programa de emagrecimento.	Cães saudáveis apresentaram maior teor de glicose, enquanto os animais que perderam peso apresentaram níveis mais elevados de colesterol e lactato. O teor de lipídios, colesterol e aminoácidos de cadeia ramificada foram maiores em animais obesos.

Continuação

AUTOR/ANO	TÍTULO	OBJETIVOS	PRINCIPAIS RESULTADOS
Brunetto et al., (2021)	Healthy and Chronic Kidney Disease (CKD) Dogs Have Differences in Serum Metabolomics and Renal Diet May Have Slowed Disease Progression	Comparar o perfil metabólico sérico de cães saudáveis (GC) e cães com DRC (CKD-T0 e CKD-T6) para avaliar se a dieta afetaria os metabólitos.	Cães com DRC apresentaram perfil metabólico alterado com aumento de ureia, creatinina, creatina, citrato e lipídios. Lactato, aminoácidos de cadeia ramificada (AACR) e glutamina foram diminuídos no grupo DRC. No entanto, após 6 meses de dieta, os perfis metabólitos de CKD-T0 e CKD-T6 foram semelhantes.
Ephraim & Jewell (2021)	Effect of Nutrition on Age-Related Metabolic Markers and the Gut Microbiota in Cats	Avaliar o efeito de alimento para gatos sênior resulta em mudanças favoráveis nos metabólitos plasmáticos e fecais e na microbiota fecal em gatos idosos.	Foram observados níveis mais baixos de metabólitos associados a processos prejudiciais (por exemplo, toxinas urêmicas) e níveis mais altos de metabólitos associados a processos benéficos (por exemplo, tocoferóis) após os gatos consumirem o alimento teste em comparação com o alimento controle.
Lyu et al., (2022)	Differences in Metabolic Profiles of Healthy Dogs Fed a High-Fat vs. a High-Starch Diet	comparar a resposta inflamatória e o metaboloma fecal de cães alimentados com uma dieta rica em gordura versus a dieta rica em amido.	Houve tendência de aumento das concentrações de glicose e da relação glicose/insulina no sangue em cães alimentados com a dieta hiperlipídica, enquanto houve diminuição do nível de ácidos graxos não esterificados e tendência de diminuição do nível de alanina em cães alimentados com a dieta rica em amido. A análise não direcionada do metaboloma fecal revelou 10 metabólitos anotados de interesse, incluindo L-metionina, que mostrou maior abundância em cães alimentados com dieta rica em amido.

2.4 BETA-GLUCANOS COMO POSSÍVEL MODULADOR DA MICROBIOTA DE ANIMAIS OBESOS

A microbiota do trato gastrointestinal (TGI) é um ecossistema complexo composto por espécies de bactérias, fungos, protozoários e vírus. Ela pode ser definida como o agregado de todos os microrganismos que habitam o intestino e o sistema de interações que esses organismos apresentam entre si e, com as células hospedeiras (BLAKE; SUCHODOLSKI, 2016). Das espécies de bactérias presentes na microbiota, algumas apresentam potencial patogênico, enquanto outras são consideradas benéficas para o hospedeiro (ROBERFROID et al., 2010).

Tal ecossistema complexo e diverso pode contribuir de maneira benéfica à saúde do hospedeiro (HEIJTZ, 2016). Quando está em eubiose, colabora para o bom funcionamento dos processos de digestão e metabolização de nutrientes (HOOPER; GORDON, 2001; OUWEHAND et al., 2005). Além disso, esses microrganismos podem contribuir com a manutenção da saúde local, devido à participação da microbiota intestinal em muitos processos importantes para o metabolismo do hospedeiro, como metabolismo dos ácidos biliares, fermentação e utilização dos produtos de carboidratos não digeríveis e proteínas (DENG; SWANSON, 2015). Estudos recentes realizados em animais criados em ambiente estéril demonstraram papel importante da microbiota comensal em recuperar energia e produção de vitaminas. Roedores *germ-free* quando comparados com roedores convencionais, necessitaram de 30% mais energia em sua dieta e, a suplementação com vitamina K e várias vitaminas do complexo B foram necessárias para auxiliar o crescimento e o desenvolvimento desses animais (TAPPENDEN, 2014).

Apesar dos esforços em se tratar a obesidade, nos últimos anos sua prevalência em pessoas e animais de estimação vêm aumentando (LARSEN; VILLAVERDE, 2016). Dentre suas consequências, uma possibilidade levantada mais recentemente é a disbiose da microbiota intestinal, bem como em desordens imunológicas, síndrome metabólica, doenças cardiovasculares e do fígado (BÄCKHED et al., 2012; LE ROY et al., 2013; DUCA et al., 2014; GÉRARD, 2016). A microbiota intestinal de cães e gatos é estudada com o propósito de melhorar a compreensão da dinâmica e função das comunidades microbianas, bem como a

sua relação com o hospedeiro, enfermidades associadas e influência de fatores como dieta, uso de medicamentos e ambiente (DENG; SWANSON, 2015).

Devido a sua natureza carnívora, o trato gastrointestinal relativamente simples dos animais de companhia não depende da microbiota como fonte de energia, se comparado aos bovinos e equinos (DENG; SWANSON, 2015). Gatos são considerados carnívoros estritos, porém tem capacidade de digerir e absorver determinadas quantidades de carboidratos (NRC, 2006). Tais características podem justificar as particularidades de sua microbiota.

O complexo ecossistema microbiano do intestino age em diversas vias e, pode afetar tanto a absorção e metabolismo dos nutrientes quanto às funções tróficas e protetoras do hospedeiro. Qualquer alteração no equilíbrio desta microbiota pode ocasionar o desenvolvimento de múltiplas desordens e doenças (LEE; HASE, 2014). O microbioma intestinal tem sido associado à patogênese da obesidade em humanos e camundongos (BÄCKHED et al., 2004; LEY et al., 2006). Autores observaram na microbiota de ratos obesos aumento nas proporções de *Firmicutes* e diminuição de *Bacteroidetes* em comparação com indivíduos saudáveis (TURNBAUGH et al., 2008). Alterações da microbiota também foram detectadas em humanos obesos; entretanto, ainda existem controvérsias sobre alterações específicas e o papel dos fatores dietéticos (LEY et al., 2006; MAI; DRAGANOV, 2009). Tem sido especulado que um microbioma obesogênico poderia extrair mais energia de uma dieta e, assim, promover a adiposidade de indivíduos obesos (TURNBAUGH et al., 2008; KIELER et al., 2016). Além disso, tal microbioma poderia aumentar a permeabilidade da mucosa intestinal, permitindo a translocação de lipopolissacarídeos bacterianos (LPS) e, assim, levar à inflamação sistêmica de baixo grau (CANI et al., 2008; KIELER et al., 2016).

Um experimento realizado por Handl et al. (2013) demonstrou que a abundância média de *Actinobacteriae Roseburia* é maior em cães obesos quando comparado com cães magros. No mesmo estudo, ao alimentarem uma colônia de beagles de maneira *ad libitum* observaram aumento relativo dos *Firmicutes* e diminuição dos *Bacteroidetes* em comparação com animais alimentados de maneira restrita com a mesma dieta (HANDL et al., 2013). Poucos estudos avaliaram a influência da obesidade na microbiota de gatos. Em um trabalho pioneiro realizado por Kieler et al. (2016), foi comparada a microbiota de gatos magros e obesos

utilizando a técnica de PCR. Nesse estudo, os autores observaram menor contagem média de *Clostridium cluster XIVa*, *Bacteroidetes*, *Fusobacteria* e *Epsilonproteobacteria* em gatos com sobrepeso e obesos em comparação com gatos magros. Além disso, os gatos com sobrepeso e obesos tiveram maiores contagens médias dos grupos *Clostridium cluster IV* e *Enterobacteriaceae*. Já Pallotto et al. (2018) avaliaram as mudanças na microbiota de gatos ao longo do programa de perda de peso. Neste estudo, abundância relativa de Actinobacteria aumentou e Bacteroidetes diminuiu com a perda de peso (PALLOTTO et al., 2018).

Mais recentemente Tal et al. (2020) compararam a microbiota fecal de gatos magros e obesos, antes e após início do programa de perda de peso, utilizando técnicas mais avançadas de sequenciamento (Illumina). Eles observaram que de maneira geral, a abundância microbiana fecal foi maior em gatos obesos do que em magros, e a biodiversidade foi minimamente afetada durante a fase inicial de um plano de perda de peso (TAL et al., 2020).

A utilização de prebióticos na alimentação de cães e gatos tem o intuito de modular a microbiota. Esses componentes dietéticos estimulam a fermentação e, causam por consequência, aumento da massa bacteriana. Estima-se que cerca de 30g de bactérias são produzidas para cada 100g de carboidrato fermentado, em humanos (LATULIPPE et al., 2013). Esses oligossacarídeos são fermentados por grupos bacterianos que possuem metabolismo sacarolítico quase que exclusivo, os quais são considerados potencialmente benéficos. Tal perfil metabólico é típico de lactobacilos e bifidobactérias (LATULIPPE et al., 2013). Os produtos de fermentação criam ambiente favorável para proliferação desses grupos bacterianos e, desfavorável para outros com potencial patogênico (LATULIPPE et al., 2013).

Um estudo avaliou os efeitos in vivo dos BG de cereais na microbiota intestinal. Três, seis e sete semanas após a administração de BG, os ratos apresentaram maior quantidade de Bifidobacterium e Lactobacillus. Os resultados também sugerem que altas doses são mais efetivas que baixas doses e que BG derivados da aveia são mais eficazes em comparação com BG da cevada (SHEN et al., 2012). Em outro estudo, ratos receberam duas dietas, uma contendo beta-glucanos derivados da aveia e outra sem BG, os resultados demonstraram que as concentrações de ácidos graxos de cadeia curta foram maiores na dieta contendo aveia quando comparado com o grupo controle, além disso, a adição de BG

aumentou as concentrações de Bifidobacteria (DRZIKOVA; DONGOWSKI; GEBHARDT, 2005). Um ensaio clínico em humanos foi realizado com 52 voluntários saudáveis para examinar os efeitos da baixa dose de BG de cevada, que aumentaram a contagem de Bifidobactérias (JAYACHANDRAN et al., 2018). Estudos in vitro de diferentes fontes de BG revelaram que este nutracêutico pode aumentar o crescimento de cepas bacterianas, como *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* e *Bifidobacterium animalis lactis* (ZHAO; CHEUNG, 2013). Os efeitos do BG sobre a microbiota gatos obesos ainda não foram estudados.

No quadro 2, estão apresentados os artigos publicados até o momento que avaliaram a microbiota de gatos, independente da técnica.

Quadro 2: Artigos publicados na área de nutrição com foco na avaliação da micriobiota intestinal/fecal de gatos

AUTOR/ANO	TÍTULO	OBJETIVOS	PRINCIPAIS RESULTADOS
Lubbs et al. (2009)	Dietary protein concentration affects intestinal microbiota of adult cats a study using DGGE and qPCR to evaluate differences in microbial populations in the feline gastrointestinal tract.	Identificar diferenças quantitativas e qualitativas nas populações microbianas de gatos adultos alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de proteína.	As populações de bifidobactérias foram maiores nas fezes de gatos alimentados com moderada proteína (MP). As populações de Clostridium perfringens foram maiores nas fezes dos gatos alimentados com alta proteína (HP). A HP resultou em mudanças importantes nas populações microbianas. A diminuição da população de Bifidobacterium em gatos alimentados com HP pode apontar a necessidade de suplementação prébiótica em dietas com este perfil.
Barry et al. (2012)	Dietary cellulose, fructooligosaccharides, and pectin modify fecal protein catabolites and microbial populations in adult cats.	Determinar os efeitos do tipo de fibra na digestibilidade de nutrientes, produtos fermentativos e populações microbianas fecais.	O estudo demonstrou aumento de Bifidobacterium fecal e diminuição de Escherichia coli fecal nos animais suplementados com FOS. Observou-se aumento de Clostridium perfringens, E. coli e Lactobacillus spp. nas fezes dos gatos alimentados com pectina.
Handl et al. (2011)	Massive parallel 16S rRNA gene pyrosequencing reveals highly diverse fecal bacterial and fungal communities in healthy dogs and cats.	Caracterizar as comunidades bacterianas e fúngicas presentes em amostras fecais de cães e gatos saudáveis por meio do 16S rRNA.	O filo mais abundante foi Firmicutes, seguido por Bacteroidetes em cães e Actinobacteria em gatos. A classe bacteriana mais prevalente em cães e gatos foi a Clostridia, dominada pelos gêneros Clostridium (clusters XIVa e XI) e Ruminococcus. No nível genero, 113 OTUs foram encontradas em gatos.

Continuação

AUTOR/ANO	TÍTULO	OBJETIVOS	PRINCIPAIS RESULTADOS
Jia et al. (2011)	Investigation of the faecal microbiota of kittens: monitoring bacterial succession and effect of diet.	Monitorar a microbiota fecal de gatos filhotes e determinar o (s) efeito (s) da dieta.	Gatos entre 4 semanas e 9 meses de idade apresentaram diferenças em bactérias totais, bactérias produtoras de ácido láctico, Desulfovibrionales, Clostridium cluster IX e Bacteroidetes. Em geral, a análise de hibridização in situ por fluorescência demonstrou bifidobactérias, Atopobium, Clostridium cluster XIV e bactérias produtoras de ácido láctico foram dominantes nos filhotes.
Jia et al. (2011b)	Investigation of the faecal microbiota of geriatric cats.	Investigar a microbiota fecal de gatos geriatras e como o envelhecimento afeta a digestibilidade dos nutrientes e a função metabólica do intestino.	Coriobacteriaceae, Clostridium cluster XIV, bifidobactérias e bactérias produtoras de ácido láctico foram as bactérias predominantes, representando 40% do total de bactérias. Clostridium cluster IX foi menos predominante, enquanto as populações bacterianas restantes representaram apenas 0 e 2% do total de bactérias.
Deusch et al. (2014)	Deep Illumina-based shotgun sequencing reveals dietary effects on the structure and function of the fecal microbiome of growing kittens.	Identificar o potencial funcional associado à dieta e analisar alterações do microbioma fecal felino.	Dois filós, dez famílias e quinze gêneros foram responsáveis por mais de 80% das sequências em cada nível taxonômico, em ambos os grupos. Foram observadas alterações induzidas pela dieta na estrutura taxonômica microbiana.

Continuação

AUTOR/ANO	TÍTULO	OBJETIVOS	PRINCIPAIS RESULTADOS
Kerr et al. (2014)	Faecal microbiota of domestic cats fed raw whole chicks v. an extruded chicken-based diet.	Comparar a microbiota fecal de gatos alimentados com dieta comercial extrusada a base de frango e frangos crus vendidos comercialmente.	As fezes de gatos alimentados com frango cru (CHI) apresentaram maiores proporções de Lachnospiraceae, Peptococcus e Pseudobutyrvibrio. Já, gatos alimentados com alimento extrusado (EXT) apresentaram maiores proporções de Faecalibacterium e Succinivibrio. Cinco gêneros, incluindo Lactobacillus e Bifidobacterium, estavam presentes na maioria das amostras de fezes dos gatos alimentados com EXT, mas não foram detectados nas amostras fecais dos gatos alimentados com CHI.
Deusch et al. (2015)	A Longitudinal Study of the Feline Faecal Microbiome Identifies Changes into Early Adulthood Irrespective of Sexual Development.	Investigar os potenciais efeitos da esterilização, castração, idade e gênero no microbioma fecal de gatos durante o crescimento.	Nenhum efeito significativo foi detectado para sexo, castração ou idade (19 ou 31 semanas). Às 18 semanas de idade, o microbioma apresentou predomínio dos gêneros Lactobacillus e Bifidobacterium. Com 42 semanas de idade, os gêneros mais abundantes foram Bacteroides, Prevotella e Megasphaera.
Kieler et al. (2016)	Overweight and the feline gut microbiome: a pilot study.	Comparar a microbiota fecal de gatos magros, com o excesso de peso e obesidade.	Gatos com excesso de peso e obesos apresentaram microbiota fecal diferente em comparação com gatos magros, mas esse achado pode não estar relacionado a diferenças em grupos bacterianos específicos.

Continuação

AUTOR/ANO	TÍTULO	OBJETIVOS	PRINCIPAIS RESULTADOS
Fischer et al. (2017)	Effects of obesity energy restriction and neutering on the faecal microbiota of cats.	Determinar se as alterações na microbiota fecal estão associadas à obesidade, restrição de energia ou castração, através da caracterização da microbiota fecal usando sequenciamento do gene 16S rRNA.	Gatos castrados apresentaram perfil bacteriano semelhante ao dos roedores e humanos obesos, com maior abundância de Firmicutes e menor abundância de Bacteroidetes em comparação com os outros grupos. A redução de energia foi concomitante com mudanças significativas em dois gêneros bacterianos de baixa abundância e tendências em quatro gêneros adicionais. A maior alteração encontrada foi a redução nos gêneros Firmicutes e Sarcina.
PaBlack et al. (2017)	Impact of hyperlipidaemia on intermediary metabolism, faecal microbial metabolites and urinary characteristics of lipoprotein lipase deficient vs normal cats.	Investigar as potenciais interações em gatos hiperlipidêmicos na microbiota fecal.	A hiperlipidemia não foi associada a alterações acentuadas na microbiota fecal.
Pallotto et al. (2018)	Effects of weight loss with a moderate-protein, high-fiber diet on body composition, voluntary physical activity, and fecal microbiota of obese cats	determinar os efeitos da restrição energética, dieta rica em fibra e moderada proteína na perda de peso, atividade física, composição corporal e microbiota fecal de gatos com excesso de peso.	A abundância relativa de Actinobacteria aumentou e Bacteroidetes diminuiu com a perda de peso.

Continuação

AUTOR/ANO	TÍTULO	OBJETIVOS	PRINCIPAIS RESULTADOS
Kieler et al. (2019)	Diabetic cats have decreased gut microbial diversity and a lack of butyrate producing bacteria	comparar a microbiota de gatos diabéticos com a de gatos magros e de gatos não diabéticos obesos/sobrepeso de idades semelhantes.	A microbiota intestinal de gatos diabéticos foi caracterizada pela diminuição da diversidade microbiana e perda de gêneros bacterianos produtores de butirato.
Butowski et al. (2019)	Addition of plant dietary fibre to a raw red meat high protein, high fat diet, alters the faecal bacteriome and organic acid profiles of the domestic cat (<i>Felis catus</i>)	determinar os efeitos da adição de fibra dietética à base de plantas a uma dieta rica em proteínas de fontes animais.	Trinta e um táxons bacterianos foram significativamente afetados pela dieta. <i>Prevotella</i> foi encontrado em maior quantidade na dieta seca, <i>Clostridium</i> e <i>Fusobacterium</i> na dieta crua, e <i>Prevotella</i> e um grupo de <i>Peptostreptococcaceae</i> não classificado na dieta crua com fibra.
Tal et al. (2020)	Bacterial fecal microbiota is only minimally affected by a standardized weight loss plan in obese cats	avaliar as diferenças na microbiota fecal, bem como as concentrações séricas de cobalamina e folato em gatos obesos, antes e depois da perda de peso, e comparar com gatos magros.	Não foram observadas diferenças significativas na abundância relativa de taxa e nos índices de biodiversidade entre os gatos em ambos os grupos, porém foi observada diferença no enriquecimento do filo Firmicutes entre os animais do grupo obeso e emagrecido.

Continuação

AUTOR/ANO	TÍTULO	OBJETIVOS	PRINCIPAIS RESULTADOS
Li & Pan (2020)	Differential Responses to Dietary Protein and Carbohydrate Ratio on Gut Microbiome in Obese vs Lean Cats	entender como o microbioma intestinal muda em resposta a uma dieta rica em proteína com baixo carboidrato (HPLC) versus uma dieta de controle (COM) em gatos adultos.	Gatos obesos apresentaram efeito de dieta: filo, Fusobacteria tornou-se mais abundante em gatos alimentados com HPLC do que em gatos alimentados com CON. Faecalibacterium e Fusobacterium foram mais abundantes em gatos alimentados com HPLC, enquanto as abundâncias de Megasphaera, Bifidobacterium e Veillonella aumentaram em animais alimentados com CON.
Lyu et al. (2020)	Dose-Dependent Effects of Dietary Xylooligosaccharides Supplementation on Microbiota, Fermentation and Metabolism in Healthy Adult Cats	Investigar o efeito e a dose adequada de prebióticos, este estudo avaliou o efeito de dois níveis de xilooligosacarídeos (XOS) em gatos	A dose mais alta de XOS aumentou as populações bacterianas que promovem a fermentação intestinal.
Hall et al. (2020)	Chronic kidney disease in cats alters response of the plasma metabolome and fecal microbiome to dietary fiber	determinar os efeitos da alimentação de diferentes tipos de fibras para gatos saudáveis e gatos com DRC nos metabólitos plasmáticos e no microbioma fecal.	Houve diferença em 5 OTUs em gatos com DRC em comparação com gatos saudáveis. No geral, as OTUs em gatos com DRC foram mais resistentes à mudança após a alimentação de qualquer fonte de fibra.

Continuação

AUTOR/ANO	TÍTULO	OBJETIVOS	PRINCIPAIS RESULTADOS
Ephraim & Jewell (2021)	Effect of Nutrition on Age-Related Metabolic Markers and the Gut Microbiota in Cats	Avaliar o efeito de alimento para gatos sênior resulta em mudanças favoráveis nos metabólitos plasmáticos e fecais e na microbiota fecal em gatos idosos.	As OTUs de maior abundância com o alimento sênior correlacionaram-se positivamente com metabólitos de carboidratos e ácidos nicotínicos, e negativamente correlacionadas com toxinas urêmicas, metabolismo de aminoácidos, sais biliares secundários e ácidos graxos de cadeia ramificada.
Badri et al. (2021)	Dietary Protein and Carbohydrate Levels Affect the Gut Microbiota and Clinical Assessment in Healthy Adult Cats	O impacto de 3 alimentos com diferentes proporções de proteína e carboidrato na microbiota intestinal e atributos funcionais em gatos adultos saudáveis foi avaliado.	Foi observada separação das amostras entre PB (28%) e PB (55%) com base nos gêneros bacterianos, com partição em funções sacarolítica e proteolítica, respectivamente.
Reilly et al. (2021)	Effects of graded inclusion levels of raw garbanzo beans on apparent total tract digestibility, fecal quality, and fecal fermentative end-products and microbiota in extruded feline diets	determinar os efeitos da inclusão de grão de bico (GB) cru ou cozido em dietas extrusadas de felinos na digestibilidade de macronutrientes, tolerância gastrointestinal e produtos fermentativos em gatos.	Os gatos alimentados com a dieta 0% GB apresentaram maior abundância relativa de Firmicutes (62,1%) e Fusobacteria (4,0%) do que as demais dietas (média de 54% e 1,6%, respectivamente).

Continuação

AUTOR/ANO	TÍTULO	OBJETIVOS	PRINCIPAIS RESULTADOS
Oba et al. (2021)	Effect of a novel animal milk oligosaccharide biosimilar on macronutrient digestibility and gastrointestinal tolerance, fecal metabolites, and fecal microbiota of healthy adult cats	avaliar a palatabilidade, segurança, microbiota fecal e tolerância gastrointestinal do GNU100 (galactooligosacarídeo) em gatos adultos saudáveis	A abundância relativa de Peptococcus foi impactada pela dieta e pelo tempo. Às 4 semanas, Campylobacter foi menor em amostras fecais de gatos alimentados com GNU100.
Paßlack et al. (2022)	Effects of the Protein Concentration and Quality in a Canned Diet on the Fecal Microbiota of Healthy Adult Cats	investigar os efeitos do aumento das concentrações de proteínas em uma dieta enlatada na microbiota fecal de gatos	O aumento das concentrações de proteína na dieta aumentou a abundância relativa de Fusobacterium e Bacteroides. A menor qualidade da proteína dietética foi acompanhada por um maior índice de uniformidade e uma maior abundância relativa de Fusobacteria e Bacteroidetes.
Reilly et al. (2022)	Chemical composition of selected insect meals and their effect on apparent total tract digestibility, fecal metabolites, and microbiota of adult cats fed insect-based retorted diets	determinar os efeitos de dietas contendo insetos na ingestão de alimentos, digestibilidade total aparente do trato (ATTD) de macronutrientes, escores fecais, microbiota e metabólitos de gatos adultos.	Apenas alguns gêneros dos filos Firmicutes e Bacteroidota diferiram ($P < 0,05$) em gatos alimentados com dieta contendo insetos em contraste com outros tratamentos dietéticos.

2.5 REFERÊNCIAS

- ALLAWAY, D. et al. Metabolomic profiling to identify effects of dietary calcium reveal the influence of the individual and postprandial dynamics on the canine plasma metabolome. **Journal of Nutritional Science**, v. 8, p. e13, 2019.
- ANDERSSON, M.; ELLEGÅRD, L.; ANDERSSON, H. Oat bran stimulates bile acid synthesis within 8 h as measured by 7 α -hydroxy-4-cholesten-3-one. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 76, p. 1111–1116, 2002.
- ANDRADE, E. F. et al. Exercise and beta-glucan consumption (*Saccharomyces cerevisiae*) improve the metabolic profile and reduce the atherogenic index in type 2 diabetic rats (HFD/STZ). **Nutrients**, v. 8, n. 12, p. 792, 2016.
- APPER, E. et al. Relationships between gut microbiota, metabolome, body weight, and glucose homeostasis of obese dogs fed with diets differing in prebiotic and protein content. **Microorganisms**, v. 8, p. 513, 2020.
- APPLETON, D. J. et al. Determination of reference values for glucose tolerance, insulin tolerance, and insulin sensitivity tests in clinically normal cats. **American Journal of Veterinary Research**, v. 62, n. 4, p. 630–636, dez. 2001.
- BÄCKHED, F. et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, n. 44, p. 15718–15723, 2004.
- BÄCKHED, F. et al. Defining a healthy human gut microbiome: Current concepts, future directions, and clinical applications. **Cell Host and Microbe**, v. 12, p. 611–622, 2012.
- BADRI, D. V.; JACKSON, M. I.; JEWELL, D. E. Dietary Protein and Carbohydrate Levels Affect the Gut Microbiota and Clinical Assessment in Healthy Adult Cats. **Journal of Nutrition**, v. 151, p. 3637–3650, 2021.
- BARRY, K. A. et al. Effects of dietary fiber on the feline gastrointestinal metagenome. **Journal of Proteome Research**, v. 11, p. 5924–5933, 2012.
- BASTARD, J. P. et al. Adipose tissue IL-6 content correlates with resistance to insulin activation of glucose uptake both in vivo and in vitro. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 87, n. 5, p. 2084–2089, 2002.
- BLAKE, A. B.; SUCHODOLSKI, J. S. Importance of gut microbiota for the health and disease of dogs and cats. **Animal Frontiers**, v. 6, n. 3, p. 37–42, 2016.

BRENNAN, A. M.; MANTZOROS, C. S. Leptin and adiponectin: Their role in diabetes. **Current Diabetes Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–2, 2007.

BRENNAN, C. L.; HOENIG, M.; FERGUSON, D. C. GLUT4 but not GLUT1 expression decreases early in the development of feline obesity. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 26, n. 4, p. 291–301, 2004.

BROCKMAN, D. A.; CHEN, X.; GALLAHER, D. D. Consumption of a high b-glucan barley flour improves glucose control and fatty liver and increases muscle acylcarnitines in the Zucker diabetic fatty rat. **European Journal of Nutrition**, v. 52, p. 1743–1753, 2013.

BRUNETTO, M. A. et al. Healthy and chronic kidney disease (CKD) dogs have differences in serum metabolomics and renal diet may have slowed disease progression. **Metabolites**, v. 11, n. 11, p. 782, 2021.

BURKHOLDER, W. J. Use of body condition scores in clinical assessment of the provision of optimal nutrition. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 217, n. 5, p. 650–654, 2000.

BUTOWSKI, C. F. et al. Addition of plant dietary fibre to a raw red meat high protein, high fat diet, alters the faecal bacteriome and organic acid profiles of the domestic cat (*Felis catus*). **PLoS ONE**, v. 14, n. 5, p. e0216072, 2019.

CANI, P. D. et al. Changes in gut microbiota control metabolic diet-induced obesity and diabetes in mice. **Diabetes**, v. 57, p. 1470–81, 2008.

CANUTO, G. A. B. et al. Metabolômica: definições, estado-da-arte e aplicações representativas. **Química Nova**, v. 41, n. 1, p. 75–91, 2018.

COURCIER, E. A. et al. An epidemiological study of environmental factors associated with canine obesity. **Journal of Small Animal Practice**, v. 51, p. 362–367, 2010.

DE OLIVEIRA SILVA, V. et al. β -Glucans (*Saccharomyces cerevisiae*) reduce glucose levels and attenuate alveolar bone loss in diabetic rats with periodontal disease. **PLoS ONE**, v. 10, n. 8, p. e0134742, 2015.

DENG, P.; SWANSON, K. S. Future aspects and perceptions of companion animal nutrition and sustainability. **Journal of Animal Science**, v. 93, p. 823–834, 2015.

DEUSCH, O. et al. Deep illumina-based shotgun sequencing reveals dietary effects on the structure and function of the fecal microbiome of growing kittens. **PLoS ONE**, v. 9, n. 7, p. e101021, 2014.

DEUSCH, O. et al. A longitudinal study of the feline faecal microbiome identifies

changes into early adulthood irrespective of sexual development. **PLoS ONE**, v. 10, n. 12, p. e0144881, 2015.

DRZIKOVA, B.; DONGOWSKI, G.; GEBHARDT, E. Dietary fibre-rich oat-based products affect serum lipids, microbiota, formation of short-chain fatty acids and steroids in rats. **British Journal of Nutrition**, v. 94, p. 1012–1025, 2005.

DUCA, F. A. et al. Replication of obesity and associated signaling pathways through transfer of microbiota from obese-prone rats. **Diabetes**, v. 63, p. 1624–1636, 2014.

EPHRAIM, E.; COCHRANE, C. Y.; JEWELL, D. E. Varying protein levels influence metabolomics and the gut microbiome in healthy adult dogs. **Toxins**, v. 12, p. 517, 2020.

EPHRAIM, E.; JEWELL, D. E. Effect of nutrition on age-related metabolic markers and the gut microbiota in cats. **Microorganisms**, v. 9, p. 2430, 2021.

FANTUZZI, G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 115, n. 5, p. 911–919, 2005.

FERREIRA, C. S. **Suplementação de Betaglucano e variáveis metabólicas de cães obesos com resistência insulínica**. 2016. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2016.

FIEHN, O. Metabolomics--the link between genotypes and phenotypes. **Plant Biology Journal**, v. 48, p. 155–171, 2002.

FISCHER, M. M. et al. Effects of obesity, energy restriction and neutering on the faecal microbiota of cats. **British Journal of Nutrition**, v. 118, p. 513–524, 2017.

FORSTER, G. M. et al. A Comparative Study of Serum Biochemistry, Metabolome and Microbiome Parameters of Clinically Healthy, Normal Weight, Overweight, and Obese Companion Dogs. **Topics in Companion Animal Medicine**, v. 33, p. 126–135, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1053/j.tcam.2018.08.003>>.

FRUEBIS, J. et al. Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 98, n. 4, p. 2005–2010, 2001.

GÉRARD, P. Gut microbiota and obesity. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 73, p. 147–162, 2016.

GERMAN, A. J.; MARTIN, L. Feline obesity: epidemiology, pathophysiology and management. In: PIBOT, P.; BOURGE, V.; ELLIOTT, D. A. (Ed.). **Encyclopedia of**

- feline clinical nutrition**. Aimargues, Fraça: Royal Canin, 2008. p. 3–49.
- GIBBONS, H.; O’GORMAN, A.; BRENNAN, L. Metabolomics as a tool in nutritional research. **Current Opinion in Lipidology**, v. 26, n. 1, p. 30–34, 2015.
- GUILLON, F.; CHAMP, M. Structural and physical properties of dietary fibres, and consequences of processing on human physiology. **Food Research International**, v. 33, p. 233–245, 2000.
- HALL, J. A. et al. Comparison of circulating metabolite concentrations in dogs and cats when allowed to freely choose macronutrient intake. **Biology Open**, v. 7, p. bio036228, 2018a.
- HALL, J. A. et al. When fed foods with similar palatability, healthy adult dogs and cats choose different macronutrient compositions. **Journal of Experimental Biology**, v. 221, p. jeb173450, 2018b.
- 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, n. 7, p. e0235480, 2020. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0235480>>.
- HALL, J. A.; JEWELL, D. E.; EPHRAIM, E. Changes in the fecal metabolome are associated with feeding fiber not health status in cats with chronic kidney disease. **Metabolites**, v. 10, n. 7, p. 281, 2020.
- HANDL, S. et al. Massive parallel 16S rRNA gene pyrosequencing reveals highly diverse fecal bacterial and fungal communities in healthy dogs and cats. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 76, p. 301–310, 2011.
- HANDL, S. et al. Faecal microbiota in lean and obese dogs. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 84, p. 332–343, 2013.
- HÄRLE, P.; STRAUB, R. H. Leptin is a link between adipose tissue and inflammation. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1069, p. 454–462, 2006.
- HEIJTZ, R. D. Fetal, neonatal, and infant microbiome: Perturbations and subsequent effects on brain development and behavior. **Seminars in Fetal and Neonatal Medicine**, v. 21, p. 410–417, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.siny.2016.04.012>>.
- HENSON, M. S. et al. Evaluation of plasma islet amyloid polypeptide and serum glucose and insulin concentrations in nondiabetic cats classified by body condition score and in cats with naturally occurring diabetes mellitus. **American Journal of Veterinary Research**, v. 72, p. 1052–1058, 2011.

HOENIG, M. et al. Insulin sensitivity, fat distribution, and adipocytokine response to different diets in lean and obese cats before and after weight loss. **American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, v. 292, p. R227–R234, 2007.

HOENIG, M. et al. Effect of macronutrients, age, and obesity on 6-and 24-h postprandial glucose metabolism in cats. **American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, v. 301, p. R1798–R1807, 2011.

HOENIG, M. et al. Cats differ from other species in their cytokine and antioxidant enzyme response when developing obesity. **Obesity**, v. 21, p. E407–E414, 2013.

HOOPER, L. V.; GORDON, J. I. Commensal host-bacterial relationships in the gut. **Science**, v. 292, p. 1115–1118, 2001.

JACKSON, M. I.; JEWELL, D. E. Docosahexaenoate-enriched fish oil and medium chain triglycerides shape the feline plasma lipidome and synergistically decrease circulating gut microbiome-derived putrefactive postbiotics. **PLoS ONE**, v. 15, n. 3, p. e0229868, 2020. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0229868>>.

JAYACHANDRAN, M. et al. A critical review on the impacts of β -glucans on gut microbiota and human health. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 61, p. 101–110, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2018.06.010>>.

JENKINS, A. L. et al. Depression of the glycemic index by high levels of β -glucan fiber in two functional foods tested in type 2 diabetes. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 56, p. 622–628, 2002.

JEWELL, D. E.; JACKSON, M. I. Dietary fatty acids change circulating fatty acids, microbial putrefactive postbiotics and betaine status in the cat. **Animals**, v. 10, n. 12, p. 2310, 2020.

JIA, J. et al. Investigation of the faecal microbiota of kittens: Monitoring bacterial succession and effect of diet. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 78, p. 395–404, 2011a.

JIA, J. et al. Investigation of the faecal microbiota of geriatric cats. **Letters in Applied Microbiology**, v. 53, p. 288–293, 2011b.

JORDAN, E. et al. Dyslipidemia in obese cats. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 35, p. 290–299, 2008.

KERCKHOFFS, D. A. J. M. et al. Effects on the human serum lipoprotein profile of β -glucan, soy protein and isoflavones, plant sterols and stanols, garlic and tocotrienols.

Journal of Nutrition, v. 132, p. 2494–2505, 2002.

KERR, K. R.; DOWD, S. E.; SWANSON, K. S. Faecal microbiota of domestic cats fed raw whole chicks v. an extruded chicken-based diet. **Journal of Nutritional Science**, v. 3, p. e22, 2014.

KIELER, I. N. et al. Overweight and the feline gut microbiome - a pilot study. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 100, p. 478–484, 2016.

KIELER, I. N. et al. Diabetic cats have decreased gut microbial diversity and a lack of butyrate producing bacteria. **Scientific Reports**, v. 9, p. 4822, 2019.

KIENZLE, E.; BERGLER, R. Human-Animal Relationship of Owners of Normal and Overweight Cats. **Journal of Nutrition**, v. 136, p. 1947S–1950S, 2006.

KOLTERMAN, O. G. et al. Receptor and postreceptor defects contribute to the insulin resistance in noninsulin-dependent diabetes mellitus. **Journal of Clinical Investigation**, v. 68, p. 957–969, 1981.

LARSEN, J. A.; VILLAVERDE, C. Scope of the Problem and Perception by Owners and Veterinarians. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 46, n. 5, p. 761–772, 2016.

LATULIPPE, M. E. et al. A narrative review of the scientific evidence in the area of carbohydrates, microbiome, and health. **Food and Nutrition Research**, v. 57, p. 19214, 2013.

LE ROY, T. et al. Intestinal microbiota determines development of non-alcoholic fatty liver disease in mice. **Gut**, v. 62, p. 1787–1794, 2013.

LEE, W. J.; HASE, K. Gut microbiota-generated metabolites in animal health and disease. **Nature Chemical Biology**, v. 10, p. 416–424, 2014.

LEY, R. E. et al. Obesity alters gut microbial ecology. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 102, n. 31, p. 11070–11075, 2005.

LEY, R. E. et al. Human gut microbes associated with obesity. **Nature**, v. 444, p. 1022–1023, 2006.

LI, Q.; PAN, Y. Differential Responses to Dietary Protein and Carbohydrate Ratio on Gut Microbiome in Obese vs. Lean Cats. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 591462, 2020.

LIA, Å. et al. Postprandial lipemia in relation to sterol and fat excretion in ileostomy subjects given oat-bran and wheat test meals. **American Journal of Clinical**

Nutrition, v. 66, p. 357–365, 1997.

LIATIS, S. et al. The consumption of bread enriched with betaglucan reduces LDL-cholesterol and improves insulin resistance in patients with type 2 diabetes. **Diabetes and Metabolism**, v. 35, p. 115–120, 2009.

LORD, G. M. et al. Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. **Nature**, v. 394, p. 897–901, 1998.

LUBBS, D. C. et al. Dietary protein concentration affects intestinal microbiota of adult cats: A study using DGGE and qPCR to evaluate differences in microbial populations in the feline gastrointestinal tract. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 93, p. 113–121, 2009.

LUND, E. M. et al. Prevalence and risk factors for obesity in adult cats from private US veterinary practices. **Journal of Applied Research in Veterinary Medicine**, v. 3, n. 2, p. 88–96, 2005.

LYU, Y. et al. Dose-Dependent Effects of Dietary Xylooligosaccharides Supplementation on Microbiota, Fermentation and Metabolism in Healthy Adult Cats. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 25, n. 21, p. 5030, 2020.

LYU, Y. et al. Differences in Metabolic Profiles of Healthy Dogs Fed a High-Fat vs. a High-Starch Diet. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 9, p. 801863, 2022.

MACEDO, H. T. et al. Weight-loss in obese dogs promotes important shifts in fecal microbiota profile to the extent of resembling microbiota of lean dogs. **Animal Microbiome**, v. 4, p. 6, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s42523-021-00160-x>>.

MAI, V.; DRAGANOV, P. V. Recent advances and remaining gaps in our knowledge of associations between gut microbiota and human health. **World Journal of Gastroenterology**, v. 15, n. 1, p. 81–85, 2009.

MARCELL, T. J. et al. Exercise training is not associated with improved levels of C-reactive protein or adiponectin. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 54, p. 533–541, 2005.

MARKS, S. L.; ROGERS, Q. R.; STOMBECK, D. R. Nutritional support in hepatic disease. II. Dietary management of common liver disorders in dogs and cats. **The Compendium on continuing education for the practicing veterinarian (USA)**, v. 16, n. 8, p. 971–979, 1994.

MCCRORY, M. A. et al. Dietary Determinants of Energy Intake and Weight Regulation

- in Healthy Adults. **The Journal of Nutrition**, v. 130, p. 276S-279S, 2000.
- MENDES-JUNIOR, A. F. et al. Prevalência e fatores de risco da obesidade felina em Alegre-ES, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 4, p. 1801–1805, 2013.
- NRC. **NRC - National Research Council. Nutrient Requirements of Dogs and Cats**. Washington, DC: National Academies Press, 2006.
- OBA, P. M. et al. Effect of a novel animal milk oligosaccharide biosimilar on macronutrient digestibility and gastrointestinal tolerance, fecal metabolites, and fecal microbiota of healthy adult cats. **Journal of animal science**, v. 99, n. 1, p. skaa399, 2021.
- OUWEHAND, A. C. et al. Prebiotics and other microbial substrates for gut functionality. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 16, p. 212–217, 2005.
- PABLACK, N. et al. Impact of hyperlipidaemia on intermediary metabolism, faecal microbial metabolites and urinary characteristics of lipoprotein lipase deficient vs. normal cats. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 102, p. e139–e146, 2017.
- PABLACK, N. et al. Effects of the Protein Concentration and Quality in a Canned Diet on the Fecal Microbiota of Healthy Adult Cats. **Metabolites**, v. 12, n. 2, p. 105, 2022.
- PALLOTTO, M. R. et al. Effects of weight loss with a moderate-protein, high-fiber diet on body composition, voluntary physical activity, and fecal microbiota of obese cats. **American Journal of Veterinary Research**, v. 79, p. 181–190, 2018.
- 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.
- PANCIERA, D. L. et al. Epizootiologic patterns of diabetes mellitus in cats: 333 cases (1980-1986). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 197, n. 11, p. 1504–1508, 1990.
- PASŁAWSKI, R. et al. Effect of 6-month feeding with a diet enriched in epa + dha from fish meat on the blood metabolomic profile of dogs with myxomatous mitral valve disease. **Animals**, v. 11, n. 12, p. 3360, 2021.
- PORTE, D. β -cells in type II diabetes mellitus. **Diabetes**, v. 40, p. 166–180, 1991.
- PUURUNEN, J. et al. Non-targeted metabolite profiling reveals changes in oxidative stress, tryptophan and lipid metabolisms in fearful dogs. **Behavioral and Brain Functions**, v. 12, p. 7, 2016.

RAMI, B.; ZIDEK, T.; SCHOBBER, E. Influence of a β -glucan-enriched bedtime snack on nocturnal blood glucose levels in diabetic children. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 32, p. 34–36, 2001.

REILLY, L. M. et al. Effects of graded inclusion levels of raw garbanzo beans on apparent total tract digestibility, fecal quality, and fecal fermentative end-products and microbiota in extruded feline diets. **Journal of Animal Science**, v. 99, n. 12, p. skab297, 2021.

REILLY, L. M. et al. Chemical composition of selected insect meals and their effect on apparent total tract digestibility, fecal metabolites, and microbiota of adult cats fed insect-based retorted diets. **Journal of Animal Science**, v. 100, n. 2, p. skac024, 2022.

ROBERFROID, M. et al. Prebiotic effects: metabolic and health benefits. **British Journal of Nutrition**, v. 104, n. S2, p. S1–S63, 2010.

ROSSETTI, L.; GIACCARI, A.; DEFRONZO, R. A. Glucose toxicity. **Diabetes**, v. 13, p. 610–630, 1990.

RUSSELL, K. et al. Influence of feeding regimen on body condition in the cat. **Journal of Small Animal Practice**, v. 41, p. 12–17, 2000.

SCARLETT, J. M.; DONOGHUE, S. Associations between body condition and disease in cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 212, n. 11, p. 1725–1731, 1998.

SCHMIDT, M. et al. The fecal microbiome and metabolome differs between dogs fed Bones and Raw Food (BARF) diets and dogs fed commercial diets. **PLoS ONE**, v. 13, n. 8, p. e0201279, 2018.

SHEN, R. L. et al. Effects of oat β -glucan and barley β -glucan on fecal characteristics, intestinal microflora, and intestinal bacterial metabolites in rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 11301–11308, 2012.

SHOELSON, S. E.; LEE, J.; GOLDFINE, A. B. Inflammation and insulin resistance. **Journal of Clinical Investigation**, v. 116, p. 1793–1801, 2006.

SILHA, J. V. et al. Plasma resistin, adiponectin and leptin levels in lean and obese subjects: Correlations with insulin resistance. **European Journal of Endocrinology**, v. 149, p. 331–335, 2003.

SODER, J. et al. The urine metabolome differs between lean and overweight Labrador Retriever dogs during a feed-challenge. **PLoS ONE**, v. 12, n. 6, p. e0180086, 2017.

SÖDER, J. et al. Plasma metabolomics reveals lower carnitine concentrations in overweight Labrador Retriever dogs. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 61, p. 10, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s13028-019-0446-4>>.

TAL, M. et al. Bacterial fecal microbiota is only minimally affected by a standardized weight loss plan in obese cats. **BMC Veterinary Research**, v. 16, p. 112, 2020.

TAPOLA, N. et al. Glycemic responses of oat bran products in type 2 diabetic patients. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 15, p. 255–261, 2005.

TAPPENDEN, K. A. Intestinal adaptation following resection. **Journal of parenteral and enteral nutrition**, v. 38, n. 1, p. 23S-31S, 2014.

TURNBAUGH, P. J. et al. Diet-Induced Obesity Is Linked to Marked but Reversible Alterations in the Mouse Distal Gut Microbiome. **Cell Host and Microbe**, v. 3, p. 213–223, 2008.

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**, v. 17, n. 3, p. 27, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11306-020-01753-4>>.

VERKEST, K. R. Is the metabolic syndrome a useful clinical concept in dogs? A review of the evidence. **Veterinary Journal**, v. 199, p. 24–30, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.09.057>>.

VETVICKA, V.; OLIVEIRA, C. $\beta(1-3)(1-6)$ -D-glucans Modulate Immune Status and Blood Glucose Levels in Dogs. **British Journal of Pharmaceutical Research**, v. 4, n. 8, p. 981–991, 2014.

VOLMAN, J. J.; RAMAKERS, J. D.; PLAT, J. Dietary modulation of immune function by β -glucans. **Physiology and Behavior**, v. 94, p. 276–284, 2008.

WILLEBERG, P.; PRIESTER, W. A. Feline urological syndrome: associations with some time, space, and individual patient factors. **American Journal of Veterinary Research**, v. 37, n. 8, p. 975–978, 1976.

YANO, B. L.; HAYDEN, D. W.; JOHNSON, K. H. Feline insular amyloid: Association with diabetes mellitus. **Veterinary Pathology**, v. 18, p. 621–627, 1981.

YOUNG, W. et al. Pre- and post-weaning diet alters the faecal metagenome in the cat with differences vitamin and carbohydrate metabolism gene abundances. **Scientific Reports**, v. 6, p. 34668, 2016.

ZHAO, J.; CHEUNG, P. C. K. Comparative proteome analysis of bifidobacterium

longum subsp. infantis grown on β -Glucans from different sources and a model for their utilization. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 4360–4370, 2013.

CAPÍTULO 3

Caracterização do metaboloma de gatos obesos e em escore de condição corporal ideal antes e após suplementação com beta-glucanos

3. CARACTERIZAÇÃO DO METABOLOMA DE GATOS OBESOS E EM ESCORE DE CONDIÇÃO CORPORAL IDEAL ANTES E APÓS SUPLEMENTAÇÃO COM BETA-GLUCANOS

3.1 RESUMO

O acúmulo excessivo de gordura corporal pode resultar em comorbidades como resistência insulínica e diabetes em gatos. O status inflamatório ocasionado pela produção de adipocinas parece ter influência direta na origem destas alterações. Além disso, gatos obesos podem apresentar também dislipidemia, caracterizada por alterações no perfil de lipoproteínas e aumento de triglicerídeos e colesterol na circulação. Com o propósito de amenizar os efeitos negativos associados à obesidade, aditivos e nutracêuticos vêm sendo estudados no âmbito da nutrição animal. Dentre eles, destacam-se os beta-glucanos (BG), que podem alterar o metabolismo da glicose e lipídeos, além de proporcionarem possível efeito no aumento de saciedade nos animais. O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos da inclusão de 0,06% de BG na dieta de gatos obesos em variáveis de metabolismo. Foram selecionados 20 gatos, machos e fêmeas, SRD, com idades entre 1 e 7 anos, na rotina de uma clínica veterinária particular. Os animais foram divididos em dois grupos: Grupo obeso [(OB), escore de condição corporal (ECC) 8 e 9/9, gordura corporal média de $28,8 \pm 7,9\%$; determinada pelo método de diluição de isótopos de deutério] e grupo controle [(CO) ECC 5/9 e gordura corporal média de $17,4 \pm 6,6\%$]. Todos os animais foram alimentados por 21 dias (T0) com um alimento controle (AC - 0,0% de BG) e depois por 90 dias (T90) com um alimento teste (AT - mesma composição do AC, porém com adição de 0,06% de BG). Amostras de sangue foram coletadas em T0 e T90 para avaliação do perfil metabolômico (cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas). A comparação entre os grupos e o efeito da dieta foi realizado pelo teste ANOVA com medidas repetidas no tempo. Foi observado efeito de grupo (OB x GC) nos metabólitos: valina, isoleucina, fenilalanina, tirosina, ácido esteárico, ácido linoleico, ácido araquidônico e alfa-tocoferol. Também foi observado efeito de tratamento (0,0 x 0,6% de BG) em: ureia, ácido piroglutâmico, arginina, triptamina e trealose. Os resultados apontaram que a inclusão de 0,06% de BG influenciou no perfil de metabólitos dos animais avaliados. Além disso, os metabólitos encontrados nesse estudo destacam a influência de biomarcadores

presentes na obesidade na evolução de outras comorbidades como resistência insulínica, diabetes e alterações do perfil lipídico.

Palavras-chave: Biomarcadores. Felinos. Macrogard. Metabolômica. Obesidade.

3.2 INTRODUÇÃO

A obesidade é definida pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como sendo o acúmulo anormal ou excessivo de gordura que pode prejudicar o bem-estar e a vida saudável. Em animais de companhia, esta condição é considerada presente quando o animal está 20% ou mais acima do seu peso corporal ideal (BURKHOLDER; TOLL, 2000). Esse acúmulo excessivo de gordura corporal pode resultar em comorbidades como resistência insulínica (RI) e diabetes em gatos (HOENIG et al., 2007). O status inflamatório ocasionado pela produção de adipocinas parece ter influência direta na origem destas alterações (VAN DE VELDE et al., 2013). Além disso, gatos obesos podem apresentar também dislipidemia, caracterizada por alterações no perfil de lipoproteínas e aumento de triglicerídeos e colesterol na circulação (HOENIG et al., 2013).

Na literatura médica humana existem diversos estudos que apontaram a eficácia do uso de BG no controle glicêmico e da hiperlipidemia de pacientes com RI e diabetes (RAMI; ZIDEK; SCHOBBER, 2001; JENKINS et al., 2002; TAPOLA et al., 2005). Em um estudo que avaliou esta concentração, concluiu-se que esta dose pode ser usada como terapêutica para a redução de colesterol, principalmente de pacientes com diabetes mellitus do tipo II, uma vez que estes são mais propensos a desenvolverem doenças cardiovasculares (LIATIS et al., 2009). Acredita-se que o efeito de redução de colesterol dos BG seja causado pela sua ligação com ácidos biliares no lúmen intestinal, o que levaria a redução na circulação enterohepática de ácidos biliares e consequente aumento do uso de colesterol para a produção de ácidos biliares (LIA et al., 1997; ANDERSSON; ELLEGÅRD; ANDERSSON, 2002). Outra teoria para este efeito hipolipemiante relaciona-se com o aumento da viscosidade do conteúdo intestinal ocasionada pelo nutracêutico, o que implicaria em uma barreira física para a absorção dos ácidos biliares (KERCKHOFFS et al., 2002).

Em cães, há um trabalho não publicado que avaliou os efeitos da administração de 15mg/kg de BG por via oral, no perfil glicêmico desses animais com hiperglicemia (induzida pela administração de estreptozomicina), que resultou em diminuição da glicemia (Biorigin, não publicado). Além disso, um recente trabalho realizado por nosso grupo de pesquisa encontrou efeitos benéficos na

redução da concentração sérica de glicose, insulina, colesterol e triglicérides de cães obesos ao receberem dieta enriquecida com 0,1% de BG (FERREIRA, 2016).

Estudos de metabolômica são comumente empregados na medicina humana afim de caracterizar e descobrir possíveis biomarcadores, demonstrar intervenção de dietas em rotas metabólicas específicas (BRENNAN; HOENIG; FERGUSON, 2004), associar o tipo de dieta a doenças, ou a influência das dietas sobre uma determinada doença (CANUTO et al., 2018). Devido a abundância de informações, enorme diversidade de estruturas químicas e complexidade no estudo dos metabólitos, inúmeras informações podem ser obtidas através desta metodologia, porém poucos estudos buscaram avaliar o perfil metabolômico de gatos e nenhum deles com gatos obesos em comparação a gatos saudáveis.

Considerando-se que a obesidade em animais de companhia é uma afecção cada vez mais frequente, associada à dificuldade relacionada ao seu tratamento, a busca por estratégias alternativas que auxiliem na prevenção e no tratamento desta situação é muito importante dentro do cenário da nutrição de gatos. Neste contexto, os BG são potenciais aditivos que podem promover mudanças importantes no metabolismo de animais obesos. Portanto, o presente trabalho objetivou caracterizar e comparar o perfil de metabólitos séricos de gatos em condição corporal ideal e obesos, e avaliar os efeitos da inclusão de 0,1% (1g/Kg de alimento) de Macrogard® na dieta desses animais.

3.3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1.1. Local, instalações e animais

O experimento foi conduzido nas dependências do Centro de Pesquisa em Nutrologia de Cães e Gatos do Departamento de Nutrição e Produção Animal (VNP) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP), em Pirassununga, no período de janeiro a setembro de 2019. Todo o protocolo experimental deste projeto foi conduzido de acordo com os princípios éticos de experimentação animal e, sob aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ/USP) CEUA nº 8713140219.

Foram utilizados 20 gatos machos e fêmeas, sem raça definida e com idade entre 1 e 7 anos, os quais foram divididos em grupos de acordo com o ECC, proposto por Laflamme (1997). O grupo controle (CO) foi constituído por 10 gatos com ECC ideal (média de $2,14 \pm 2,14$ anos e $3,89 \pm 0,59$ kg), e o grupo obeso (OB) foi constituído por 10 animais com ECC 8 e 9 (média de $2,83 \pm 1,06$ anos e $5,78 \pm 1,07$ kg) sem comorbidades clínicas. Além do ECC, os animais passaram por avaliação da composição corporal, que foi realizada por meio do método de diluição de isótopos de deutério (FERRIER et al., 2002; BRUNETTO et al., 2011).

Os animais foram selecionados na rotina da clínica veterinária Pet Stop, localizada em Pirassununga, São Paulo. Estes tiveram sua higidez avaliada previamente por meio de exame físico, hemograma e exames bioquímicos. Gatos com alterações laboratoriais ou sinais clínicos compatíveis com doenças endócrinas foram avaliados por meio de exames hormonais e, se positivos, não foram incluídos no estudo. Durante todo o período experimental, os gatos foram mantidos em seus domicílios e manejados por seus tutores.

3.1.2. Dietas experimentais

Os animais dos grupos OB e CO foram alimentados pelo período de 21 dias com uma dieta experimental de manutenção sem a adição de BG (alimento controle - AC), com o intuito de padronizar o alimento para a realização das coletas basais a fim de evitar interferências ocasionadas por divergência no consumo de nutrientes.

Após o período de padronização de dieta ocorreram as coletas e procedimentos do tempo inicial (T0) e na sequência, os animais de ambos os grupos passaram a receber a dieta experimental com adição de 1g/kg de Macrogard® (com 60% de BG) durante 90 dias (dieta experimental: BG), que resulta na adição de 0,06% de BG na dieta final. As dietas foram confeccionadas na Fábrica da empresa Premier Pet, localizada em Dourado – SP, seguindo as recomendações da AAFCO (2019) para gatos adultos. A adição de 0,1% de Macrogard® no alimento teste (AT) ocorreu em substituição ao milho, presente no AC. A composição das dietas e do Macrogard® (Biorigin Brasil, Lençóis Paulista, SP, Brasil) estão respectivamente dispostos nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1: Composição química analisada e ingredientes das dietas experimentais.

Item (%)	Dietas	
	CO ¹	BG ²
Matéria seca	94,61	95,1
Composição química		
Matéria mineral	6,92	6,36
Proteína bruta	48,72	47,38
Extrato etéreo em hidrólise ácida	15,62	16,44
Fibra bruta	8,76	7,11
Extrato não-nitrogenados	19,98	22,71
Cálcio	1,04	1,02
Fósforo	0,93	0,84
Energia metabolizável (kcal/g) ³	4,021	4,021

Legenda: ¹CO: Alimento controle, sem a adição de beta glucanos; ²BG: Alimento experimental contendo 0,06% de beta-glucanos proveniente da adição do aditivo Macrogard®.

Ingredientes: Farinha de vísceras de frango, proteína isolada de suíno, ovo desidratado, farelo de glúten de milho 60*, milho integral moído*, quirera de arroz, polpa de beterraba, aveia, celulose, fibra de cana-de-açúcar, gordura de frango, óleo de peixe, aditivo acidificante, antioxidantes BHA e BHT (0,012%), cloreto de potássio, cloreto de sódio, DL-metionina, extrato de yucca (0,06%), frutoligossacarídeos, hidrolisado de frango, levedura seca de cervejaria, L-carnitina, L-lisina, mananoligossacarídeos, parede celular de levedura, sulfato de glicosamina, taurina, vitamina A, vitamina B12, vitamina C, vitamina D3, vitamina E, vitamina K3, ácido fólico, ácido pantotênico, biotina, cloreto de colina, niacina, piridoxina, riboflavina, tiamina, ferro aminoácido quelato, iodeto de potássio, manganês aminoácido quelato, proteinato de selênio, sulfato de cobre, sulfato de ferro, sulfato de zinco, zinco aminoácido quelato. *Contém milho e farelo de glúten de milho 60 transgênicos (espécies doadoras de gene: *Bacillus thuringiensis*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Streptomyces viridochromogenes*). A dieta tratamento possui inclusão de 0,01% de beta glucanos em sua composição em substituição ao milho.

Energia metabolizável³: Valor obtido pelo fabricante no rótulo da embalagem.

Tabela 2: Características físico-químicas do aditivo contendo beta-glucanos utilizado na dieta experimental (Macrogard®).

Glucanos g/100g (mín)	60,0
Gordura g/100g (máx)	18,0
Proteína (N x 6,25) g/100g (máx)	8,0
Matéria mineral g/100g (máx)	10,0
Sólidos totais (%)	>90,0
Capacidade de retenção de água	7,4
Índice de solubilidade em água	7,9

¹Biorigin Brasil, Lençóis Paulista, SP, Brasil.

3.1.3. Protocolo experimental

Inicialmente foi realizada triagem, na qual os animais passaram por exame físico completo, avaliação nutricional, avaliação de ECC e de escore de massa

muscular (EMM), hemograma e perfil bioquímico [ureia, creatinina, fosfatase alcalina, aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT)] para garantir higidez. Foram incluídos no estudo somente animais cujos resultados destes parâmetros se encontraram dentro do intervalo de referência para a espécie. Foram descartadas comorbidades que pudessem resultar em obesidade para que os gatos participantes do projeto fossem obesos apenas como resultado do balanço energético positivo induzido pelo excesso de alimentação. Ao longo do projeto, os animais permaneceram nas residências dos seus respectivos tutores.

Os animais selecionados pertencentes ao grupo A e B passaram a ser alimentados com o AC. A necessidade energética de manutenção (NEM) foi calculada para cada animal de acordo com o NRC (2006) e FEDIAF (2018) para que os mesmos não alterassem o peso corporal. Dessa forma, a equação utilizada para o cálculo da necessidade energética diária dos gatos magros foi a de $[NEM \text{ (Kcal/dia)} = 100 \times (\text{Peso corporal})^{0,67}]$ e, para os gatos obesos: $[NEM \text{ (Kcal/dia)}: 130 \times (\text{Peso corporal})^{0,4}]$. A quantidade diária de alimento fornecida para cada animal foi determinada considerando-se a energia metabolizável estimada dos AC e AT. O alimento foi oferecido duas vezes ao dia pelos tutores, mediante pote medida fornecido para o estudo, com a quantidade pesada e devidamente marcada no recipiente medidor por 21 dias.

Passado o período inicial de adaptação, uma nova coleta de sangue foi realizada, entretanto dessa vez, para realização da análise de composição corporal (BRUNETTO et al., 2011) e metabólica (VALLEJO et al., 2009; NAZ; GARCÍA; BARBAS, 2013). Depois disso, os gatos obesos passaram a ingerir a dieta experimental contendo 1g/kg de Macrogard® pelo período de 90 dias. Ao final deste período de ingestão, uma nova coleta de sangue foi realizada para reavaliar os parâmetros citados acima. Durante o experimento, os animais foram pesados a cada 15 ou 20 dias (conforme a disponibilidade dos proprietários) para acompanhamento de peso e realização de possíveis ajustes, caso necessário, já que os mesmos não podiam perder ou ganhar peso durante o período experimental.

3.1.4. Análise de composição corporal

A composição corporal foi realizada pelo método de diluição de isótopos de deutério. Para tal, após jejum alimentar de 8 horas, foi realizada uma coleta de 2mL

de sangue e logo em seguida foi administrado uma solução de óxido de deutério diluído a 10% por via subcutânea na dose de 1ml/Kg de peso corporal. Uma nova amostra de 2mL de sangue foi coletada duas horas após a inoculação de óxido de deutério. A extração do soro foi realizada após centrifugação, o enriquecimento por deutério das amostras foi determinado por espectrometria de massa de razão isotópica (IRMS, Calixto system – Sercon Ltda, Gateway, Reino Unido) no Laboratório de Espectrometria de Massas de Razão Isotópica do Departamento de Clínica Médica da faculdade de Medicina de Ribeirão Preto -SP. A metodologia utilizada para a determinação da composição corporal dos gatos foi de acordo com Ferrier et al. (2002) e adaptada por Brunetto et al. (2011).

Inicialmente a quantidade de água corpórea foi quantificada e então calculou-se a quantidade de massa magra total e por diferença determinou-se a quantidade de massa gorda, todos expressos em porcentagem. Esta avaliação foi efetuada em T0 e em T90 para verificar a manutenção da composição corporal dos gatos. Dessa forma, as alterações dos parâmetros avaliados puderam ser atribuídas ao consumo dos BG, e não a variações de massa gorda.

3.1.5. Análise de metabólômica

Para as avaliações inicial e final de metabólômica *untarget*, foram coletados 2mL de sangue por punção da veia jugular, o sangue coletado foi colocado em tubos com gel ativador de coágulo. As amostras foram centrifugadas por 15 min a 3000g e 4°C; o soro sobrenadante foi transferido para tubos plásticos rotulados e armazenado a -80°C, até a análise.

Para a análise em GC-MS, 100uL de cada amostra foi misturada em um vórtex com 300uL de acetonitrila para garantir a desproteíntização e, então centrifugado por 10 min a 15400g a 4°C. Na sequência, 100uL do sobrenadante foi transferido para *vials* de análise em GC-MS contendo *inserts* de vidro e, então o solvente foi evaporado em SpeedVac a 30°C. Para a metoximação das amostras, 10uL de hidrócloro de O-metoxiamina (15mg/mL) em piridina foi adicionado a cada *vial* de análise e, então, levados ao vórtex. Os *vials* foram cobertos e incubados em ambiente escuro em temperatura ambiente por 16 horas. Em seguida, 10uL de BSTFA com 1% de TMCS (v/v) foram adicionados e, as amostras vortexadas e incubadas a 70°C por 1h para o processo de siliilação. No final do procedimento, 20uL do padrão interno ácido

pentadecanóico (20ppm em heptano) foi adicionado a cada *vial* de análise. Três amostras de branco foram preparadas seguindo o mesmo procedimento das amostras preparadas. Estes brancos foram analisados no início, no meio e no final da sequência (KIND et al., 2009; VALLEJO et al., 2009).

A análise das amostras foi conduzida num sistema de cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massas do tipo quadrupolo (GCMS-QP2020 NX, Shimadzu Co., Kyoto, Japão). Para a separação, 1 μ L da amostra foi carregado numa coluna DB5-MS (30m x 0.25mm, 0.25 μ m, Restek). A amostra foi injetada em modo *splitless* num fluxo de 20mL/min de gás Hélio. O gás carregador foi conduzido num fluxo constante de 1,36mL/min. A temperatura inicial da coluna foi inicialmente mantida a 80oC e então aumentada gradativamente numa taxa de 15oC/min até atingir a temperatura final de 300oC e, esta foi mantida por 8min antes de resfriá-la. As temperaturas do injetor, linha de transferência e filamento da fonte e o quadrupolo foram mantidas a 280, 200, 150 e 150oC, respectivamente. O sistema foi operado em modo de *full scan* (m/z 40-650) numa taxa de 3 espectros/s e, com o EI configurado a 70eV. Então um método de tempo de retenção fechado (TRF) foi aplicado para reduzir o tempo de retenção (TR) de toda a análise (VALLEJO et al., 2009).

O controle dos instrumentos, a aquisição de dados e o processamento de dados foram realizados pelo software LabSolutions (GCMS versão 4.5, Shimadzu Co., Japão), que permite controle em tempo real de cada analito analisado para a identificação dos metabólitos em modo SIM e Scan.

A identificação dos metabólitos foi realizada a partir da comparação dos espectros obtidos por meio das amostras analisadas com espectros de referência adquiridos nas mesmas condições experimentais, ou seja, os picos dos analitos e padrões externos foram integrados pelo mesmo software, utilizando as mesmas configurações e normalizados pela adição e detecção de padrões internos adicionados a cada amostra antes da análise. Assim, uma curva analítica de calibração foi construída para a determinação da linearidade e, com a utilização de padrões internos, a concentração de cada metabólito gerou valores de quantificação em micromolar (μ M) com maior confiabilidade. Os dados foram finalmente exportados para o software Excel (Microsoft Office) para subsequente análise estatística das moléculas identificadas e quantificadas em modo SIM.

Para as análises em modo Scan, os metabólitos detectados foram processados para a criação de uma matriz unificada de variáveis a partir dos diferentes estados de carga, adutos e grupos dos mesmos analitos em todas as amostras e, para isso foram utilizados os softwares GCMS Solution (v.3.30), NIST 17 MASS (v.1.00.1) e GCMS Smart Metabolite (v.3.01), todos desenvolvidos pela Shimadzu Co. Os softwares foram configurados da maneira mais eficiente possível para processar todos os picos detectados, separando-os do ruído do equipamento. Após a identificação das moléculas detectadas pelas bibliotecas NIST (KIND et al., 2009) e Smart Metabolite, as amostras foram exportadas para o software Excel (Microsoft Office) para tratamento estatístico. Bases de dados públicas disponíveis na internet (www.metlin.scripps.edu, <https://www.genome.jp/kegg/>, www.lipidmaps.org ou <http://www.hmdb.ca>) também foram utilizadas para a identificação e/ou conformação de espectros de GC-MS.

3.1.6. Análise estatística

Os dados obtidos de composição corporal foram avaliados com o uso do software Statistical Analysis System (SAS, versão 9.4). Primeiramente, foram verificadas a normalidade dos resíduos pelo teste de SHAPIRO-WILK e a homogeneidade das variâncias comparadas pelo teste de Levine. Após verificação das premissas estatísticas, foi realizada análise de variância com medidas repetidas no tempo pelo PROC MIXED, valores de $p < 0,05$ serão considerados significativos.

Os dados foram avaliados segundo modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu_i + R_j + T_k + T_jR_k + e_{ijk}$$

Em que: Y_{ijk} = variável dependente; μ_i média geral; R_k = efeito fixo de tratamento; T_n = efeito fixo de tempo; T_nR_k = efeito fixo da interação entre tempo e tratamento; e_{ijk} = erro residual.

Já a análise dos perfis metabólitos foram realizadas através de análise estatística uni- e multivariada pelo Metaboanalyst 4.0 seguindo os algoritmos paramétricos ANOVA com medidas repetidas no tempo, criando modelos multivariados com transformação logarítmica para a normalização dos dados, por meio de modelos não-supervisionados, como a análise de componente principal (PCA) e, supervisionados, como a regressão por mínimos quadrados parciais (PLS e a sua regressão ortogonal, OPLS), verificando-se a possibilidade de identificação de “outliers”, tendências, e para

selecionar as variáveis responsáveis pela separação mostradas pelos modelos e além dos testes de validação, respectivamente.

3.4 RESULTADOS

Foram excluídos dois gatos de um mesmo tutor, um pertencente ao OB e o outro ao CO por dificuldades de participação nas coletas experimentais. Ao final do projeto, 9 animais compuseram cada um dos dois grupos experimentais.

Os gatos obesos apresentaram maior quantidade de massa muscular (em kg), de massa gorda (em kg e %), ECC e peso corporal quando comparado ao grupo não obeso (Tabela 3; $p < 0,05$). Os grupos OB e CO apresentaram aumento de massa magra (em Kg e %) na coleta de T90, após o consumo do alimento contendo BG (Tabela 3; $p < 0,05$).

Tabela 3: Média dos valores de massa magra (MM) e de massa gorda (MG) em gatos obesos e de escore de condição corporal (ECC) ideal, antes e depois da suplementação de 0,06% de beta-glucanos.

variáveis	tratamento		EPM ⁵	valor de p		
	CO ³	OB ⁴		Tratamento	tempo	Trat*tempo
ECC ¹	5.05	8.66	0.124	<0.0001	0.3322	0.3322
PC (kg) ²	3.86	5.84	0.296	0.0002	0.6799	0.2123
MM (Kg) ⁶	3.10	4.08	0.189	0.0020	0.0244	0.8335
MM (%) ⁶	82.58	70.53	2.015	0.0006	0.0298	0.5112
MG (Kg) ⁷	0.68	1.72	0.164	0.0004	0.1058	0.8728
MG (%) ⁷	17.41	29.46	2.015	0.0006	0.0298	0.5112

¹ECC: Escore de condição corporal; ²PC: Peso Corporal; ³CO: Grupo controle, com escore de condição corporal 5; ⁴OB: Grupo obeso, com escore de condição corporal 8 e 9; ⁵EPM: Erro padrão da média; ⁶MM: Massa magra; ⁷MG: Massa gorda.

O consumo de BG por quilo de peso metabólico obtido pela adição de 0,1% de Macrogard® (aditivo com 0,06% de BG) na dieta foi menor no grupo CO do que no OB (Tabela 4, $p < 0,0001$). Por outro lado, o consumo de BG por quilo obtido pelo consumo da dieta BG em gramas por Kg de peso corporal foi menor no grupo OB (Tabela 4, $p < 0,0001$).

Tabela 4: Consumo de beta-glucanos em gramas (g) por quilo de peso metabólico e por quilo de peso corporal pelos gatos obesos e de escore de condição corporal (ECC) ideal obtido pela dieta experimental (dieta BG) contendo 0,1% de Macrogard® (aditivo com 0,06% de beta-glucanos).

Variável	ECC ¹		EPM ⁴	Valor de p
	CO ²	OB ³		
Consumo de beta-glucanos (mg)	37,66	39,20	0,0001	0,3032
Consumo beta-glucanos (mg) / kg PM ⁵	15,19	19,51	0,0001	<0.0001
Consumo beta-glucanos (mg) / kg PC ⁶	9,79	6,92	0,0002	<0.0001

¹ECC: Escore de condição corporal; ²CO: Grupo controle, com escore de condição corporal 5; ³OB: Grupo obeso; EPM⁴: Erro padrão da média; PM⁵: Peso metabólico; PC⁶: Peso corporal.

A análise cromatográfica conseguiu detectar um total de 197 picos. Após a coleta dos dados cromatográficos, foi aplicado um pré-tratamento analítico dos dados constituído pelos processos de normalização e integração das áreas, subtração de ruídos e de possíveis sinais denominados de falsos positivos analíticos (provenientes da fragmentação do solvente de extração metabólica das amostras), metabólitos com múltiplas derivatizações, e moléculas classificadas como *unknowns* (picos sem fragmentos suficientes para a identificação). Ao final, 47 metabólitos foram identificados com um índice de confiança de nível dois, e utilizados posteriormente para a análise estatística de perfil metabólico no Metaboanalyst 5.0 (<http://metaboanalyst.ca>).

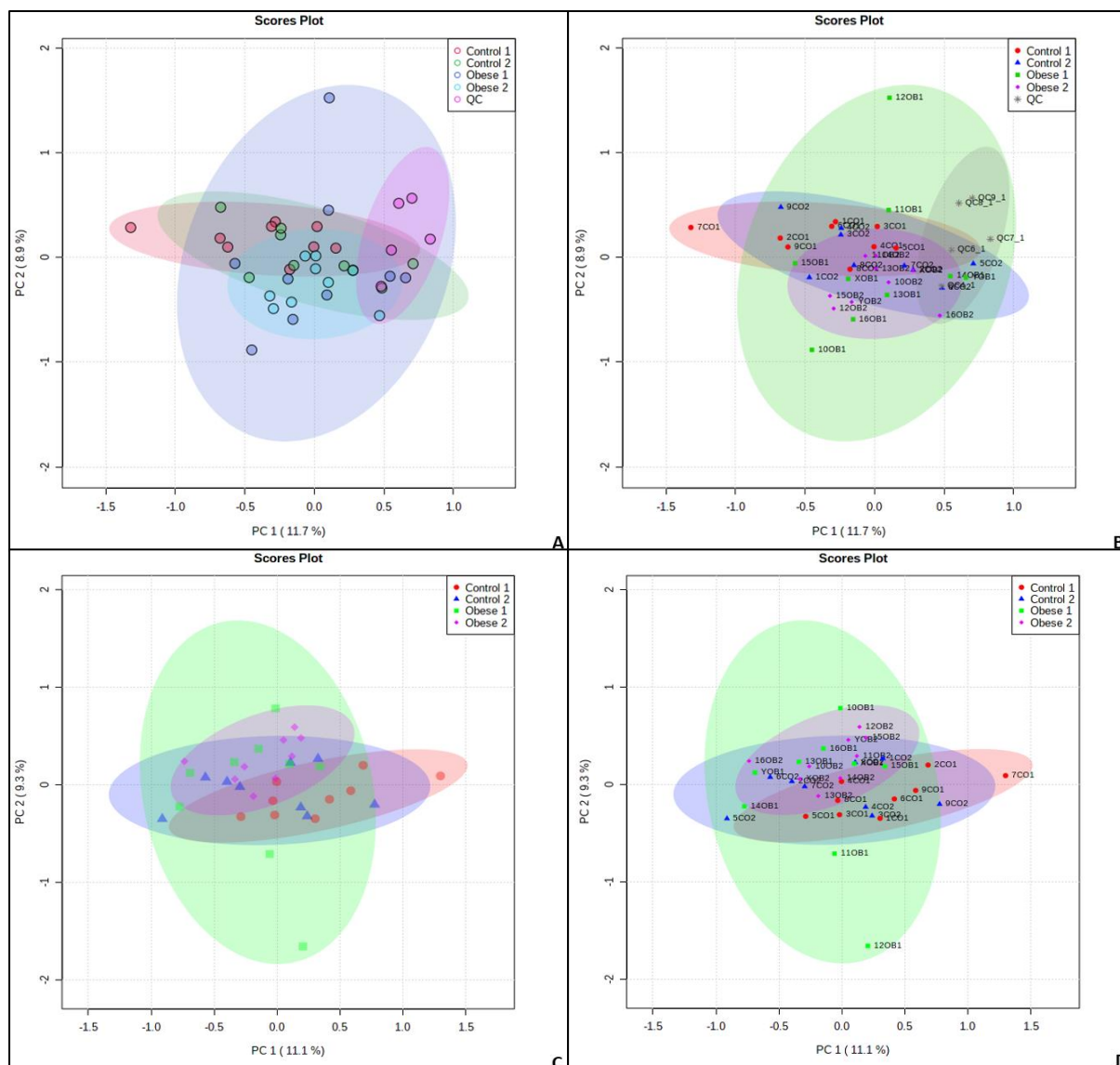
A partir desses 47 metabólitos, foi realizado teste com coeficiente de variação no controle de qualidade (QCs), aqueles que possuíram coeficiente acima de 30% para análises em cromatográfica gasosa por espectrometria de massas (GCMS) foram removidos da lista do grupo de metabólitos que fizeram parte das análises estatísticas uni- e multivariada.

A análise multivariada dos dados foi realizada através do Metaboanalyst versão 5.0. Inicialmente foi realizada a fim de verificar agrupamento, robustez e reprodutibilidade analítica da técnica utilizada (PCA), e análises utilizando modelos supervisionados, tais como PLS e OPLS, que são utilizados para observar a presença de agrupamento das amostras e a predição do perfil metabólico obtido via análise em GCMS.

Os modelos não-supervisionados de PCA, contendo os QCs [Figura 1; (A e B)], mostraram bom agrupamento, indicando robustez e boa reprodutibilidade analítica. Na [Figura1; (C e D)], os PCA sem os controles de qualidade, permite observar o comportamento de agrupamento das amostras sem a interferência dos controles

analíticos. Nesse caso os grupos OB e CO independente do tempo não mostram afastamento, indicando que não houve grande disparidade na identificação dos metabólitos.

Figura 1: Modelos não-supervisionados de PCA, contendo os controles de qualidade (QCs) (A e B) e sem os controles de qualidade (QCs) (C e D).



Os testes supervisionados dos dados (PLS) foram realizados com intuito de verificar a presença de agrupamento e predição das amostras, a fim de investigar um perfil metabólico no modelo experimental analisado. Na [Figura 2 (A e B)], para o CO antes (1) e depois (2) da suplementação. Na [Figura 2 (C e D)] para OB nos tempos dois tempos. Os modelos testados de PLS independente dos grupos experimentais

não mostraram separação entre os tempos 0 e 1, mostrando também variáveis preditivas e de validação cruzada muito baixas para os modelos propostos (Figura 3). Além disso, a análise detalhada dos gráficos mostra a presença de possíveis *outliers* biológicos, o que dificulta o agrupamento das amostras e a separação entre os grupos, possibilitando um fortalecimento nas variáveis preditivas do modelo (Figura 3). Portanto, os modelos multivariados pesquisados não podem ser usados para discriminar os metabólitos de interesse desse estudo.

Figura 2: Modelos supervisionados dos dados (PLS) para o grupo controle antes (1) e depois (2) da suplementação (A e B) e para grupo obeso antes (1) e depois (2) da suplementação (C e D).

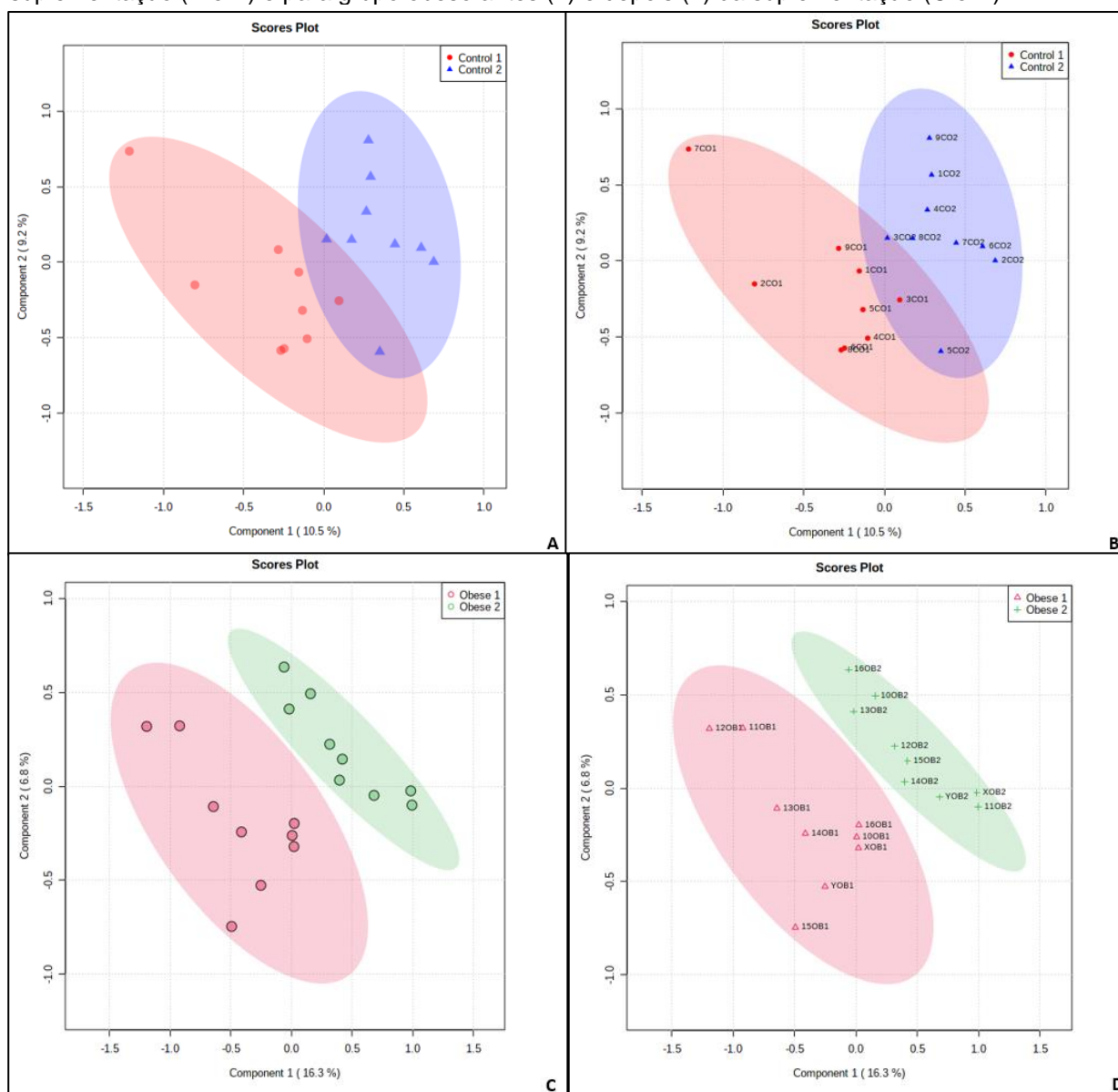
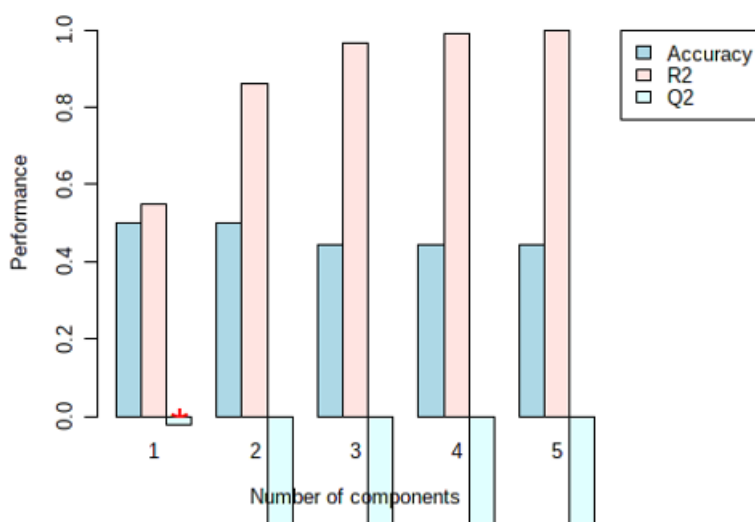


Figura 3: Validação cruzada para o PLS



Devido à impossibilidade de evidenciar as diferenças metabólicas nos modelos multivariados analisados, foi realizado também teste estatístico de natureza univariada, utilizando o algoritmo estatístico de Análise de Variância com medidas repetidas no tempo ao nível de significância de 5%. Os metabólitos que apontaram diferença entre os tratamentos (grupos OB e CO) ($p < 0,05$) foram valina, isoleucina, fenilalanina, tirosina, ácidos graxos esteárico (AE), linoleico (AL), araquidônico (ARA) e alfa-tocoferol. Já os metabólitos que apresentaram diferença em relação ao tempo (efeito da suplementação de BG) foram ureia, ácido piroglutâmico, arginina, triptamina e trealose. Por fim os que apresentaram efeito de interação (tratamento x tempo) foram Ribitol e colesterol descritos na Tabela 5.

Tabela 5: Os metabólitos que apresentaram p valores abaixo de 0,05 de acordo com o efeito de (tratamento, tempo ou interação) após análise univariada.

Metabólito	Efeito de Tratamento ¹	Efeito de Tempo ²	Efeito de Interação (tratamento x tempo)
Dihidrouracil	0.017	0.798	0.344
Valina	0.047	0.373	0.612
Ureia	0.393	0.045	0.249
Isoleucina	0.031	0.397	0.975
Ácido Piroglutâmico	0.158	0.013	0.075
Fenilalanina	0.002	0.109	0.953
Ribitol	0.801	0.006	0.003
Arginina	0.483	0.046	0.954
Trealose	0.341	0.047	0.841
Tirosina	0.039	0.325	0.317
Ácido Linoleico	0.002	0.615	0.281
Ácido Araquidônico	0.007	0.901	0.064
Triptamina	0.447	0.349	0.384
Alfa-tocoferol	0.004	0.025	0.299
Colesterol	0.021	0.514	0.017
Campesterol	0.001	0.226	0.514

Efeito de tratamento: efeito entre os grupos OB e CO; Efeito de tempo: efeito da suplementação com 0,06% de beta-glucano na dieta.

3.5 DISCUSSÃO

Nenhum animal apresentou menor consumo em relação à quantidade de alimento diária proposta ao longo do experimento. A inclusão de 0,06% de BG na dieta resultou em diferentes quantidades de consumo do aditivo nos gatos do grupo CO e OB, já que as necessidades energéticas diárias para estes grupos são calculadas de formas diferentes. Os gatos do grupo OB apresentaram consumo de BG maior com relação ao kg de peso metabólico (calculado como peso corporal^{0,4} no OB e peso corporal^{0,67} no CO). Por outro lado, o consumo em kg de peso corporal foi menor para este grupo. Em um estudo anterior realizado com cães, em que se avaliou o efeito do consumo de BG sobre parâmetros de regulação glicêmica as doses utilizadas foram de 10,275 mg/kg/dia e 13,875 mg/kg/dia (VETVICKA; OLIVEIRA, 2014), dosagem superior à utilizada no presente estudo (9,49 mg/kg e 6,92 mg/kg de peso corporal para o CO e OB, respectivamente). Em outro estudo que avaliou em cães o efeito da inclusão de BG, a dose utilizada foi 0,08% de BG (THEODORO et al., 2019) na dieta, que também é superior à utilizada (0,06%). A dose de inclusão do aditivo adotada

neste estudo foi previamente utilizada em cães obesos com resultados positivos para modulação das concentrações circulantes de glicose, insulina, colesterol e triglicérides (FERREIRA, 2016), contudo, como existem diferenças no cálculo de NEM entre as espécies, também houve diferença de consumo final de BG (cães consumiram em média 8,2627mg/kg comparado ao consumo médio dos gatos do presente estudo de 6,92 mg/kg). Sendo assim, vale considerar a necessidade de maior inclusão de BG para gatos para obter os resultados esperados.

Para isolar o efeito dos resultados ao consumo dos BG e não a variações de gordura na composição corporal dos gatos, foram realizados acompanhamentos com frequência quinzenal para verificar o peso corporal, nos quais era possível realizar ajustes na indicação de consumo diário do alimento. Para garantir que não houve diferença na composição corporal dos animais, a avaliação do deutério foi realizada antes e após o consumo da dieta contendo os BG. Foi observado que a quantidade de gordura (em % e em Kg) dos gatos do grupo OB foi maior do que a dos gatos do grupo CO, como já era esperado.

Observou-se que ambos os grupos apresentaram aumento de massa muscular após o consumo da dieta contendo BG, o que pode ter ocorrido em razão do consumo do alimento super premium com teor de proteína elevado e de alta digestibilidade pelos animais, já que o aumento do consumo de proteína já foi relacionado com o aumento de massa muscular nesta espécie (NGUYEN et al., 2004). O presente estudo apresenta a limitação de não ter a composição nutricional das dietas consumidas pelos animais antes do seu início. Na literatura, há um estudo que investigou a possível melhora do desenvolvimento muscular de trutas-arco-íris suplementados com BG como promotor de crescimento (devido à melhora na imunidade) e os autores não encontraram melhora no desenvolvimento dos animais (GHAEDI et al., 2016), desta forma, é provável que o aumento de massa muscular observado no presente estudo não teve correlação com o consumo de BG.

Os metabólitos são produtos intermediários ou finais do metabolismo em uma amostra biológica (FIEHN, 2002). O conjunto desses metabólitos que possuem massa molecular de até 1500 Da, presentes em um sistema biológico, é chamado de metaboloma (CANUTO et al., 2018). A metabolômica pode ser utilizada para dois objetivos: A análise de metabolômica alvo ou "*targeted metabolomics*", definida como a análise quantitativa de um ou mais metabólitos pré-selecionados de determinada

classe química, ou que estejam associados a rotas metabólicas específicas; e Análise de metabolômica global ou "*untargeted metabolomics*", que está baseada na análise qualitativa do maior número de metabólitos possível, pertencentes a diversas classes químicas, contidas no sistema biológico avaliado (CANUTO et al., 2018). No presente estudo foi realizada análise de metabolômica *untarget*, com intuito de caracterizar o metaboloma dos grupos experimentais (OB x CO) e levantar possíveis marcadores de obesidade em gatos, além de avaliar os efeitos da inclusão de 0,06% de BG na alimentação sobre no metaboloma desses dois.

Os metabólitos que apontaram diferença entre os tratamentos (grupos OB e CO) ($p < 0,05$) foram valina, isoleucina, fenilalanina, tirosina, AE, AL, ARA e alfa-tocoferol. Em estudo realizado por Pallotto et al. (2021) foram avaliados gatos obesos durante o programa de perda de peso por um período de 16 semanas e, os autores observaram diferenças principalmente no metabolismo das gorduras nos animais, ao longo do emagrecimento, o que corrobora com os achados deste estudo, uma vez que ao se comparar os grupos foram observadas diferenças nas concentrações de AE, AL e ARA. Os autores sugeriram que provavelmente ocorreu diminuição desses metabólitos conforme os gatos do estudo foram perdendo peso.

Os lipídios presentes na corrente sanguínea podem ser derivados da dieta, do tecido adiposo ou do fígado. Esses lipídios são uma importante fonte de energia para o hospedeiro e são armazenados principalmente como triglicerídeos no tecido adiposo (PALLOTTO et al., 2021). A obesidade está geralmente associada a concentrações elevadas no plasma, soro e fígado de ácidos graxos não esterificados (WANG; FOLSOM; ECKFELDT, 2003). Além disso, concentrações mais altas de AE associadas a concentrações mais baixas de ácido linoleico AL foram relatadas em homens obesos (KIM et al., 2010). Em humanos ocorrem várias alterações nos biomarcadores relacionados à obesidade, incluindo concentrações mais elevadas de insulina, glicose, índice HOMA e, concentrações mais baixas de adiponectina; e metabolismo anormal do ácido linoleico, como observado no presente estudo. Embora os gatos sejam considerados carnívoros e não desenvolvam doenças cardiovasculares da mesma forma que os humanos, o perfil lipídico verificado por meio do metaboloma sérico é um indicativo de seu estado metabólico (PALLOTTO et al., 2021).

O ARA é precursor de metabólitos eicosanóides, como prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos e lipoxinas (HAEGGSTRÖM et al., 2010). Eles são mediadores de inflamação aguda, febre e doenças como câncer, aterosclerose e trombose em humanos, comumente encontrados em pacientes com obesidade mórbida (LOPES; EGAN, 2006).

Pallotto et al. (2021) observaram diferenças nos aminoácidos de cadeia ramificada (AACR) e aromáticos (AAA), que ao longo do emagrecimento foram apresentando diminuição em suas concentrações. Em humanos obesos as concentrações plasmáticas de valina e leucina são cerca de 23% e 14%, maior do que homens magros. O catabolismo de AACR pode ser inibido com a obesidade, isso já foi observado em camundongos e ratos obesos, os quais apresentaram diminuição na atividade da aminotransferase e do complexo enzimático α -cetoácido desidrogenase de cadeia ramificada (SHE et al., 2007).

Em estudo retrospectivo, concentrações elevadas de AACR foram relacionadas à idade avançada, sexo masculino, síndrome metabólica, obesidade, risco de doença cardiovascular, dislipidemia, hipertensão e ácido úrico (HU et al., 2016). Em humanos, a resistência à insulina e o risco aumentado ao desenvolvimento de diabetes mellitus tipo 2 foram associados a ingestão e concentrações elevadas de AAA como tirosina e fenilalanina e AACR como isoleucina, leucina e valina, sendo relatado que os AAA e AACR diminuem após a perda de peso em indivíduos obesos (SHE et al., 2007; WANG et al., 2011; WÜRTZ et al., 2012; NEWGARD, 2013).

O alfa-tocoferol faz parte é uma lipossolúvel que atua como antioxidante. Em estudo com cavalos a concentração desse metabólito foi diminuída nas fezes de animais obesos, quando comparada com magros (COLEMAN et al., 2019). Estudo com camundongos mostrou que possivelmente o maior estresse oxidativo pulmonar em animais obesos ocorre, devido a diminuição em concentrações de antioxidantes como o alfa tocoferol, em pulmões de camundongos obesos versus magros (MATHEWS et al., 2017). Essas observações são consistentes com observações anteriores em pulmões de seres humanos obesos (KOMAKULA et al., 2007).

As diferenças no perfil de metabólitos encontrados entre os grupos obeso e controle no presente estudo corroboram as informações publicadas em estudos com humanos, que já comprovaram a influência desses biomarcadores consequentes a obesidade no desenvolvimento de outras comorbidades: AAA e AACR na ocorrência

de RI e diabetes do tipo 2; e alterações do perfil lipídico, como aumento de AE e diminuição de AL em pessoas obesas (SHE et al., 2007; HU et al., 2016).

Já os metabólitos que apresentaram diferença em relação ao tempo (efeito da suplementação de BG) foram ureia, ácido piroglutâmico, arginina, triptamina e trealose.

Os metabólitos que apresentaram diferença em relação ao tempo (efeito da suplementação de beta-glucanos) foram ureia, ácido piroglutâmico, arginina, triptamina e trealose. A ureia é um metabólito proveniente do metabolismo de proteínas, o qual é muito ativo em gatos. Estudos com gatos doentes renais crônicos demonstraram que a concentração desse metabólito pode ser diminuída após o consumo de alimentos que apresentam em sua composição fibras solúveis como os beta-glucanos (HALL et al., 2020; HALL; JEWELL; EPHRAIM, 2020). O mesmo já foi descrito em cães (EPHRAIM; JEWELL, 2020). Assim como a ureia, **a arginina está bastante envolvida no metabolismo das proteínas** e, por isso, gatos possuem maior concentração desse metabólito quando comparados com outras espécies não carnívoras. Em gatos saudáveis foi observada maior concentração desse metabólito após consumo de fibras solúveis (HALL et al., 2021). O mesmo estudo avaliou gatos com doença renal crônica (DRC), porém nos animais doentes não foi observada diferença nas concentrações de arginina após consumo de fibra.

A trealose é um metabólito secundário do metabolismo de carboidratos. Os efeitos da utilização de BG não foram associados a mudanças desse metabólito em pets. O ácido piroglutâmico e seus derivados são compostos importantes com alta bioatividade e estão presentes em muitos produtos naturais e moléculas medicinais (MANDAL; GHOSH; BISWAS, 1990; DENG et al., 2012). Portanto, a síntese de derivados do ácido piroglutâmico é altamente desejável e já atraiu muita atenção (Ma et al., 2021). A triptamina é um metabólito intermediário do triptofano, que é considerado importante neuromodulador e neurotransmissor há muitos anos (JONES, 1982). A utilização de outras fontes de fibras mostrou diminuição na concentração desse metabólito após consumo em gatos doentes (HALL et al., 2021). Porém mais estudos com BG são necessários para elucidar seu papel na modulação desses metabólitos.

Por fim, os metabólitos que apresentaram efeito de interação (tratamento x tempo) foram Ribitol e colesterol. O Ribitol faz parte da estrutura química da riboflavina

e do mononucleotídeo de flavina. É também um produto final formado pela redução da ribose em fibroblastos e eritrócitos. Portanto, o ribitol é encontrado em todos os organismos, desde bactérias até plantas e seres humanos (HAGA; NAKAJIMA, 1989). Em dois estudos, o aumento dos níveis de ribitol, foi associado ao maior nível de saciedade após a ingestão de pão de centeio, rico em fontes de BG (BONDIA-PONS et al., 2011; LANKINEN et al., 2011).

Altas concentrações de ácidos graxos ou colesterol no sangue têm sido utilizadas como indicador de risco de doença, como, doenças cardiovasculares, doença coronariana, diabetes e hipertensão em humanos (XIE; WATERS; SCHIRRA, 2012). Pallotto et al. (2021) observaram diminuição nas concentrações de colesterol em gatos após 8 semanas de emagrecimento quando comparados com os mesmos indivíduos ainda obesos. Em uma meta-análise de 126 estudos realizada por Tiwari e Cummins (2011) foi examinado o efeito da ingestão de BG nas concentrações de colesterol no sangue [colesterol total (CT) e lipoproteína de baixa densidade (LDL)-colesterol], bem como os níveis de glicose no sangue. O estudo demonstrou uma redução significativa de CT (em 0,6 mmol/L) e colesterol LDL (em 0,66 mmol/L), assim como um aumento nas frações de colesterol HDL (em 0,03 mmol/L) após o consumo de β -glucano. Devido a essas várias evidências em humanos, o FDA recomenda o consumo de 3 g/dia de BG para diminuir o risco de doenças cardiovasculares em humanos (JOYCE et al., 2019).

Embora os BG sejam bastante estudados em humanos assim como a obesidade, mais estudos devem ser realizados em gatos, principalmente de dose-resposta para que consigamos elucidar o seu papel no metabolismo de gatos obesos.

3.6 CONCLUSÕES

Conclui-se que nas condições de realização do presente estudo, o metaboloma de gatos saudáveis difere do de gatos obesos. Os metabólitos que se diferiram destacam a influência de biomarcadores consequentes a obesidade na evolução de outras comorbidades como RI, diabetes e alterações do perfil lipídico. Além disso, o consumo de 0,06% de BG na alimentação de gatos obesos modificou alguns metabólitos do metabolismo de gordura e glicose, sendo assim um possível modulador desses metabólitos. Mais estudos devem ser realizados a fim de quantificar

os metabólitos citados como possíveis biomarcadores e com outras concentrações de BG, afim de elucidar seus possíveis efeitos em animais obesos.

3.7 REFERÊNCIAS

AAFCO. **Association of American Feed Control Officials**. Oxford, MI: Official Publication, 2019.

ANDERSSON, M.; ELLEGÅRD, L.; ANDERSSON, H. Oat bran stimulates bile acid synthesis within 8 h as measured by 7 α -hydroxy-4-cholesten-3-one. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 76, p. 1111–1116, 2002.

BONDIA-PONS, I. et al. Postprandial differences in the plasma metabolome of healthy Finnish subjects after intake of a sourdough fermented endosperm rye bread versus white wheat bread. **Nutrition Journal**, v. 10, p. 116, 2011.

BRENNAN, C. L.; HOENIG, M.; FERGUSON, D. C. GLUT4 but not GLUT1 expression decreases early in the development of feline obesity. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 26, n. 4, p. 291–301, 2004.

BRUNETTO, M. A. et al. The intravenous glucose tolerance and postprandial glucose tests may present different responses in the evaluation of obese dogs. **British Journal of Nutrition**, v. 106, n. S1, p. S194–S197, 2011.

BURKHOLDER, W. J.; TOLL, P. W. Obesity. In: LEWIS, L. D.; MORRIS, M. L.; HAND, M. S. (Ed.). **Small Animal Clinical Nutrition**. 4. ed. Topeka, Kansas: Mark Morris Institute, 2000. p. 401–425.

CANUTO, G. A. B. et al. Metabolômica: definições, estado-da-arte e aplicações representativas. **Química Nova**, v. 41, n. 1, p. 75–91, 2018.

COLEMAN, M. C. et al. Comparison of the microbiome, metabolome, and lipidome of obese and non-obese horses. **PLoS ONE**, v. 14, n. 4, p. e0215918, 2019.

DENG, J. et al. Total synthesis of (-)-fusarisetin A and reassignment of the absolute configuration of its natural counterpart. **Journal of the American Chemical Society**, v. 134, p. 920–923, 2012.

EPHRAIM, E.; JEWELL, D. E. Effect of added dietary betaine and soluble fiber on metabolites and fecal microbiome in dogs with early renal disease. **Metabolites**, v. 10, n. 9, p. 370, 2020.

FEDIAF. **FEDIAF - The European Pet Food Industry Federation. Nutritional**

guidelines for complete and complementary pet food for cats and dogs. Bruxelas, BE: The European Pet Food Industry Federation, 2018.

FERREIRA, C. S. **Suplementação de Betaglucano e variáveis metabólicas de cães obesos com resistência insulínica.** 2016. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2016.

FERRIER, L. et al. Evaluation of body composition in dogs by isotopic dilution using a low-cost technique, fourier-transform infrared spectroscopy. **Journal of Nutrition**, v. 132, p. 1725S-1727S, 2002.

FIEHN, O. Metabolomics--the link between genotypes and phenotypes. **Plant Biology Journal**, v. 48, p. 155–171, 2002.

GHAEDI, G. et al. Proteomic analysis of muscle tissue from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed dietary β -glucan. **Iranian Journal of Veterinary Research**, v. 17, n. 3, p. 184–189, 2016.

HAEGGSTRÖM, J. Z. et al. Advances in eicosanoid research, novel therapeutic implications. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 396, p. 135–139, 2010.

HAGA, H.; NAKAJIMA, T. Determination of polyol profiles in human urine by capillary gas chromatography. **Biomedical Chromatography**, v. 3, n. 2, p. 68–71, 1989.

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, n. 7, p. e0235480, 2020.

HALL, J. A. et al. The impact of periodontal disease and dental cleaning procedures on serum and urine kidney biomarkers in dogs and cats. **PLoS ONE**, v. 16, n. 7, p. e0255310, 2021.

HALL, J. A.; JEWELL, D. E.; EPHRAIM, E. Changes in the fecal metabolome are associated with feeding fiber not health status in cats with chronic kidney disease. **Metabolites**, v. 10, n. 7, p. 281, 2020.

HOENIG, M. et al. Insulin sensitivity, fat distribution, and adipocytokine response to different diets in lean and obese cats before and after weight loss. **American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, v. 292, p. R227–R234, 2007.

HOENIG, M. et al. Cats differ from other species in their cytokine and antioxidant enzyme response when developing obesity. **Obesity**, v. 21, p. E407–E414, 2013.

HU, W. et al. Relationship between Branched-Chain Amino Acids, Metabolic Syndrome, and Cardiovascular Risk Profile in a Chinese Population: A Cross-Sectional Study. **International Journal of Endocrinology**, v. 2016, p. 8173905, 2016.

JENKINS, A. L. et al. Depression of the glycemic index by high levels of β -glucan fiber in two functional foods tested in type 2 diabetes. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 56, p. 622–628, 2002.

JONES, R. S. G. Tryptamine: a neuromodulator or neurotransmitter in mammalian brain? **Progress in Neurobiology**, v. 19, p. 117–139, 1982.

JOYCE, S. A. et al. The Cholesterol-Lowering Effect of Oats and Oat Beta Glucan: Modes of Action and Potential Role of Bile Acids and the Microbiome. **Frontiers in Nutrition**, v. 6, p. 171, 2019.

KERCKHOFFS, D. A. J. M. et al. Effects on the human serum lipoprotein profile of β -glucan, soy protein and isoflavones, plant sterols and stanols, garlic and tocotrienols. **Journal of Nutrition**, v. 132, p. 2494–2505, 2002.

KIM, J. Y. et al. Metabolic profiling of plasma in overweight/obese and lean men using ultra performance liquid chromatography and Q-TOF Mass spectrometry (UPLC-Q-TOF MS). **Journal of Proteome Research**, v. 9, p. 4368–4375, 2010.

KIND, T. et al. FiehnLib: Mass spectral and retention index libraries for metabolomics based on quadrupole and time-of-flight gas chromatography/mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 81, n. 24, p. 10038–10048, 2009.

KOMAKULA, S. et al. Body mass index is associated with reduced exhaled nitric oxide and higher exhaled 8-isoprostanes in asthmatics. **Respiratory Research**, v. 8, p. 32, 2007.

LAFLAMME, D. P. Development and Validation of a Body Condition Score System for Cats. **Feline Practice**, v. 25, p. 13–18, 1997.

LANKINEN, M. et al. Metabolomic analysis of plasma metabolites that may mediate effects of rye bread on satiety and weight maintenance in postmenopausal women. **Journal of Nutrition**, v. 141, p. 31–36, 2011.

LIA, Å. et al. Postprandial lipemia in relation to sterol and fat excretion in ileostomy subjects given oat-bran and wheat test meals. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 66, p. 357–365, 1997.

LIATIS, S. et al. The consumption of bread enriched with betaglucan reduces LDL-cholesterol and improves insulin resistance in patients with type 2 diabetes. **Diabetes**

and Metabolism, v. 35, p. 115–120, 2009.

LOPES, H. F.; EGAN, B. M. Desequilíbrio autonômico e síndrome metabólica: Parceiros patológicos em uma pandemia global emergente. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 87, p. 538–547, 2006.

MANDAL, H.; GHOSH, P. K.; BISWAS, N. M. Effect of dihydrotestosterone on serum concentrations of $\alpha(2u)$ -globulin and on spermatogenesis in melatonin-treated rats. **Journal of Endocrinology**, v. 126, n. 3, p. 431–435, 1990.

MATHEWS, J. A. et al. Effect of acute ozone exposure on the lung metabolomes of obese and lean mice. **PLoS ONE**, v. 12, n. 7, p. e0181017, 2017.

NAZ, S.; GARCÍA, A.; BARBAS, C. Multiplatform analytical methodology for metabolic fingerprinting of lung tissue. **Analytical Chemistry**, v. 85, p. 10941–10948, 2013.

NEWGARD, C. B. Interplay between lipids and branched-chain amino acids in development of insulin resistance. **Cell Metabolism**, v. 15, n. 5, p. 606–614, 2013.

NGUYEN, P. et al. High protein intake affects lean body mass but not energy expenditure in nonobese neutered cats. **Journal of Nutrition**, v. 134, p. 2084S–2086S, 2004.

NRC. **NRC - National Research Council. Nutrient Requirements of Dogs and Cats**. Washington, DC: National Academies Press, 2006.

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.

RAMI, B.; ZIDEK, T.; SCHOBBER, E. Influence of a β -glucan-enriched bedtime snack on nocturnal blood glucose levels in diabetic children. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 32, p. 34–36, 2001.

SHE, P. et al. Obesity-related elevations in plasma leucine are associated with alterations in enzymes involved in branched-chain amino acid metabolism. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v. 293, p. E1552–E1563, 2007.

TAPOLA, N. et al. Glycemic responses of oat bran products in type 2 diabetic patients. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 15, p. 255–261, 2005.

THEODORO, S. de S. et al. Effects of the solubility of yeast cell wall preparations on their potential prebiotic properties in dogs. **PLoS ONE**, v. 14, n. 11, p. e0225659, 2019.

TIWARI, U.; CUMMINS, E. Meta-analysis of the effect of β -glucan intake on blood

cholesterol and glucose levels. **Nutrition**, v. 27, p. 1008–1016, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.nut.2010.11.006>>.

VALLEJO, M. et al. Plasma fingerprinting with GC-MS in acute coronary syndrome. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 394, p. 1517–1524, 2009.

VAN DE VELDE, H. et al. The cat as a model for human obesity: Insights into depot-specific inflammation associated with feline obesity. **British Journal of Nutrition**, v. 110, n. 7, p. 1326–1335, 2013.

VETVICKA, V.; OLIVEIRA, C. $\beta(1-3)(1-6)$ -D-glucans Modulate Immune Status and Blood Glucose Levels in Dogs. **British Journal of Pharmaceutical Research**, v. 4, n. 8, p. 981–991, 2014.

WANG, L.; FOLSOM, A. R.; ECKFELDT, J. H. Plasma fatty acid composition and incidence of coronary heart disease in middle aged adults: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 78, p. 91–98, 2003.

WANG, T. J. et al. Metabolite profiles and the risk of developing diabetes. **Nature Medicine**, v. 17, n. 4, p. 448–454, 2011.

WÜRTZ, P. et al. Metabolic signatures of insulin resistance in 7,098 young adults. **Diabetes**, v. 61, p. 1372–1380, 2012.

XIE, B.; WATERS, M. J.; SCHIRRA, H. J. Investigating potential mechanisms of obesity by metabolomics. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 2012, p. 805683, 2012.

CAPÍTULO 4

Efeitos da suplementação de beta-glucanos sobre a microbiota retal de gatos obesos e em escore de condição corporal ideal

4. EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE BETA-GLUCANOS SOBRE A MICROBIOTA RETAL DE GATOS OBESOS E EM ESCORE DE CONDIÇÃO CORPORAL IDEAL

4.1. RESUMO

A obesidade é definida pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como sendo o acúmulo anormal ou excessivo de gordura que pode prejudicar o bem-estar e a vida saudável. Dentre suas consequências, uma possibilidade levantada mais recentemente é a disbiose da microbiota intestinal. Apesar dos esforços em se tratar a obesidade, nos últimos anos sua prevalência em pessoas e animais de estimação vêm aumentando, e a dificuldade de tratamento na espécie felina é um grande desafio na clínica. Com o propósito de amenizar os efeitos negativos associados à obesidade, aditivos e nutracêuticos vêm sendo estudados no âmbito da nutrição animal. Dentre eles, destacam-se os beta-glucanos (BG), que podem alterar o metabolismo da glicose e lipídeos, além de proporcionarem possível efeito na microbiota intestinal de animais. O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos da inclusão de 0,06% de BG na dieta de gatos obesos e em escore de condição corporal (ECC) sobre a microbiota retal. Foram selecionados 20 gatos, machos e fêmeas, SRD, com idades entre 1 e 7 anos, na rotina de uma clínica veterinária particular. Os animais foram divididos em dois grupos: Grupo obeso [(OB), ECC 8 e 9/9, gordura corporal média de $28,8 \pm 7,9\%$; determinada pelo método de diluição de isótopos de deutério] e grupo controle [(CO) ECC 5/9 e gordura corporal média de $17,4 \pm 6,6\%$]. Todos os animais foram alimentados por 21 dias (T0) com um Alimento controle (AC - 0,0% de BG) e depois por 90 dias (T90) com um alimento teste (AT - mesma composição do AC, porém com adição de 0,06% de BG). Amostras de *swab* retal foram coletadas em T0 e T90 para avaliação da microbiota. O DNA total foi extraído das fezes e estas foram sequenciadas pela metodologia Illumina. As abundâncias observadas foram avaliadas usando um modelo linear generalizado, considerando distribuição binomial e usando a função de link logit, a comparação entre os grupos e o efeito da dieta foi realizado pelo teste ANOVA com medidas repetidas no tempo no SAS. Não foi encontrada diferença entre os índices de alfa e beta diversidade levantados nesse estudo. Não foi observado efeito principal de tratamento (entre os grupos GO x GC; $p > 0,05$), houve efeito principal de tempo (efeito da suplementação de beta glucano T0 x T90; $p < 0,05$) para o filo *Bacteroidetes*, para as famílias *Campylobacteraceae* e

Peptostreptococcaceae, e para o gênero *Campylobacter*. Por fim, houve efeito de interação (tratamento x tempo; $p < 0,05$) para os filos: *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Fusobacteria* e *Proteobacteria*; para as famílias: *Bacillales*, *Bacteroidaceae*, *Bacterioidales*, *Desulfovibrionaceae*, *Enterobacteriaceae*, [*Firmicutes*], *Fusobacteriaceae*, *Oxalobacteraceae*, *Pasteurellaceae*, *Prevotellaceae* e *Veillonellaceae*; para os gêneros: *Bacillales*, *Bacterioidales*, *Bacterioides*, *Desulfovibrio*, [*Enterobacteriaceae*], *Firmicutes*, [*Fusobacteriaceae*], *Macellibacteroides*, [*Oxalobacteraceae*], [*Pasteurellaceae*], *Prevotella*, *Succinispira* e [*Veillonellaceae*]. Conclui-se que a microbiota retal de indivíduos obesos e em ECC ideal não difere, porém a suplementação de BG mostrou-se efetiva em modular a microbiota desses indivíduos.

Palavras-chave: Felinos. Illumina. Macrogard. Microbioma. Obesidade.

4.2. INTRODUÇÃO

A obesidade é definida como o acúmulo excessivo de tecido adiposo no corpo (BURKHOLDER; TOLL, 2000), resultado de um desequilíbrio prolongado entre o aumento relativo do consumo energético e a diminuição do mesmo, muitas vezes associado à baixa atividade física (KOPELMAN, 2000). Vários autores descreveram uma alta frequência de obesidade e sobrepeso em animais de companhia ao redor do mundo (LUND et al., 2005; MCGREEVY et al., 2005; COLLIARD et al., 2006; MAO et al., 2013; MONTOYA-ALONSO et al., 2017; PORSANI et al., 2020)

A fisiopatologia da obesidade é complexa e não totalmente descrita. Em animais de companhia, o desequilíbrio nutricional tem sido a causa mais comum e está relacionado principalmente ao excesso da ingestão de calorias e baixo gasto energético, o que resulta em um balanço energético positivo crônico (ZORAN, 2010; OSTO; LUTZ, 2015). O excesso de peso corporal implica em inúmeros efeitos negativos para a saúde, além de ser fator de risco para diversas doenças, como alterações ortopédicas (BROWN; CONZEMIUS; SHOFER, 1996; KEALY et al., 1997, 2000), cardiovasculares (EDNEY; SMITH, 1986; ROCHA et al., 2007; PEREIRA-NETO et al., 2014; PIANTEDOSI et al., 2016; TROPF et al., 2017), respiratórias (HENDRICKS, 1992; GERMAN, 2006; BACH et al., 2007; PEREIRA-NETO et al., 2018) e metabólicas, como resistência à insulina (BRUNETTO et al., 2011a) e hiperlipidemia (JEUSETTE et al., 2005; BRUNETTO et al., 2011b), distúrbios imunológicos (VENDRAMINI et al., 2020) e, mais recentemente, a obesidade tem sido atribuída a causar alterações no microbioma intestinal (HANDL et al., 2013; MACEDO et al., 2022).

Poucos estudos revelaram que a microbiota intestinal do hospedeiro está diretamente associada a alterações nas funções metabólicas e, conseqüentemente, à obesidade (LEY et al., 2005). Em um trabalho pioneiro realizado por Kieler et al. (2016) foi comparada a microbiota de gatos magros e obesos utilizando a técnica de PCR. Nesse estudo, os autores observaram menor contagem média de *Clostridium cluster XIVa*, *Bacteroidetes*, *Fusobacteria* e *Epsilonproteobacteria* em gatos com sobrepeso e obesos em comparação com gatos magros. Além disso, os gatos com sobrepeso e obesos tiveram maiores contagens médias dos grupos *Clostridium cluster IV* e *Enterobacteriaceae*. Já Pallotto et al. (2018) avaliaram as mudanças na microbiota de gatos ao longo do programa de perda de peso. Neste

estudo, abundância relativa de *Actinobacteria* aumentou e *Bacteroidetes* diminuiu com a perda de peso (PALLOTTO et al., 2018). Mais recentemente Tal et al. (2020) compararam a microbiota fecal de gatos magros e obesos, antes e após início do programa de perda e peso, utilizando técnicas mais avançadas de sequenciamento (Illumina). Eles observaram que de maneira geral, a abundância microbiana fecal foi maior em gatos obesos do que em magros, e a biodiversidade foi minimamente afetada durante a fase inicial de um plano de perda de peso (TAL et al., 2020).

Apesar dos esforços em se tratar a obesidade, nos últimos anos sua prevalência em pessoas e animais de estimação vêm aumentando e a dificuldade de tratamento na espécie felina é um grande desafio na clínica (LARSEN; VILLAVERDE, 2016). Por esse motivo, a utilização de aditivos os quais possam minimizar os impactos da obesidade são importantes, inclusive para o programa de perda de peso, uma vez que gatos demoram mais tempo para chegar ao peso meta quando comparado com cães por exemplo (GERMAN, 2006). Os efeitos dos BG sobre a obesidade e microbiota intestinal já tiveram estudados em várias espécies (DRZIKOVA; DONGOWSKI; GEBHARDT, 2005; SHEN et al., 2012; JAYACHANDRAN et al., 2018).

A administração de BG foi avaliada em ratos após consumo durante três, seis e seta semanas, os ratos que consumiram o aditivo apresentaram maior quantidade de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*. Os resultados também sugerem que altas doses são mais efetivas que baixas doses e que BG derivados da aveia são mais eficazes em comparação com BG da cevada (SHEN et al., 2012). Em outro estudo, ratos receberam duas dietas, uma contendo BG derivados da aveia e outra sem BG, os resultados demonstraram que as concentrações de ácidos graxos de cadeia curta foram maiores na dieta contendo aveia quando comparado com o grupo controle, além disso, a adição de BG aumentou as concentrações de *Bifidobacteria* (DRZIKOVA; DONGOWSKI; GEBHARDT, 2005). Um ensaio clínico em humanos foi realizado com 52 voluntários saudáveis para examinar os efeitos da baixa dose de BG de cevada, que aumentaram a contagem de *Bifidobactérias* (JAYACHANDRAN et al., 2018). Os efeitos do BG sobre a microbiota gatos obesos ainda não foram estudados. Portanto, o objetivo deste estudo foi comparar a microbiota de gatos obesos e em escore ideal, antes e após suplementação de BG.

4.3. MATERIAL E MÉTODOS

4.3.1. Local, instalações e animais

O experimento foi conduzido nas dependências do Centro de Pesquisa em Nutrologia de Cães e Gatos do Departamento de Nutrição e Produção Animal (VNP) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP), em Pirassununga, no período de janeiro a setembro de 2019. Todo o protocolo experimental deste projeto foi conduzido de acordo com os princípios éticos de experimentação animal e, sob aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ/USP) CEUA nº 8713140219.

Foram utilizados 20 gatos machos e fêmeas, sem raça definida e com idade entre 1 e 7 anos, os quais foram divididos em grupos de acordo com o ECC, proposto por Laflamme (1997). O grupo controle (CO) foi constituído por 10 gatos com ECC ideal (média de $2,14 \pm 2,14$ anos e $3,89 \pm 0,59$ kg), e o grupo obeso (OB) foi constituído por 10 animais com ECC 8 e 9 (média de $2,83 \pm 1,06$ anos e $5,78 \pm 1,07$ kg) sem comorbidades clínicas. Além do ECC, os animais passaram por avaliação da composição corporal, que foi realizada por meio do método de diluição de isótopos de deutério (FERRIER et al., 2002; BRUNETTO et al., 2011a).

Os animais foram selecionados na rotina da clínica veterinária Pet Stop, localizada em Pirassununga, São Paulo. Estes tiveram sua higidez avaliada previamente por meio de exame físico, hemograma e exames bioquímicos. Gatos com alterações laboratoriais ou sinais clínicos compatíveis com doenças endócrinas foram avaliados por meio de exames hormonais e, se positivos, não foram incluídos no estudo. Durante todo o período experimental, os gatos foram mantidos em seus domicílios e manejados por seus tutores.

4.3.2. Dietas experimentais

Os animais dos grupos OB e CO foram alimentados pelo período de 21 dias com uma dieta experimental de manutenção sem a adição de BG (alimento controle - AC), com o intuito de padronizar o alimento para a realização das coletas basais a fim de evitar interferências ocasionadas por divergência no consumo de nutrientes.

Após o período de padronização de dieta ocorreram as coletas e procedimentos do tempo inicial (T0) e na sequência, os animais de ambos os grupos passaram a receber a dieta experimental com adição de 1g/kg de Macrogard® (com 60% de BG)

durante 90 dias (dieta experimental: BG), que resulta na adição de 0,06% de BG na dieta final. As dietas foram confeccionadas na Fábrica da empresa Premier Pet, localizada em Dourado – SP, seguindo as recomendações da AAFCO (2019) para gatos adultos. A adição de 0,1% de Macrogard® no alimento teste (AT) ocorreu em substituição ao milho, presente no AC. A composição das dietas e do Macrogard® (Biorigin Brasil, Lençóis Paulista, SP, Brasil) estão respectivamente dispostos nas Tabelas 6 e 7.

Tabela 6: Composição química analisada e ingredientes das dietas experimentais.

Item (%)	Dietas	
	CO ¹	BG ²
Matéria seca	94,61	95,1
	Composição química	
Matéria mineral	6,92	6,36
Proteína bruta	48,72	47,38
Extrato etéreo em hidrólise ácida	15,62	16,44
Fibra bruta	8,76	7,11
Extrato não-nitrogenados	19,98	22,71
Cálcio	1,04	1,02
Fósforo	0,93	0,84
Energia metabolizável (kcal/g) ³	4,021	4,021

Legenda: ¹CO: Alimento controle, sem a adição de beta glucanos; ²BG: Alimento teste, contendo 0,06% de beta-glucanos proveniente da adição do aditivo Macrogard®.

Ingredientes: Farinha de vísceras de frango, proteína isolada de suíno, ovo desidratado, farelo de glúten de milho 60*, milho integral moído*, quirera de arroz, polpa de beterraba, aveia, celulose, fibra de cana-de-açúcar, gordura de frango, óleo de peixe, aditivo acidificante, antioxidantes BHA e BHT (0,012%), cloreto de potássio, cloreto de sódio, DL-metionina, extrato de yucca (0,06%), frutoligossacarídeos, hidrolisado de frango, levedura seca de cervejaria, L-carnitina, L-lisina, mananoligossacarídeos, parede celular de levedura, sulfato de glicosamina, taurina, vitamina A, vitamina B12, vitamina C, vitamina D3, vitamina E, vitamina K3, ácido fólico, ácido pantotênico, biotina, cloreto de colina, niacina, piridoxina, riboflavina, tiamina, ferro aminoácido quelato, iodeto de potássio, manganês aminoácido quelato, proteinato de selênio, sulfato de cobre, sulfato de ferro, sulfato de zinco, zinco aminoácido quelato. *Contém milho e farelo de glúten de milho 60 transgênicos (espécies doadoras de gene: *Bacillus thuringiensis*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Streptomyces viridochromogenes*). A dieta tratamento possui inclusão de 0,01% de beta glucanos em sua composição em substituição ao milho.

Energia metabolizável³: Valor obtido pelo fabricante no rótulo da embalagem.

Tabela 7: Características físico-químicas do aditivo contendo beta-glucanos utilizado na dieta experimental (Macrogard®).

Glucanos g/100g (mín)	60,0
Gordura g/100g (máx)	18,0
Proteína (N x 6,25) g/100g (máx)	8,0
Matéria mineral g/100g (máx)	10,0
Sólidos totais (%)	>90,0
Capacidade de retenção de água	7,4
Índice de solubilidade em água	7,9

¹Biorigin Brasil, Lençóis Paulista, SP, Brasil.

4.3.3. Protocolo experimental

Inicialmente foi realizada triagem, na qual os animais passaram por exame físico completo, avaliação nutricional, avaliação de ECC e de escore de massa muscular (EMM), hemograma e perfil bioquímico [ureia, creatinina, fosfatase alcalina, aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT)] para garantir higidez. Foram incluídos no estudo somente animais cujos resultados destes parâmetros se encontraram dentro do intervalo de referência para a espécie. Foram descartadas comorbidades que pudessem resultar em obesidade para que os gatos participantes do projeto fossem obesos apenas como resultado do balanço energético positivo induzido pelo excesso de alimentação. Ao longo do projeto, os animais permaneceram nas residências dos seus respectivos tutores.

Os animais selecionados pertencentes ao grupo A e B passaram a ser alimentados com o AC. A necessidade energética de manutenção (NEM) foi calculada para cada animal de acordo com o NRC (2006) e FEDIAF (2018) para que os mesmos não alterassem o peso corporal. Dessa forma, a equação utilizada para o cálculo da necessidade energética diária dos gatos magros foi a de [NEM (Kcal/dia) = 100 x (Peso corporal)^{0,67}] e, para os gatos obesos: [NEM (Kcal/dia): 130 x (Peso corporal)^{0,4}]. A quantidade diária de alimento fornecida para cada animal foi determinada considerando-se a energia metabolizável estimada dos AC e AT. O alimento foi oferecido duas vezes ao dia pelos tutores, mediante pote medida fornecido para o estudo, com a quantidade pesada e devidamente marcada no recipiente medidor por 21 dias.

Passado o período inicial de adaptação, uma nova coleta de sangue foi realizada, entretanto dessa vez, para realização da análise de composição corporal (BRUNETTO et al., 2011a) e *swab* retal para análise de microbiota. Depois disso, os

gatos obesos passaram a ingerir a dieta experimental contendo 1g/kg de Macroguard® pelo período de 90 dias. Ao final deste período de ingestão, uma nova coleta de sangue e *swab* retal foram realizadas para reavaliar os parâmetros citados acima. Durante o experimento, os animais foram pesados a cada 15 ou 20 dias (conforme a disponibilidade dos proprietários) para acompanhamento de peso e realização de possíveis ajustes, caso necessário, já que os mesmos não podiam perder ou ganhar peso durante o período experimental.

4.3.4. Análise de composição corporal

A composição corporal foi realizada pelo método de diluição de isótopos de deutério. Para tal, após jejum alimentar de 8 horas, foi realizada uma coleta de 2mL de sangue e logo em seguida foi administrado uma solução de óxido de deutério diluído a 10% por via subcutânea na dose de 1ml/Kg de peso corporal. Uma nova amostra de 2mL de sangue foi coletada duas horas após a inoculação de óxido de deutério. A extração do soro foi realizada após centrifugação, o enriquecimento por deutério das amostras foi determinado por espectrometria de massa de razão isotópica (IRMS, Calixto system – Sercon Ltda, Gateway, Reino Unido) no Laboratório de Espectrometria de Massas de Razão Isotópica do Departamento de Clínica Médica da faculdade de Medicina de Ribeirão Preto -SP. A metodologia utilizada para a determinação da composição corporal dos gatos foi de acordo com Ferrier et al. (2002) e adaptada por Brunetto et al.(2011a).

Inicialmente a quantidade de água corpórea foi quantificada e então calculou-se a quantidade de massa magra total e por diferença determinou-se a quantidade de massa gorda, todos expressos em porcentagem. Esta avaliação foi efetuada em T0 e em T90 para verificar a manutenção da composição corporal dos gatos. Dessa forma, as alterações dos parâmetros avaliados puderam ser atribuídas ao consumo dos BG, e não a variações de massa gorda.

4.3.5. Análise de microbiota

Para as análises de microbiota, foram coletadas amostras via *swab* retal estéril. Posteriormente, o *swab* foi armazenado dentro de criotubo contendo solução Tris de EDTA estéril. Os criotubos contendo as amostras foram centrifugados em centrífuga refrigerada a velocidade de 2.500rpm na temperatura de 5°C, por 10 minutos e posteriormente congelados a -80°C, segundo metodologia adaptada de Kieler et al. (2016). As amostras foram enviadas ao laboratório BPI, localizado em

Botucatu, São Paulo, Brasil e o DNA total de cada amostra foi extraído com o kit ZR Fungal/Bacterial DNA MiniPrep™ (Zymo Research code D6005) de acordo com o protocolo do fabricante.

As reações de amplificação do gene 16S rRNA foram realizadas em amostras triplicadas, e um volume final de 20µL foi obtido, contendo 10µL de GoTaq® Colorless Master Mix 2x (Promega, USL), 0,3µM de oligonucleotídeo direto e 0,3µM de oligonucleotídeo reverso, 1µL de DNA genômico e água ultrapura estéril suficiente para fazer até 20µL. O programa de amplificação consistiu em desnaturação inicial a 95°C por 5 min., seguida de 29 ciclos de desnaturação a 95°C por 30 seg., hibridização a 55°C por 1 min; extensão a 72°C por 1 min. 30 seg. e uma extensão final a 72°C por 10 min. As reações de amplificação foram conduzidas em um termociclador Veriti™ Thermal Cycler (Applied Biosystems). Para amplificação, o primer direto universal utilizado foi (5' - ATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC TATGGTAATT GT GTGCCAGCMGCCGCGGTAA - 3'). Após a reação de PCR, a amplificação de cada amostra foi confirmada por eletroforese em gel de agarose 2% corado com Gel Red (Uniscience). ~ 300bp (tamanho do amplicon).

As PCRs foram submetidas a etapas de purificação utilizando esfera magnética Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter), para remoção de fragmentos muito pequenos da população total de moléculas e primers e reação. Após essa etapa, a quantificação foi realizada utilizando a metodologia de PCR em tempo real em termociclador QuantStudio 3 Real Time (Applied Biosystems) e Kit KAPA-KK4824 (Library Quantification Kit - Illumina/Universal), tudo conforme protocolo do fabricante.

Um pool equimolar de DNA foi gerado pela normalização de todas as amostras para 3 nM para sequenciamento, que foi realizado usando o sistema de sequenciamento Illumina MiSeq de última geração (Sequenciamento Illumina®) e o kit de reagentes MiSeq V2 Micro 300 ciclos - leitura de 2 x 150 bp.

As análises foram realizadas usando a plataforma QIIME2 versão 2019.10. As sequências foram filtradas de qualidade e agrupadas em unidades taxonômicas (OTUs) usando 97% de similaridade entre as sequências. Uma sequência representativa de cada OTU foi usada para construir uma árvore filogenética que foi usada nas análises de diversidade beta. A proporção de cada OTU em cada amostra foi usada para análises de diversidade alfa e beta. Foram calculados os índices de

diversidade alfa: índice de diversidade de Faith (índice quantitativo que mede a riqueza de cada amostra); quantidade de OTUs em cada amostra e Equidade (ou Equidade de Pielou; uma medida da uniformidade de cada amostra). As sequências também foram comparadas a um banco de dados (Green Genes, 13.5) para análise taxonômica.

4.3.6. Análise estatística

As abundâncias observadas para cada Filo e em cada animal foram avaliadas segundo um Modelo Linear Generalizado, considerando distribuição binomial e uso da função de ligação *logit*. O modelo incluiu efeitos fixos de tratamento (magro vs obesos), Tempo (T0 vs T90) e interação Grupo x Tempo, além dos efeitos aleatórios. Para essas análises foram utilizado o procedimento PROC GLIMMIX, também do SAS.

Os dados obtidos de composição corporal foram avaliados com o uso do software Statistical Analysis System (SAS, versão 9.4). Primeiramente, foram verificadas a normalidade dos resíduos pelo teste de SHAPIRO-WILK e a homogeneidade das variâncias comparadas pelo teste de Levine. Após verificação das premissas estatísticas, foi realizada análise de variância com medidas repetidas no tempo pelo PROC MIXED, valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

Os dados foram avaliados segundo modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu_i + R_j + T_k + T_jR_k + e_{ijk}$$

Em que: Y_{ijk} = variável dependente; μ_i média geral; R_k = efeito fixo de tratamento; T_n = efeito fixo de tempo; T_nR_k = efeito fixo da interação entre tempo e tratamento; e_{ijk} = erro residual.

4.4. RESULTADOS

Foram excluídos dois gatos de um mesmo tutor, um pertencente ao OB e o outro ao CO por dificuldades de participação nas coletas experimentais. Ao final do projeto, 9 animais compuseram cada um dos dois grupos experimentais.

Os gatos obesos apresentaram maior quantidade de massa muscular (em kg), de massa gorda (em kg e %), ECC e peso corporal quando comparado ao grupo não obeso (Tabela 8; $p < 0,05$). Os grupos OB e CO apresentaram aumento de massa magra (em Kg e %) na coleta de T90, após o consumo do alimento contendo BG (Tabela 8; $p < 0,05$).

Tabela 8: Média dos valores de massa magra (MM) e de massa gorda (MG) em gatos obesos e de escore de condição corporal (ECC) ideal, antes e depois da suplementação de 0,06% de beta-glucanos.

variáveis	tratamento		EPM ⁵	valor de p		
	CO ³	OB ⁴		Tratamento	tempo	Trat*tempo
ECC ¹	5.05	8.66	0.124	<0.0001	0.3322	0.3322
PC (kg) ²	3.86	5.84	0.296	0.0002	0.6799	0.2123
MM (Kg) ⁶	3.10	4.08	0.189	0.0020	0.0244	0.8335
MM (%) ⁶	82.58	70.53	2.015	0.0006	0.0298	0.5112
MG (Kg) ⁷	0.68	1.72	0.164	0.0004	0.1058	0.8728
MG (%) ⁷	17.41	29.46	2.015	0.0006	0.0298	0.5112

¹ECC: Escore de condição corporal; ²PC: Peso Corporal; ³CO: Grupo controle, com escore de condição corporal 5; ⁴OB: Grupo obeso, com escore de condição corporal 8 e 9; ⁵EPM: Erro padrão da média; ⁶MM: Massa magra; ⁷MG: Massa gorda.

Os resultados obtidos da técnica T-RFLP (diversidade e riqueza), 36 amostras fecais (9 amostras do OB no T0, 9 amostras do OB no T90, 9 amostras do CO no T0 e 9 amostras do CO no T90) foram escolhidas para a caracterização da comunidade bacteriana, que foram sequenciadas em “multiplexação” na plataforma MiSeq Illumina. Neste estudo foram geradas 1.384.661 sequências e estas foram agrupadas em OTUs utilizando o algoritmo UPARSE-OTU e 97% de similaridade. A média de OTUs e sequências geradas por amostra foi de $64,85 \pm 19,41$ e $46,15 \pm 8,39$ respectivamente.

A partir dos índices de diversidade alfa avaliados neste estudo, não foram encontradas diferenças na riqueza de microrganismos através do índice de diversidade filogenética de Faith, e contagem de OTUs entre os tempos T0 e T90 ($P > 0,05$). Além disso, o índice de equitabilidade de Pielou-Evenness também não mostrou diferença de suplementação nos tempos T0 e T90 ($P > 0,05$) (Figuras 4, 5 e 6).

Figura 4: Análise de alfa diversidade pelo índice de faith dos grupos experimentais

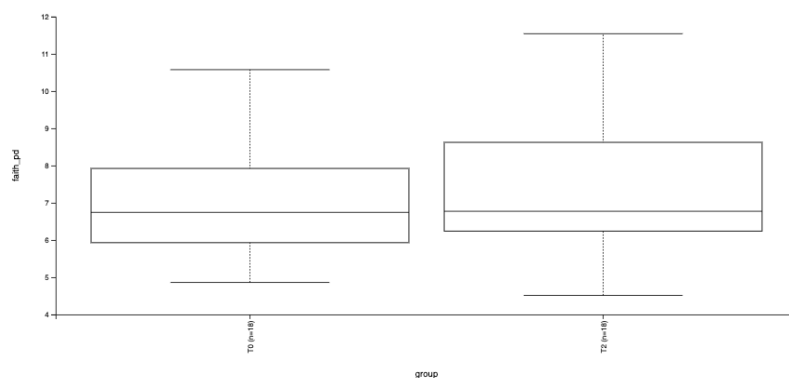


Figura 5: Análise de Pairwise permanova dos grupos experimentais

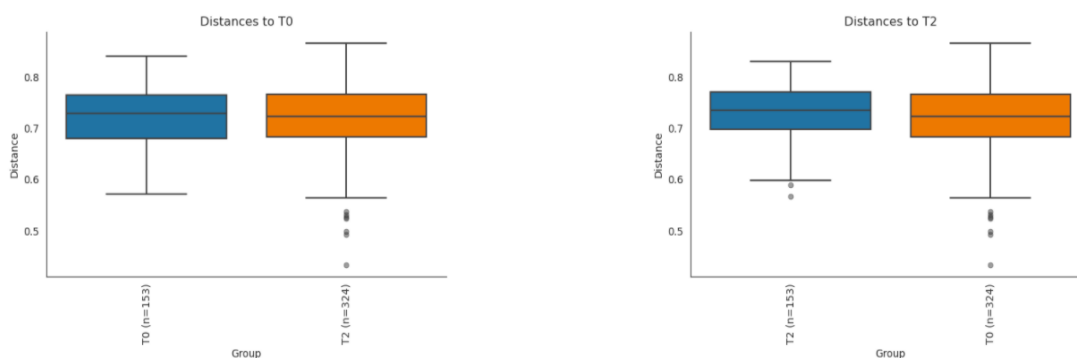
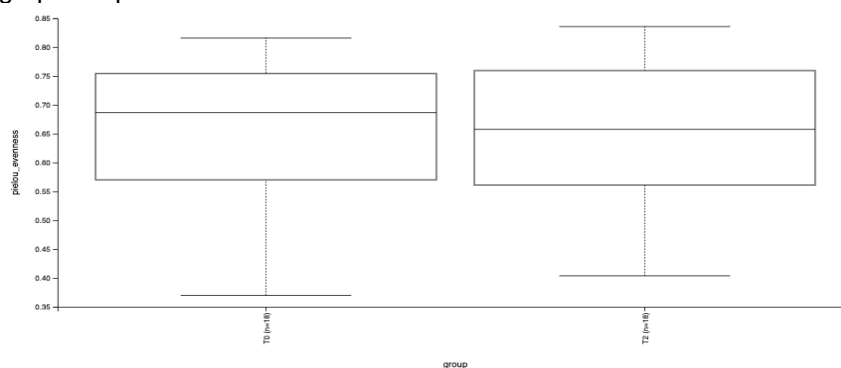
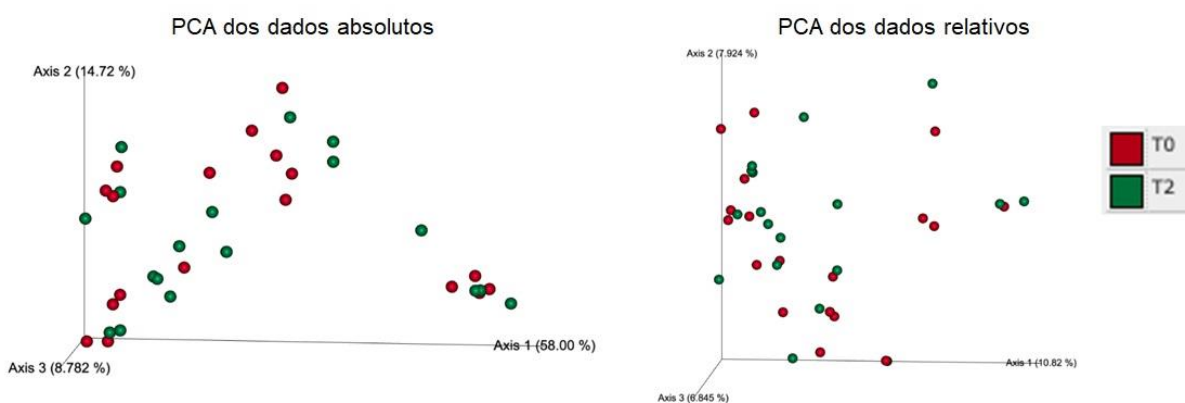


Figura 6: Análise de alfa diversidade pelo índice de evenness dos grupos experimentais



A diversidade beta foi avaliada por análise de componentes principais (PCA) dos dados absolutos e relativos (Figura 7), o gráfico mostra uma tendência de agrupar tratamentos experimentais no mesmo eixo. A análise foi confirmada por PERMANOVA e não foram encontradas diferenças no microbioma entre os grupos ($P > 0,05$).

Figura 7: Gráficos de PCAs dos dados absolutos e relativos



As comparações dos táxons entre os efeitos de tratamentos (OB x CO) e de suplementação (tempos T0 x T90) foram realizadas quando os táxons referentes

foram representados em todos os grupos, de modo que 5 filos, 17 famílias e 17 gêneros tiveram valores válidos para análise estatística.

Em relação ao filo, família e gênero, respectivamente, *Bacteroidetes* (71%), *Bacteroidaceae* (32%) e *Bacterioides* (32%) apresentaram as maiores abundâncias relativas. Por outro lado, *Actinobacteria* (1%), *Erysipelotrichaceae* (0,11%) e *Clostridiales* (0,09%) apresentaram as menores abundâncias relativas. Os resultados para cada taxa de bactérias estão descritos nas Tabelas 9, 10 e 11.

Não foi observado efeito principal de tratamento (entre os grupos GO x GC; $p > 0,05$) para nenhum dos táxons estudados, houve efeito principal de tempo (efeito da suplementação de beta glucano T0 x T90; $p < 0,05$) para o filo *Bacteroidetes*, para as famílias *Campylobacteraceae* e *Peptostreptococcaceae*, e para o gênero *Campylobacter* (Figura 8). Por fim, houve efeito de interação (tratamento x tempo; $p < 0,05$) para os filos: *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Fusobacteria* e *Proteobacteria*; para as famílias: *Bacillales*, *Bacteroidaceae*, *Bacterioidales*, *Desulfovibrionaceae*, *Enterobacteriaceae*, *[Firmicutes]*, *Fusobacteriaceae*, *Oxalobacteraceae*, *Pasteurellaceae*, *Prevotellaceae* e *Veillonellaceae*; para os gêneros: *Bacillales*, *Bacterioidales*, *Bacterioides*, *Desulfovibrio*, *[Enterobacteriaceae]*, *Firmicutes*, *[Fusobacteriaceae]*, *Macellibacteroides*, *[Oxalobacteraceae]*, *[Pasteurellaceae]*, *Prevotella*, *Succinispira* e *[Veillonellaceae]* (Figuras 9, 10 e 11).

Figura 9: Efeitos principais de tempo (T0 x T90) nas abundâncias relativas de filo, famílias e gênero que não apresentaram interação entre tempo e tratamento.

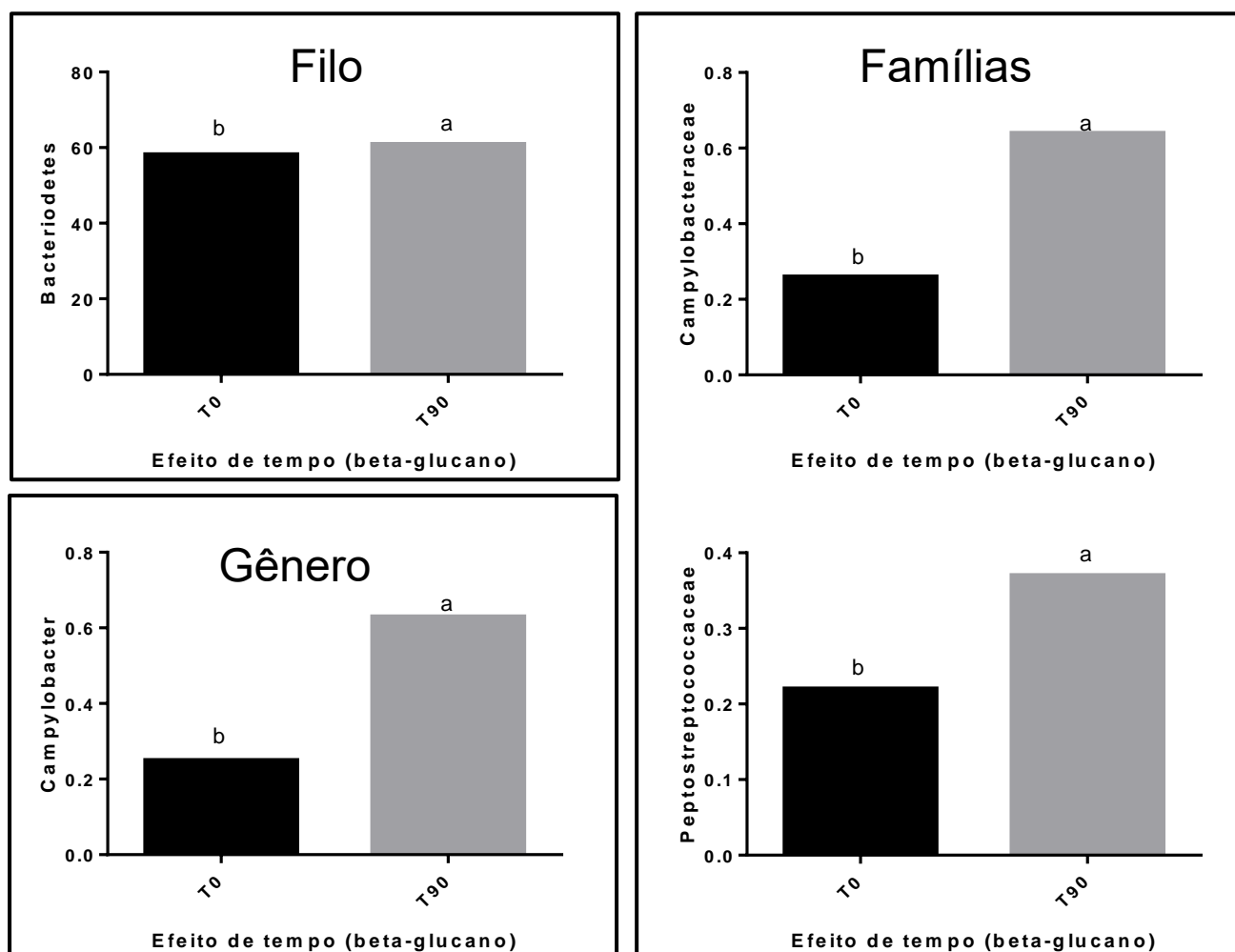


Tabela 9: Abundância relativa de filos encontrados nos grupos (OB x CO) e nos tempos (T0 x T90) experimentais.

Filo	tempo	Grupos		Valor de P		
		CO	OB	Grupo	Tempo	Interação
		média±dp	média±dp			
<i>Actinobacteria</i>	T0	1,31±0,70 ^{A; a}	0,31±0,16 ^{A; b}	0,2833	0,0019	<0,0001
	T90	0,92±0,49 ^{A; b}	0,71±0,36 ^{A; a}			
<i>Bacteroidetes</i>	T0	46,40±10,78 ^{A; b}	69,02±9,27 ^{A; b}	0,1456	<0,0001	0,5391
	T90	49,45±10,83 ^{A; a}	71,25±8,88 ^{A; a}			
<i>Firmicutes</i>	T0	8,54±2,23 ^{A; a}	5,23±1,41 ^{A; a}	0,4193	<0,0001	<0,0001
	T90	5,76±1,55 ^{A; b}	5,04±1,37 ^{A; a}			
<i>Fusobacteria</i>	T0	0,74±0,21 ^{A; a}	0,75±0,18 ^{A; a}	0,5182	0,0085	0,0096
	T90	0,46±0,13 ^{A; b}	0,74±0,18 ^{A; a}			
<i>Proteobacteria</i>	T0	36,36±12,52 ^{A; a}	18,65±8,21 ^{A; a}	0,2067	<0,0001	<0,0001
	T90	36,73±12,57 ^{A; a}	16,19±7,34 ^{A; b}			

Tabela 10: Abundância relativa de famílias encontrados nos grupos (OB x CO) e nos tempos (T0 x T90) experimentais.

Família	tempo	Grupos		Valor de P		
		CO	OB	Grupo	Tempo	Interação
		média±dp	média±dp			
<i>Bacillales</i>	T0	0,48±0,28 ^{A; a}	0,36±0,19 ^{A; a}	0,8568	0,0015	0,0010
	T90	0,20±0,11 ^{A; b}	0,37±0,20 ^{A; a}			
<i>Bacteroidaceae</i>	T0	22,58±5,37 ^{A; b}	32,14±6,70 ^{A; a}	0,5414	<0,0001	<0,0001
	T90	25,06±5,77 ^{A; a}	26,13±5,93 ^{A; b}			
<i>Bacterioidales</i>	T0	3,34±3,09 ^{A; a}	2,28±2,02 ^{A; b}	0,9563	0,8294	<0,0001
	T90	2,46±2,30 ^{A; b}	3,12±2,74 ^{A; a}			

<i>Campylobacteraceae</i>	T0	0,14±0,08 ^{A; a}	0,49±0,25 ^{A; a}	0,3633	0,0110	0,0669
	T90	0,56±0,33 ^{A; a}	0,73±0,37 ^{A; a}			
<i>Clostridiales</i>	T0	0,21±0,09 ^{A; a}	0,16±0,07 ^{A; a}	0,7378	0,1008	0,9998
	T90	0,12±0,04 ^{A; a}	0,09±0,04 ^{A; a}			
<i>Desulfovibrionaceae</i>	T0	0,61±0,19 ^{A; a}	0,73±0,24 ^{A; b}	0,3220	0,0011	0,0014
	T90	0,62±0,19 ^{A; a}	1,31±0,43 ^{A; a}			
<i>Enterobacteriaceae</i>	T0	13,24±9,38 ^{A; a}	2,04±1,63 ^{A; b}	0,2207	<0,0001	<0,0001
	T90	11,68±8,42 ^{A; b}	4,75±3,69 ^{A; a}			
<i>Erysipelotrichaceae</i>	T0	0,19±0,11 ^{A; a}	0,34±0,20 ^{A; a}	0,4818	0,5689	0,1130
	T90	0,97±0,56 ^{A; a}	0,10±0,06 ^{A; a}			
<i>Firmicutes</i>	T0	1,10±0,57 ^{A; a}	0,89±0,49 ^{A; a}	0,4802	<0,0001	<0,0001
	T90	1,08±0,55 ^{A; a}	0,45±0,25 ^{A; b}			
<i>Fusobacteriaceae</i>	T0	0,74±0,21 ^{A; a}	0,75±0,18 ^{A; a}	0,5182	0,0085	0,0096
	T90	0,47±0,13 ^{A; b}	0,74±0,18 ^{A; a}			
<i>Lachnospiraceae</i>	T0	0,21±0,06 ^{A; a}	0,52±0,13 ^{A; a}	0,1331	0,7979	0,0109
	T90	0,28±0,07 ^{A; a}	0,37±0,09 ^{A; a}			
<i>Oxalobacteraceae</i>	T0	0,23±0,10 ^{A; b}	0,45±0,14 ^{A; a}	0,6533	0,0019	0,0183
	T90	0,70±0,29 ^{A; a}	0,60±0,19 ^{A; a}			
<i>Pasteurellaceae</i>	T0	1,67±0,39 ^{A; b}	14,26±11,91 ^{A; a}	0,2714	<0,0001	<0,0001
	T90	2,33±1,93 ^{A; a}	5,26±4,86 ^{A; b}			
<i>Peptostreptococcaceae</i>	T0	0,20±0,04 ^{A; a}	0,26±0,05 ^{A; a}	0,5160	0,0403	0,6819
	T90	0,35±0,11 ^{A; b}	0,38±0,08 ^{A; a}			
<i>Porphyromonadaceae</i>	T0	0,64±0,33 ^{A; a}	0,47±0,23 ^{A; a}	0,4972	0,0531	0,0279
	T90	0,66±0,35 ^{A; a}	0,32±0,16 ^{A; a}			
<i>Prevotellaceae</i>	T0	0,11±0,09 ^{A; b}	0,72±0,50 ^{A; b}	0,2167	<0,0001	<0,0001
	T90	2,03±1,64 ^{A; a}	5,25±3,50 ^{A; a}			
<i>Veillonellaceae</i>	T0	0,43±0,20 ^{A; b}	0,71±0,33 ^{A; a}	0,9792	<0,0001	<0,0001

T90 1,41±0,66^{A; a} 0,89±0,42^{A; a}

Tabela 11: Abundância relativa de gêneros encontrados nos grupos (OB x CO) e nos tempos (T0 x T90) experimentais.

Gênero	tempo	Grupos		Valor de P		
		CO	OB	Grupo	Tempo	Interação
		média±dp	média±dp			
<i>Bacillales</i>	T0	0,50±0,29 ^{A; a}	0,36±0,20 ^{A; a}	0,8568	0,0015	0,0010
	T90	0,20±0,12 ^{A; b}	0,37±0,20 ^{A; a}			
<i>Bacteroidales</i>	T0	3,34±3,10 ^{A; a}	2,28±2,02 ^{A; b}	0,9563	0,8294	<0,0001
	T90	2,46±2,30 ^{A; b}	3,12±2,74 ^{A; a}			
<i>Bacteroides</i>	T0	22,58±5,37 ^{A; b}	32,14±6,70 ^{A; a}	0,5414	<0,0001	<0,0001
	T90	25,06±5,77 ^{A; a}	26,13±5,93 ^{A; b}			
<i>Campylobacter</i>	T0	0,14±0,08 ^{A; a}	0,49±0,25 ^{A; a}	0,3633	0,0110	0,0669
	T90	0,56±0,33 ^{A; a}	0,73±0,37 ^{A; a}			
<i>Clostridiales</i>	T0	0,21±0,09 ^{A; a}	0,16±0,07 ^{A; a}	0,7378	0,1008	0,9998
	T90	0,12±0,04 ^{A; a}	0,09±0,04 ^{A; a}			
<i>Clostridium</i>	T0	0,13±0,06 ^{A; a}	0,14±0,07 ^{A; a}	0,9985	0,5951	0,7111
	T90	0,13±0,05 ^{A; a}	0,12±0,06 ^{A; a}			
<i>Desulfovibrio</i>	T0	0,48±0,17 ^{A; a}	0,73±0,25 ^{A; b}	0,1467	0,0112	0,0010
	T90	0,43±0,15 ^{A; a}	1,31±0,44 ^{A; a}			
[<i>Enterobacteriaceae</i>]	T0	12,31±8,71 ^{A; a}	2,04±1,61 ^{A; b}	0,2369	<0,0001	<0,0001
	T90	11,11±7,98 ^{A; b}	4,75±3,65 ^{A; a}			
<i>Firmicutes</i>	T0	1,10±0,57 ^{A; a}	0,89±0,49 ^{A; a}	0,4802	<0,0001	<0,0001
	T90	1,08±0,55 ^{A; a}	0,45±0,25 ^{A; b}			
[<i>Fusobacteriaceae</i>]	T0	0,74±0,21 ^{A; a}	0,75±0,18 ^{A; a}	0,5182	0,0085	0,0096
	T90	0,47±0,13 ^{A; b}	0,74±0,18 ^{A; a}			
[<i>Lachnospiraceae</i>]	T0	0,14±0,07 ^{A; a}	0,18±0,08 ^{A; b}	0,2298	0,2445	0,0584

	T90	0,10±0,05 ^{A; a}	0,52±0,22 ^{A; a}			
<i>Macellibacteroides</i>	T0	0,24±0,11 ^{A; a}	0,42±0,15 ^{A; a}	0,8181	0,2547	0,0108
	T90	0,61±0,26 ^{A; a}	0,27±0,10 ^{A; b}			
[<i>Oxalobacteraceae</i>]	T0	0,23±0,10 ^{A; b}	0,45±0,14 ^{A; a}	0,6533	0,0019	0,0183
	T90	0,70±0,29 ^{A; a}	0,60±0,19 ^{A; a}			
[<i>Pasteurellaceae</i>]	T0	1,58±1,19 ^{A; b}	22,49±16,68 ^{A; a}	0,1284	<0,0001	<0,0001
	T90	2,20±1,64 ^{A; a}	9,67±8,36 ^{A; b}			
<i>Prevotella</i>	T0	0,11±0,09 ^{A; b}	0,72±0,50 ^{A; b}	0,2167	<0,0001	<0,0001
	T90	2,04±1,64 ^{A; a}	5,25±3,50 ^{A; a}			
<i>Succinispira</i>	T0	0,33±0,26 ^{A; b}	0,65±0,52 ^{A; a}	0,7473	0,0003	0,0002
	T90	2,51±1,97 ^{A; a}	0,59±0,47 ^{A; a}			
[<i>Veillonellaceae</i>]	T0	0,19±0,10 ^{A; b}	0,44±0,23 ^{A; a}	0,9910	<0,0001	0,0001
	T90	1,03±0,53 ^{A; a}	0,45±0,23 ^{A; a}			

Figura 13: Mudanças nas abundâncias relativas de filos ao longo do tempo (T0 x T90) em diferentes tratamentos (CO x OB).

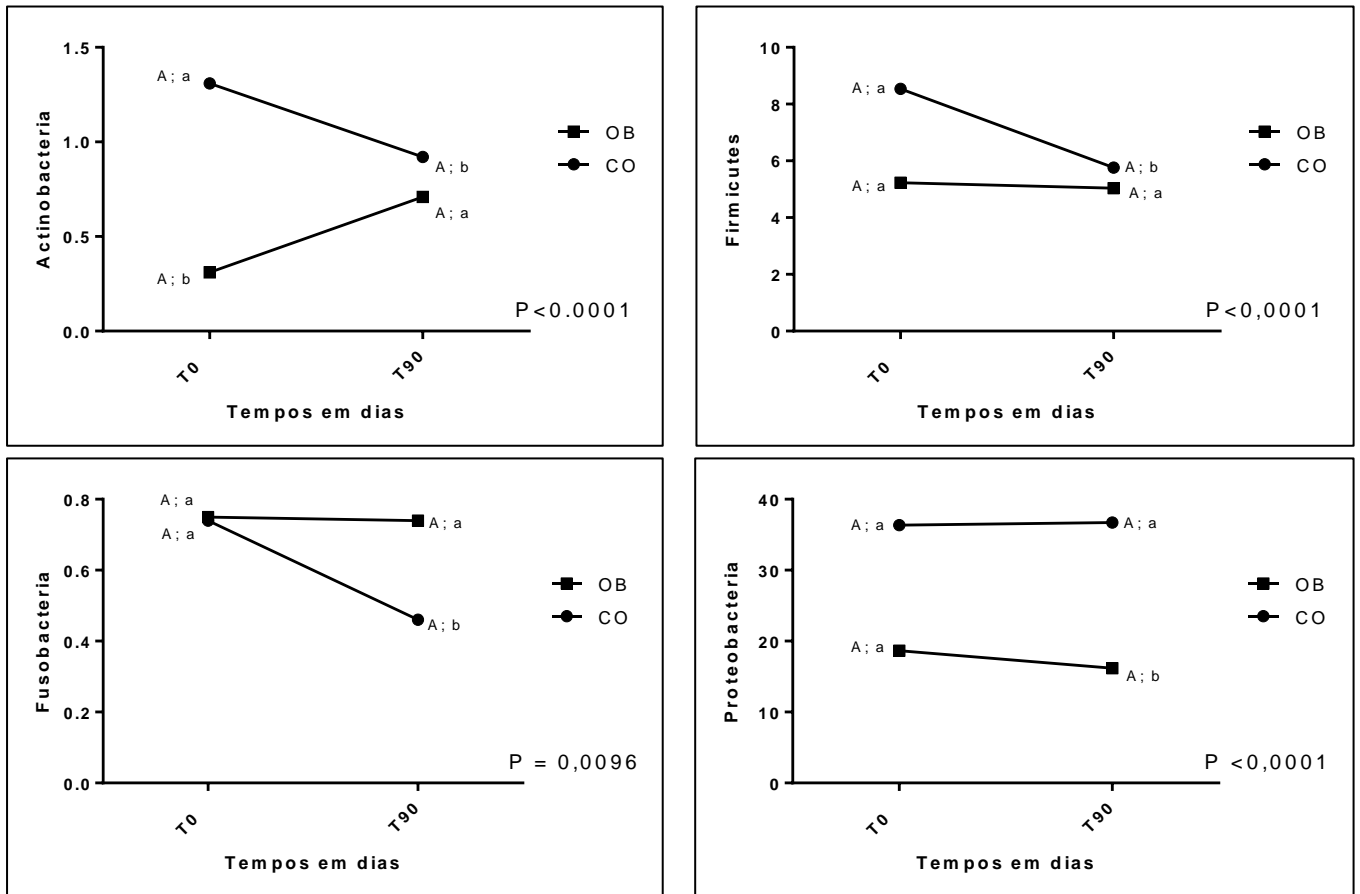
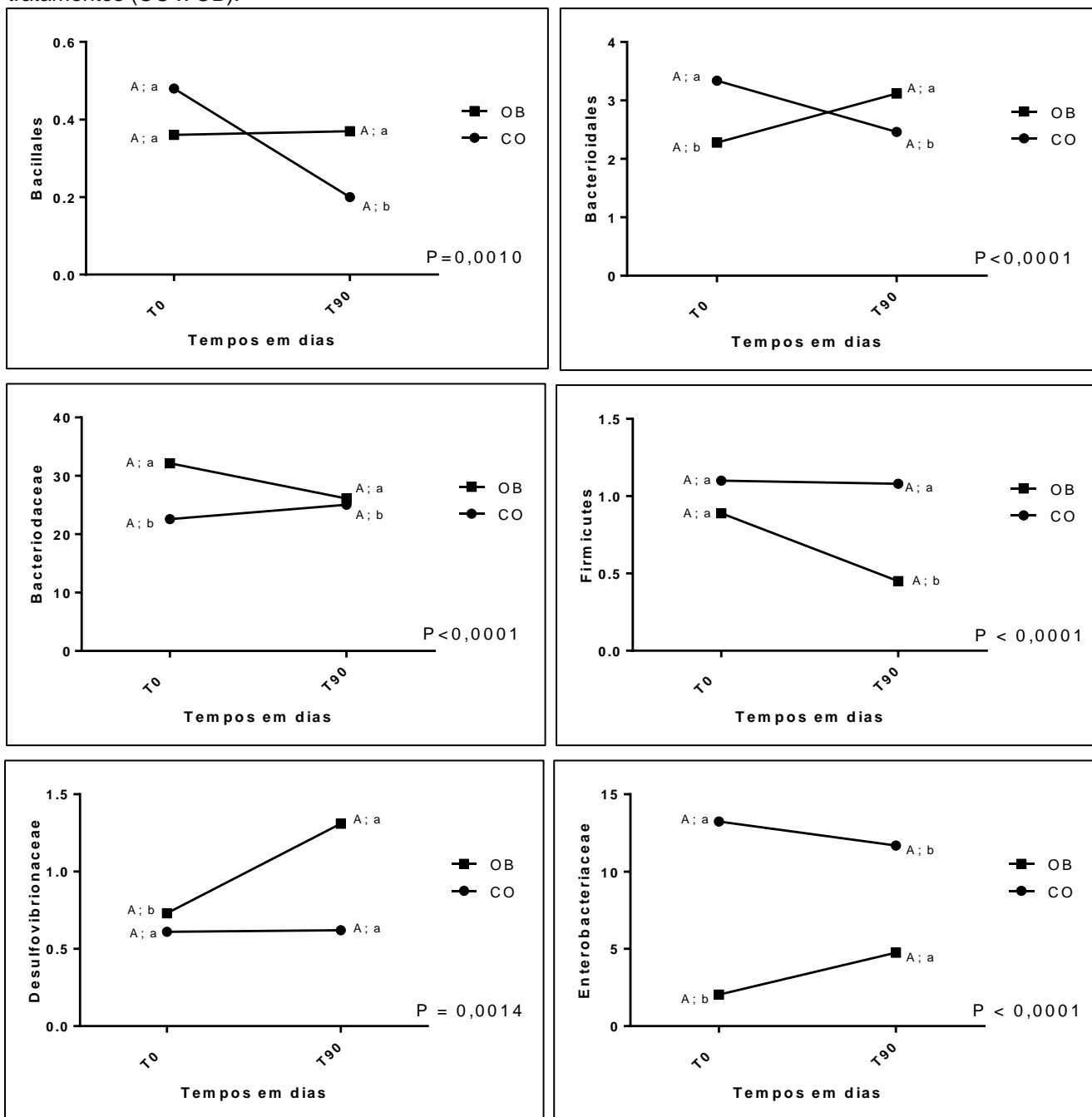


Figura 18: Mudanças nas abundâncias relativas de famílias ao longo do tempo (T0 x T90) em diferentes tratamentos (CO x OB).



Continuação

Continuação

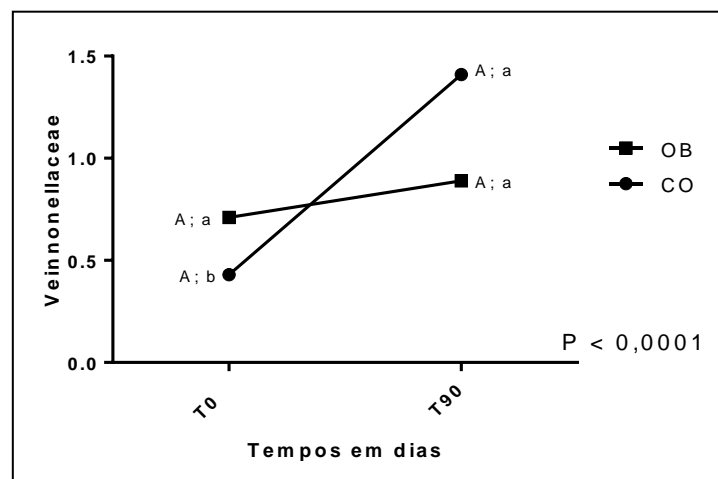
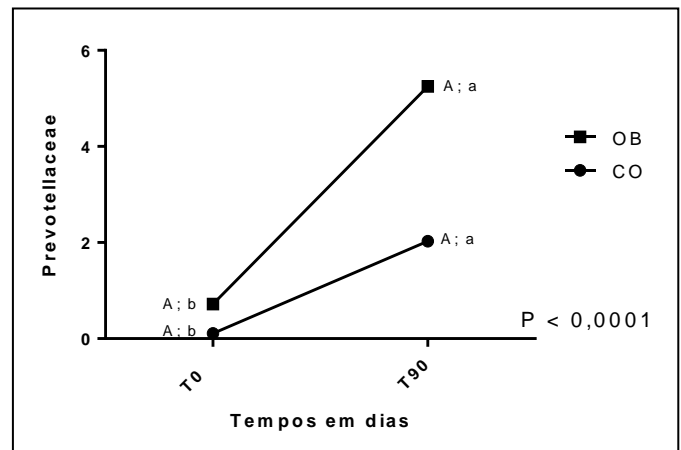
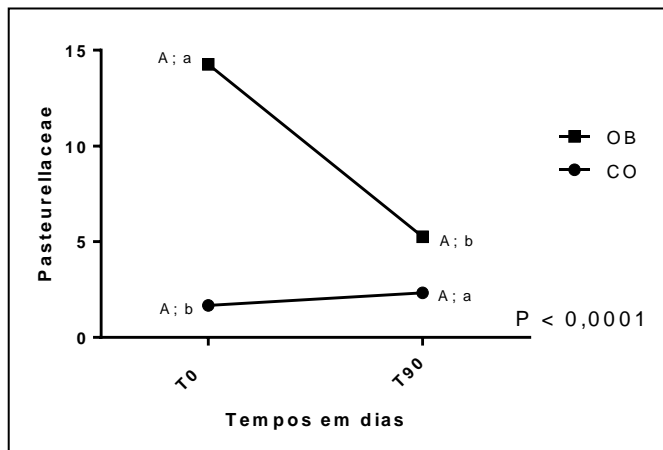
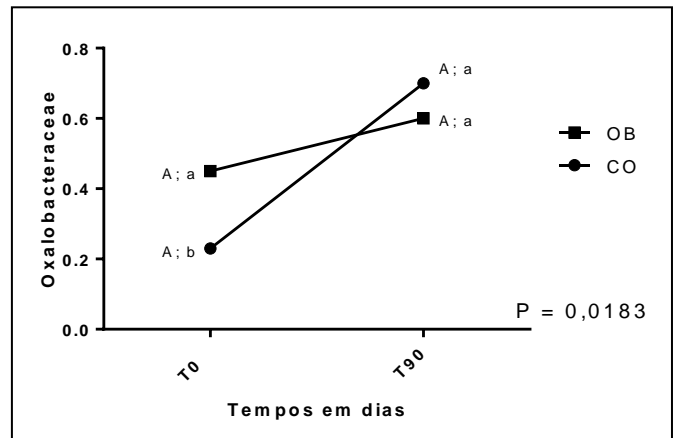
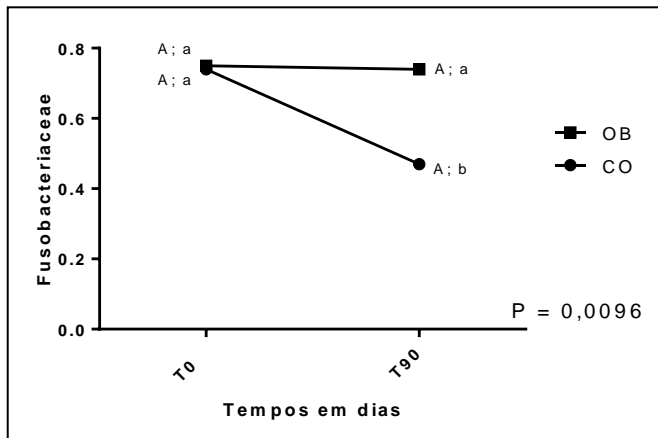
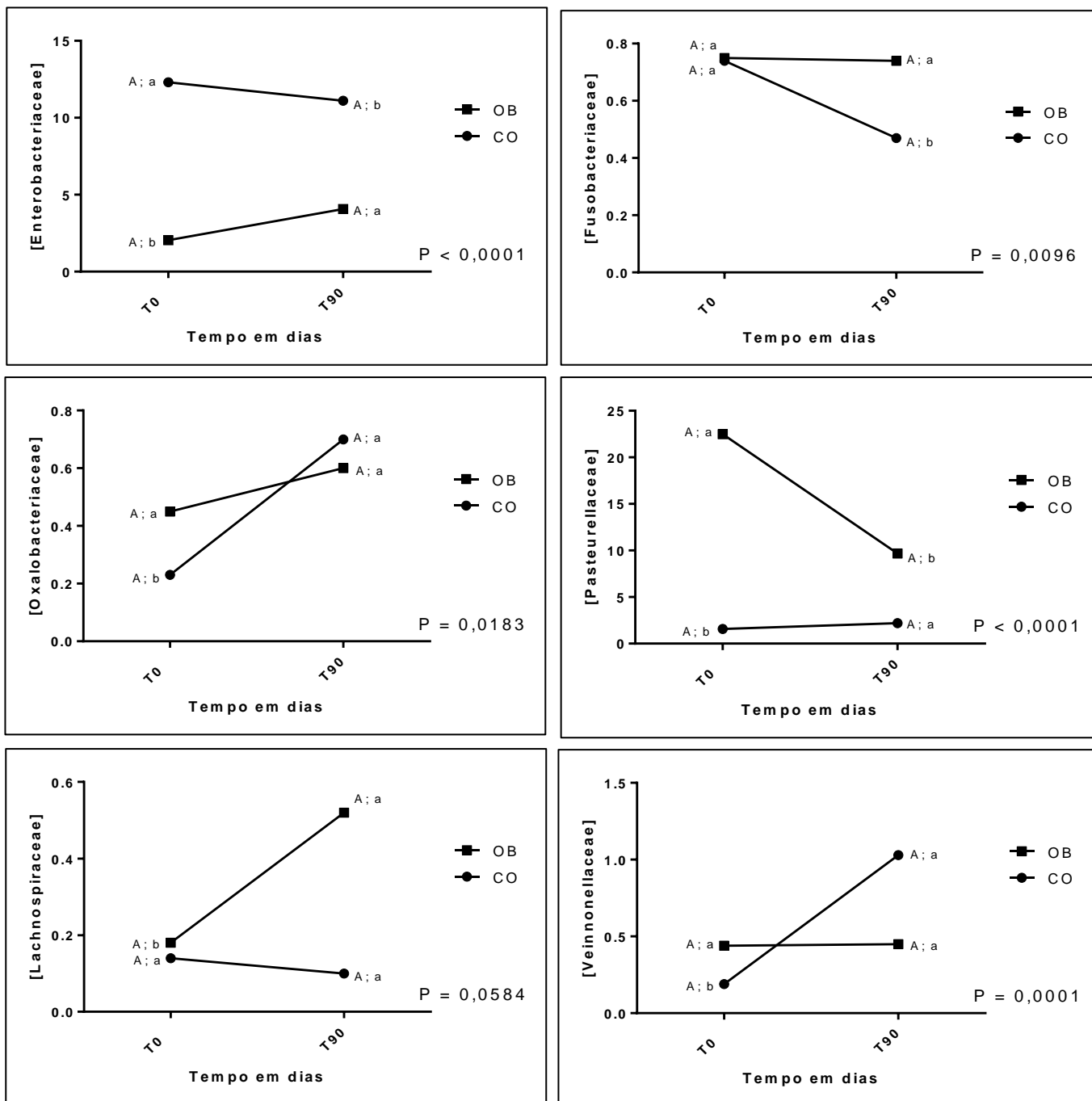
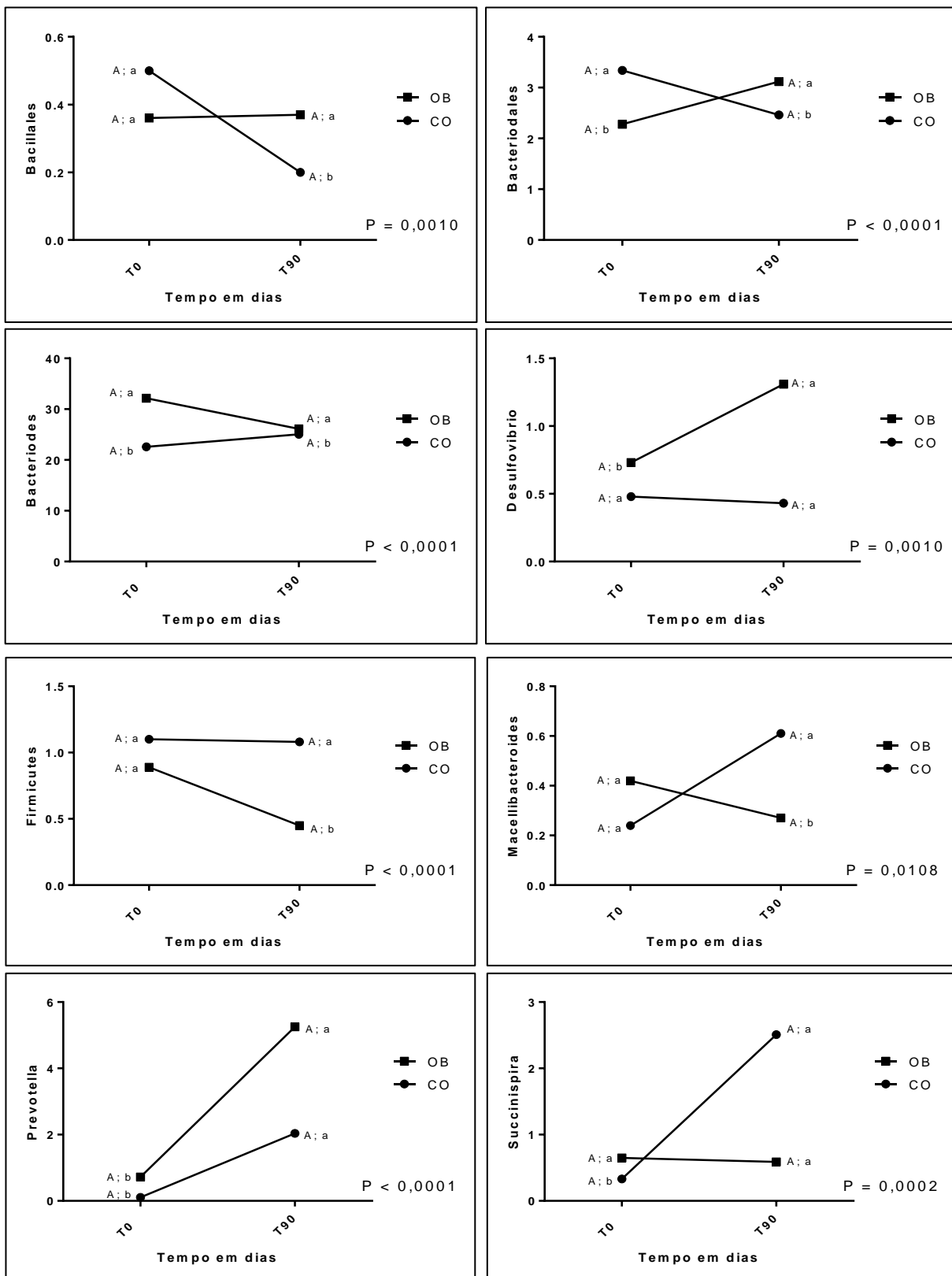


Figura 28: Mudanças nas abundâncias relativas de gêneros ao longo do tempo (T0 x T90) em diferentes tratamentos (CO x OB).



Continuação

Continuação



4.5. DISCUSSÃO

Para isolar o efeito dos resultados ao consumo dos BG e não a variações de gordura na composição corporal dos gatos, foram realizados acompanhamentos com frequência quinzenal para verificar o peso corporal, nos quais era possível realizar ajustes na indicação de consumo diário do alimento. Para garantir que não houve diferença na composição corporal dos animais, a avaliação do deutério foi realizada antes e após o consumo da dieta contendo os BG. Foi observado que a quantidade de gordura (em % e em Kg) dos gatos do grupo OB foi maior do que a dos gatos do grupo CO, como já era esperado.

Observou-se que ambos os grupos apresentaram aumento de massa muscular após o consumo da dieta contendo BG, o que pode ter ocorrido em razão do consumo do alimento super premium com teor de proteína elevado e de alta digestibilidade dos nutrientes pelos animais, já que o aumento do consumo de proteína já foi relacionado com o aumento de massa muscular nesta espécie (NGUYEN et al., 2004).

Por se tratar de um estudo clínico, os animais permaneceram na casa de seus tutores durante todo o experimento. Por se tratar de gatos, tornava-se inviável a coleta de fezes frescas pelos tutores, ou durante o período de coletas no laboratório, principalmente quando levamos em conta o comportamento desse animal. Dessa forma, optamos em não realizar a coleta das fezes após defecação espontânea realizada pelos animais em caixa de areia em suas respectivas casas, o que provavelmente contaminaria as amostras. Além disso, a grande maioria dos tutores de gatos do nosso estudo tinham outros felinos em casa, o que dificultaria o reconhecimento das fezes pertencentes aos animais estudados. Portanto, optamos em realizar a avaliação da microbiota retal desses animais, utilizando *swabs* estéreis para a coleta. Em estudo realizado por Kieler et al. (2016) foi comparada a microbiota fecal de gatos obesos e magros a partir de coleta de *swab* retal e de fezes retiradas da ladeira. Os autores concluíram que as amostras retais obtiveram maior concentração de DNA do que as amostras de caixa de areia, isso provavelmente ocorreu devido aos produtos de limpeza utilizados nas ladeiras degradar o DNA bacteriano. Além disso, é impossível separar os materiais contaminantes presentes nesse ambiente como, a urina por exemplo.

No presente estudo, não foram observadas diferenças na diversidade beta, bem como na diversidade alfa e na diversidade filogenética de Faith e no índice de equitabilidade de Pielou, bem como na contagem de OTUs simples. Esse resultado sugere que os animais do estudo apresentavam microbiota homogênea.

A obesidade está ligada a uma redução na diversidade bacteriana e representação alterada de populações bacterianas e genes que correspondem a inúmeras vias metabólicas em humanos e cobaias (TURNBAUGH et al., 2009; WALDRAM et al., 2009). Camundongos geneticamente obesos com deficiência de leptina (ob/ob) têm uma abundância aumentada de *Firmicutes* e uma redução de *Bacteroidetes* na porção distal do trato gastrointestinal (LEY et al., 2005), em comparação com os resultados obtidos em camundongos magros (ob/+ ou +/+). Disbiose semelhante na microbiota fecal foi observada para humanos obesos (LEY et al., 2006). Ao comparar a microbiota fecal de gêmeos humanos magros e obesos, uma menor proporção de *Bacteroidetes* e maior proporção de *Actinobacteria* foram associadas à obesidade (TURNBAUGH et al., 2009). Porém em gatos esses achados não são parecidos, estudos previamente realizados que avaliaram a microbiota de gatos saudáveis e obesos não observaram mudança na diversidade microbiana, mostrando assim, que mesmo com mudanças nas abundâncias relativas de seus táxons o enriquecimento de sua microbiota parece não ser muito afetado (PALLOTTO et al., 2018; TAL et al., 2020).

As análises para comparação da abundância relativa entre os táxons desse estudo foram realizadas a partir de um modelo que levava em conta os efeitos de grupos (OB x CO) e os efeitos de tempo (sem suplementação de BG e após a suplementação), além do efeito de interação e erro experimental. Nosso intuito principal seria mostrar o possível efeito da utilização de BG sobre a microbiota retal desses dois grupos (interação entre tratamento x tempo).

Não foi observado efeito principal de tratamento para nenhum dos táxons estudados, porém foi observado efeito principal de tempo para o filo *Bacteroidetes*, para as famílias *Campylobacteraceae* e *Peptostreptococcaceae*, e para o gênero *Campylobacter*. Tanto o grupo CO quanto o OB tiveram aumento na abundância relativa do filo *Bacteroidetes* após o consumo de BG. Estudos em

humanos que avaliaram a microbiota após consumo de BG observaram aumento na abundância do filo *Bacteroidetes*, enquanto os níveis de *Firmicutes* foram reduzidos (WANG et al., 2016). Essas alterações ainda foram acompanhadas por reduções nos fatores de risco de doenças cardiovasculares, incluindo IMC, pressão arterial e triacilglicerol circulante durante o período de estudo de 35 dias e os autores identificaram táxons microbianos específicos cuja abundância se correlacionou com marcadores de risco de doença (WANG et al., 2016). Segundo Joyce et al. (2019) o aumento de *Bacteroidetes* em humanos após o consumo de BG, pode demonstrar uma possível relação pela qual as alterações da microbiota podem influenciar o metabolismo do colesterol no hospedeiro (JOYCE et al., 2019).

O consumo de BG também aumentou a concentração de bactérias pertencentes a família *Campylobacteraceae* e ao gênero *Campylobacter* nos dois grupos. *Campylobacteraceae* são uma família de bastonetes Gram-negativos, curvos e móveis, dentre elas, as bactérias pertencentes ao gênero *Campylobacter*, que engloba muitas espécies e é considerado flora normal de gatos (MINAMOTO et al., 2012). *Campylobacter helveticus* parece ser a espécie predominante no intestino de gatos saudáveis (SUCHODOLSKI et al., 2010). Normalmente em suínos esses grupos bacterianos são associados a disbiose e gastroenterites, e nessa espécie o uso BG foi associado a diminuição dessa população bacteriana (CONWAY et al., 2022). Porém nenhum dos gatos apresentou mudança no escore fecal ao longo deste estudo.

O consumo de BG também acarretou aumento relativo na concentração de bactérias da família *Peptostreptococcaceae*. Um estudo mostrou que gatos adultos jovens alimentados com alimento comercial extrusado apresentam maior concentração de bactérias da família *Peptostreptococcaceae* quando comparados com gatos idosos por exemplo, ou com gatos que não se alimentam apenas com alimento seco (BERMINGHAM et al., 2018). No nosso estudo, ficou expresso para os tutores que nada além do alimento experimental poderia ser ofertado aos animais. O BG foi pouco explorado na espécie felina, porém estudos com ratos demonstraram que o uso dessa fibra leva ao aumento na abundância relativa de bactérias da família *Peptostreptococcaceae* (COX et al., 2013).

Foi observado efeito de interação (tratamento x tempo) para os filós: *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Fusobacteria* e *Proteobacteria*. O consumo do BG aumentou a abundância relativa dos filós *Firmicutes* e *Fusobacteria* no grupo CO. O filo *Firmicutes* já foi relacionado em ratos com o aumento na produção de butirato, que é um produto de fermentação importante para a nutrição dos colonócitos (DEN BESTEN et al., 2013). Porém o uso de BG em outras espécies tende a aumentar a concentração do filo *Bacteroidetes* e por consequência diminuir a abundância de *Firmicutes*, no entanto, como no nosso estudo, em camundongos um estudo não foi associado a diminuição desse filo (MIYAMOTO et al., 2018). Estudos em cães mostram que o uso de parede celular de levedura pode levar a diminuição na abundância de *Fusobacteria* (SANTOS et al., 2022), o que não ocorreu no presente estudo utilizando a dose de 0,06% de BG purificado.

O consumo de BG também diminuiu a concentração do filo *Proteobacteria* no grupo OB. *Proteobacteria* é o filo bacteriano mais diverso e comumente aparece na microbiota fecal de cães e gatos saudáveis, embora sua reputação seja muitas vezes manchada, pois seus membros incluem vários patógenos oportunistas bem conhecidos, como *Escherichia coli*, *Salmonella* e *Campylobacter*, que pode afetar a integridade do hospedeiro (MOON et al., 2018). Além disso, em outras espécies, altas abundâncias de *Proteobacteria* têm sido associadas à disbiose em hospedeiros com distúrbios metabólicos ou inflamatórios (MOON et al., 2018). Portanto a diminuição desse filo com a utilização de BG pode ser benéfica, principalmente em animais obesos que sabidamente apresentam processo inflamatório crônico (VENDRAMINI et al., 2020).

O consumo de BG diminuiu a concentração de *Actinobacteria* no grupo CO e aumentou no grupo OB. Além do Filo *Bacteroidetes* e *Firmicutes*, o Filo *Actinobacteria* também é produtor de ácidos graxos de cadeia curta através da fermentação de polissacarídeos indigeríveis (MIYAMOTO et al., 2018). Portanto, esses grupos bacterianos intestinais podem acabar tendo aumento em sua abundância após a fermentação dos BG. No presente estudo houve aumento desses grupos fermentadores e provavelmente a diminuição relativa de *Actinobacteria* no grupo CO deve-se ao aumento de outro grupo fermentador

como *Bacterioidetes* por exemplo. Independente disso, os BG mostraram-se na espécie felina a capacidade de modular os filos bacterianos fermentadores como observado em outras espécies.

Em relação as famílias e gêneros, foi observado efeito de interação (tratamento x tempo) para os grupos bacterianos pertencentes as famílias: *Bacillales*, *Bacteroidaceae*, *Bacterioidales*, *Desulfovibrionaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Fusobacteriaceae*, *Oxalobacteraceae*, *Pasteurellaceae*, *Prevotellaceae* e *Veillonellaceae*; e aos gêneros: *Bacillales*, *Bacterioidales*, *Bacterioides*, *Desulfovibrio*, [*Enterobacteriaceae*], *Firmicutes*, [*Fusobacteriaceae*], *Macellibacteroides*, [*Oxalobacteraceae*], [*Pasteurellaceae*], *Prevotella*, *Succinispira* e [*Veillonellaceae*].

O CO apresentou diminuição relativa das famílias (*Bacillales* e *Fusobacteriaceae*) e gêneros não identificados para essas mesmas famílias no T90. Poucos estudos avaliaram a ação prebiótica de BG em cães e gatos. Porém, em um estudo in vitro utilizando os BG foi observado diminuição na concentração relativa de bactérias pertencentes a família *Fusobacteriaceae* e *Enterobacteriaceae*, que são conhecidas por conter patógenos potencialmente oportunistas (VAN DEN ABEELE et al., 2020). Estudos anteriores mostraram que a suplementação da parede celular de levedura seca por pulverização na dieta de cães adultos diminui as concentrações fecais de *E. coli* de maneira dose-dependente (MIDDELBOSS et al., 2007).

O grupo OB teve aumento da concentração relativa da família *Desulfovibrionaceae* e do gênero *Desulfovibrio* no T90. *Desulfovibrio* são bactérias redutoras de sulfato capazes de produzir sulfetos de hidrogênio, o que pode estar relacionado com a patogênese de doença inflamatória intestinal (DII) em gatos (LYU et al., 2020). No entanto, outros estudos, não observaram variação estatística das contagens desses grupos bacterianos em gatos com DII em comparação com gatos saudáveis (ABECIA et al., 2010). Em ratos, a utilização de BG diminuiu a abundância relativa dessas bactérias, porém mais estudos devem ser realizados para elucidar o papel desse grupo bacteriano em animais doentes, obesos e como os BG pode influenciá-los (XU et al., 2020). Em contrapartida foi observado aumento de *Oxalobacteraceae* e de um gênero não identificado da mesma família no grupo CO após o consumo de BG. Essa família

já relatada em estudos anteriores como pertencente a microbiota fecal e da pele de gatos saudáveis (RITCHIE et al., 2010; TIZARD; JONES, 2018). Porém nenhum outro estudo mostrou efeito da suplementação de BG sobre a concentração desse grupo de bactérias.

A suplementação de BG aumentou a abundância relativa de *Bacteroidales* e *Enterobacteriaceae* no grupo OB, porém diminuiu no grupo CO, o mesmo ocorreu com os gêneros não identificados dessas famílias. Estudos demonstram que *Bacteroidales* é uma das famílias de maior abundância no ílio e cólon de gatos saudáveis (BARKO et al., 2018). Em contrapartida a família *Enterobacteriaceae* é reconhecida por conter espécies com potencial patogênico (VAN DEN ABBEELE et al., 2020). Em estudo com gatos que possuíam doença renal crônica (DRC), o uso de prebióticos diminuiu a concentração de *Bacteroidales* nos animais doentes (HALL et al., 2020). Em contrapartida, estudos em humanos mostraram que o BG pode aumentar moderadamente a concentração dessa família dependendo da dose diária (AKAGAWA et al., 2021). Um realizado com fezes de cães in vitro utilizando o BG observou diminuição na concentração relativa de bactérias pertencentes a família *Enterobacteriaceae*, o que foi reportado pelos autores como benéfico visto que essa família possui alguns patógenos oportunistas (VAN DEN ABBEELE et al., 2020). Em humanos, o microbioma de pessoas obesas costuma ter maior quantidade de bactérias pertencentes a família *Enterobacteriaceae* quando comparado com pessoas magras (TSENG; WU, 2019). Em gatos diabéticos, os níveis de frutamina correlacionaram-se positivamente com a presença de *Enterobacteriaceae* (KIELER et al., 2019). A inflamação crônica causada pela obesidade é um dos mecanismos propostos para a influência da microbiota e resistência à insulina (KIELER et al., 2019). Em roedores, a inflamação do hospedeiro, causada por infecção, agressão química ou predisposição genética, leva ao aumento do crescimento da família *Enterobacteriaceae* (LUPP et al., 2007), indicando que a inflamação do hospedeiro, independentemente da causa, pode ser o iniciador dessa cascata.

As famílias *Prevotellaceae* e *Veillonellaceae* tiveram aumento em sua abundância relativa em T90 nos dois tratamentos (CO e OB), a mesma tendência foi observada para os gêneros pertencentes a essas famílias *Prevotella*

(pertencente à família *Prevotellaceae*), *Succinispira* e outro gênero não identificada da família *Veillonellaceae*. Portanto, provavelmente o aumento relativo em porcentagem das bactérias dessas famílias estão diretamente relacionadas com o aumento de bactérias pertencentes aos gêneros que as compõe. Estudos mostram que BG promovem crescimento de espécies bacterianas pertencentes ao gênero *Prevotella* com produção concomitante de propionato e butirato, em fermentação in vitro (JOYCE et al., 2019). Quando utilizados em camundongos, os BG provenientes de aveia aumentam as populações de espécies de *Bacteroides* e espécies de *Prevotella*, enquanto as bactérias do filo *Firmicutes* diminuem (LUO et al., 2017). É importante ressaltar que as alterações da microbiota se correlacionaram com uma redução significativa do colesterol total e colesterol não-HDL nesses animais (ZHOU et al., 2015). O aumento de gêneros pertencentes a família *Veillonellaceae* e sua abundância relativa já foi observada em estudos utilizando outros prebióticos na alimentação de cães e gatos. Garcia-Mazcorro et al. (2017) observaram abundância aumentada dessa família durante a administração de prebióticos em gatos e cães. Em estudo com animais doentes foi observada a ausência de membros desse grupo em cães com doença inflamatória intestinal (SUCHODOLSKI et al., 2012). Por fim, essa família é altamente responsiva a prebióticos e fontes de fibras fermentáveis (BONDER et al., 2016), incluindo o consumo de fibra de milho solúvel ou polidextrose em humanos (HOODA et al., 2012) e inulina em cães (BELOSHAPKA et al., 2013).

A suplementação de BG também apresentou diferença na abundância relativa das famílias (*Bacteroidaceae*, [*Firmicutes*] e *Pasteurellaceae*) aumentando essas famílias no grupo CO e diminuindo no grupo OB no T90. O mesmo efeito foi observado para o gênero *Bacteroides* pertencente à família *Bacteroidaceae*, e para os gêneros não identificados das famílias [*Firmicutes*] e [*Pasteurellaceae*]. Bactérias pertencentes à família *Pasteurellaceae* são pequenos bacilos Gram-negativos ou cocobacilos que habitam as membranas mucosas de muitos animais, alguns membros deste grupo são conhecidos como patógenos oportunistas e podem estar envolvidas em uma série de condições patológicas em cães e gatos (KRÓL et al., 2011). Poucos estudos observaram diminuição na concentração relativa desse grupo bacteriano após a utilização de

dietas ricas em fibras. Porém um estudo realizado com suínos mostrou que a utilização de fontes de fibras solúvel, como é o caso do presente estudo, mostrou diminuição desse grupo bacteriano. Provavelmente a mudança obtida na concentração de bactérias da família *Bacteroidaceae* deve-se a mudança observada na abundância relativa do gênero *Bacteroides*. Segundo Minamoto et al. (2012) *Bacteroides* é um dos grupos bacterianos mais comumente isolados do trato gastrointestinal felino. Em geral, a microbiota aumenta em abundância ao longo do trato GI, progredindo do estômago para o cólon. Em humanos, estudos com BG já discutem os mecanismos de ação para utilização de diferentes fontes desse nutracêutico por *Bacteroidetes*, uma vez que são grupos bacterianos que respondem muito bem a dietas com fibra, e costumam aumentar a sua abundância com dietas ricas em BG (SINGH; THAKUR; KUMAR, 2021). Estudos em cães e gatos mostram que dietas ricas em fibras costumam aumentar a concentração de bactérias produtoras de ácidos graxos de cadeia curta, como os *Bacteroides* (PILLA; SUCHODOLSKI, 2021). Portanto, o aumento dessas bactérias no grupo CO era esperado, o motivo pelo qual ocorreu uma diminuição no grupo OB não é muito clara, porém estudos em humanos mostram que *bacteroides* promove o catabolismo de AACR e no tecido adiposo marrom inibindo a obesidade (YOSHIDA et al., 2021). Portanto pessoas obesas costumam ter menos abundância dessas bactérias. No entanto mais estudos devem ser realizados com gatos obesos e fontes de fibra para entender por que ocorreu diminuição na abundância relativa de *Bacteroides* no grupo OB após a suplementação.

4.6. CONCLUSÃO

Conclui-se que nas condições de realização do presente estudo, a microbiota retal de gatos saudáveis não diferiu em relação ao de gatos obesos, pois não houve efeito isolado de tratamento. Porém, foi a suplementação de BG foi efetiva em modular a microbiota retal desses animais. Mais estudos devem ser realizados, utilizando diferentes doses desse nutracêutico a fim de elucidar melhor o seu papel sobre a microbiota de felinos.

4.7. REFERÊNCIAS

AAFCO. **Association of American Feed Control Officials**. Oxford, MI: Official Publication, 2019.

ABECIA, L. et al. Effects of a novel galactooligosaccharide on the faecal microbiota of healthy and inflammatory bowel disease cats during a randomized, double-blind, cross-over feeding study. **International Journal of Probiotics and Prebiotics**, v. 5, n. 2, p. 61–68, 2010.

AKAGAWA, S. et al. Fiber-rich barley increases butyric acid-producing bacteria in the human gut microbiota. **Metabolites**, v. 11, n. 8, p. 559, 2021.

BACH, J. F. et al. Association of expiratory airway dysfunction with marked obesity in healthy adult dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 68, n. 6, p. 670–675, 2007.

BARKO, P. C. et al. The Gastrointestinal Microbiome: A Review. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 32, p. 9–25, 2018.

BELOSHAPKA, A. N. et al. Fecal microbial communities of healthy adult dogs fed raw meat-based diets with or without inulin or yeast cell wall extracts as assessed by 454 pyrosequencing. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 84, p. 532–541, 2013.

BERMINGHAM, E. N. et al. The fecal microbiota in the domestic cat (*Felis catus*) is influenced by interactions between age and diet; a five year longitudinal study. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 1231, 2018.

BONDER, M. J. et al. The influence of a short-term gluten-free diet on the human gut microbiome. **Genome Medicine**, v. 8, p. 45, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1186/s13073-016-0295-y>>.

BROWN, D. C.; CONZEMIUS, M. G.; SHOFER, F. S. Body weight as a predisposing factor for humeral condylar fractures, cranial cruciate rupture and intervertebral disc disease in Cocker Spaniels. **Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology**, v. 9, p. 75–78, 1996.

BRUNETTO, M. A. et al. The intravenous glucose tolerance and postprandial glucose tests may present different responses in the evaluation of obese dogs. **British Journal of Nutrition**, v. 106, n. S1, p. S194–S197, 2011a.

BRUNETTO, M. A. et al. Correspondência entre obesidade e hiperlipidemia em cães. **Ciencia Rural**, v. 41, n. 2, p. 266–271, 2011b.

BURKHOLDER, W. J.; TOLL, P. W. Obesity. In: LEWIS, L. D.; MORRIS, M. L.;

- HAND, M. S. (Ed.). **Small Animal Clinical Nutrition**. 4. ed. Topeka, Kansas: Mark Morris Institute, 2000. p. 401–425.
- COLLIARD, L. et al. Risk Factors for Obesity in Dogs in France. **Journal of Nutrition**, v. 136, p. 1951S–1954S, 2006.
- CONWAY, E. et al. Maternal and/or direct supplementation with a casein hydrolysate and yeast β -glucan on post-weaning performance and intestinal health in the pig. **bioRxiv**, v. 13, p. 481664, 2022.
- COX, L. M. et al. The nonfermentable dietary fiber hydroxypropyl methylcellulose modulates intestinal microbiota. **FASEB Journal**, v. 27, p. 692–702, 2013.
- DEN BESTEN, G. et al. The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. **Journal of Lipid Research**, v. 54, p. 2325–2340, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1194/jlr.R036012>>.
- DRZIKOVA, B.; DONGOWSKI, G.; GEBHARDT, E. Dietary fibre-rich oat-based products affect serum lipids, microbiota, formation of short-chain fatty acids and steroids in rats. **British Journal of Nutrition**, v. 94, p. 1012–1025, 2005.
- EDNEY, A. T.; SMITH, P. M. Study of obesity in dogs visiting veterinary practices in the United Kingdom. **The Veterinary Record**, v. 118, n. 14, p. 391–396, 1986.
- FEDIAF. **FEDIAF - The European Pet Food Industry Federation. Nutritional guidelines for complete and complementary pet food for cats and dogs**. Bruxelas, BE: The European Pet Food Industry Federation, 2018.
- FERRIER, L. et al. Evaluation of body composition in dogs by isotopic dilution using a low-cost technique, fourier-transform infrared spectroscopy. **Journal of Nutrition**, v. 132, p. 1725S-1727S, 2002.
- GARCIA-MAZCORRO, J. F. et al. Molecular assessment of the fecal microbiota in healthy cats and dogs before and during supplementation with fructo-oligosaccharides (FOS) and inulin using high-throughput 454- pyrosequencing. **PeerJ**, v. 5, p. e3184, 2017.
- GERMAN, A. J. The growing problem of obesity in dogs and cats. **Journal of Nutrition**, v. 136, p. 1940S-1946S, 2006. Disponível em: <<http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L43973603%0Ahttp://jn.nutrition.org/cgi/reprint/136/7/1940S>>.
- 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, n. 7, p.

- e0235480, 2020. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0235480>>.
- HANDL, S. et al. Faecal microbiota in lean and obese dogs. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 84, p. 332–343, 2013.
- HENDRICKS, J. C. Brachycephalic airway syndrome. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 22, n. 5, p. 1145–1153, 1992. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0195-5616\(92\)50306-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0195-5616(92)50306-0)>.
- HOODA, S. et al. 454 Pyrosequencing Reveals a Shift in Fecal Microbiota of Healthy Adult Men Consuming Polydextrose or Soluble Corn Fiber. **Journal of Nutrition**, v. 142, p. 1259–1265, 2012.
- JAYACHANDRAN, M. et al. A critical review on the impacts of β -glucans on gut microbiota and human health. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 61, p. 101–110, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2018.06.010>>.
- JEUSETTE, I. C. et al. Effects of chronic obesity and weight loss on plasma ghrelin and leptin concentrations in dogs. **Research in Veterinary Science**, v. 79, p. 169–175, 2005.
- JOYCE, S. A. et al. The Cholesterol-Lowering Effect of Oats and Oat Beta Glucan: Modes of Action and Potential Role of Bile Acids and the Microbiome. **Frontiers in Nutrition**, v. 6, p. 171, 2019.
- KEALY, R. D. et al. Five-year longitudinal study on limited food consumption and development of osteoarthritis in coxofemoral joints of dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 210, n. 2, p. 222–225, 1997.
- KEALY, R. D. et al. Evaluation of the effect of limited food consumption on radiographic evidence of osteoarthritis in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 217, n. 11, p. 1678–1680, 2000.
- KIELER, I. N. et al. Overweight and the feline gut microbiome - a pilot study. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 100, p. 478–484, 2016.
- KIELER, I. N. et al. Diabetic cats have decreased gut microbial diversity and a lack of butyrate producing bacteria. **Scientific Reports**, v. 9, p. 4822, 2019.
- KOPELMAN, P. G. Obesity as a medical problem. **Nature**, v. 404, n. April, p. 635–643, 2000. Disponível em: <www.nature.com>.
- KRÓL, J. et al. Polymerase chain reaction-based identification of clinically relevant pasteurellaceae isolated from cats and dogs in Poland. **Journal of**

- Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 23, n. 3, p. 532–537, 2011.
- LAFHAMME, D. P. Development and Validation of a Body Condition Score System for Cats. **Feline Practice**, v. 25, p. 13–18, 1997.
- LARSEN, J. A.; VILLAVERDE, C. Scope of the Problem and Perception by Owners and Veterinarians. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 46, n. 5, p. 761–772, 2016.
- LEY, R. E. et al. Obesity alters gut microbial ecology. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 102, n. 31, p. 11070–11075, 2005.
- LEY, R. E. et al. Human gut microbes associated with obesity. **Nature**, v. 444, p. 1022–1023, 2006.
- LUND, E. M. et al. Prevalence and risk factors for obesity in adult cats from private US veterinary practices. **Journal of Applied Research in Veterinary Medicine**, v. 3, n. 2, p. 88–96, 2005.
- LUO, Y. et al. Different types of dietary fibers trigger specific alterations in composition and predicted functions of colonic bacterial communities in BALB/c mice. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 966, 2017.
- LUPP, C. et al. Host-Mediated Inflammation Disrupts the Intestinal Microbiota and Promotes the Overgrowth of Enterobacteriaceae. **Cell Host and Microbe**, v. 2, p. 119–129, 2007.
- LYU, Y. et al. Dose-Dependent Effects of Dietary Xylooligosaccharides Supplementation on Microbiota, Fermentation and Metabolism in Healthy Adult Cats. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 25, n. 21, p. 5030, 2020.
- MACEDO, H. T. et al. Weight-loss in obese dogs promotes important shifts in fecal microbiota profile to the extent of resembling microbiota of lean dogs. **Animal Microbiome**, v. 4, p. 6, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s42523-021-00160-x>>.
- MAO, J. et al. Prevalence and risk factors for canine obesity surveyed in veterinary practices in Beijing, China. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 112, p. 438–442, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.prevetmed.2013.08.012>>.
- MCGREEVY, P. D. et al. Prevalence of obesity in dogs examined by Australian veterinary practices and the risk factors involved. **The Veterinary Record**, v. 156,

p. 695–702, 2005.

MIDDELBOS, I. S. et al. A dose-response evaluation of spray-dried yeast cell wall supplementation of diets fed to adult dogs: Effects on nutrient digestibility, immune indices, and fecal microbial populations. **Journal of Animal Science**, v. 85, p. 3022–3032, 2007.

MINAMOTO, Y. et al. Feline gastrointestinal microbiota. **Animal health research reviews**, v. 13, n. 1, p. 64–77, 2012.

MIYAMOTO, J. et al. Barley β -glucan improves metabolic condition via short-chain fatty acids produced by gut microbial fermentation in high fat diet fed mice. **PLoS ONE**, v. 13, n. 4, p. e0196579, 2018.

MONTOYA-ALONSO, J. A. et al. Prevalence of canine obesity, obesity-related metabolic dysfunction, and relationship with owner obesity in an obesogenic region of Spain. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 4, p. 59, 2017.

MOON, C. D. et al. Metagenomic insights into the roles of Proteobacteria in the gastrointestinal microbiomes of healthy dogs and cats. **MicrobiologyOpen**, v. 7, p. e677, 2018.

NGUYEN, P. et al. High protein intake affects lean body mass but not energy expenditure in nonobese neutered cats. **Journal of Nutrition**, v. 134, p. 2084S–2086S, 2004.

NRC. NRC - National Research Council. Nutrient Requirements of Dogs and Cats. Washington, DC: National Academies Press, 2006.

OSTO, M.; LUTZ, T. A. Translational value of animal models of obesity - Focus on dogs and cats. **European Journal of Pharmacology**, v. 759, p. 240–252, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.03.036>>.

PALLOTTO, M. R. et al. Effects of weight loss with a moderate-protein, high-fiber diet on body composition, voluntary physical activity, and fecal microbiota of obese cats. **American Journal of Veterinary Research**, v. 79, p. 181–190, 2018.

PEREIRA-NETO, G. B. et al. Avaliação da pressão arterial sistêmica em cães obesos: Comparação entre os métodos oscilométrico e doppler ultrassônico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, p. 87–91, 2014.

PEREIRA-NETO, G. B. et al. Weight loss improves arterial blood gases and respiratory parameters in obese dogs. **Journal of Animal Physiology and**

Animal Nutrition, v. 102, p. 1–6, 2018.

PIANTEDOSI, D. et al. Serum biochemistry profile, inflammatory cytokines, adipokines and cardiovascular findings in obese dogs. **The Veterinary Journal**, v. 216, p. 72–78, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2016.07.002>>.

PILLA, R.; SUCHODOLSKI, J. S. The Gut Microbiome of Dogs and Cats, and the Influence of Diet. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 51, p. 605–621, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2021.01.002>>.

PORSANI, M. Y. H. et al. Prevalence of canine obesity in the city of São Paulo, Brazil. **Scientific Reports**, v. 10, p. 14082, 2020.

RITCHIE, L. E. et al. Characterization of fecal microbiota in cats using universal 16S rRNA gene and group-specific primers for *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* spp. **Veterinary Microbiology**, v. 144, p. 140–146, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.12.045>>.

ROCHA, I. E. G. M. et al. Echocardiography evaluations for asymptomatic patients with severe obesity. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 88, n. 1, p. 48–53, 2007.

SANTOS, K. de M. et al. *Saccharomyces cerevisiae* dehydrated culture modulates fecal microbiota and improves innate immunity of adult dogs. **Fermentation**, v. 8, n. 1, p. 2, 2022.

SHEN, R. L. et al. Effects of oat β -glucan and barley β -glucan on fecal characteristics, intestinal microflora, and intestinal bacterial metabolites in rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 11301–11308, 2012.

SINGH, R. P.; THAKUR, R.; KUMAR, G. Human gut *Bacteroides uniformis* utilizes mixed linked β -glucans via an alternative strategy. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v. 26, p. 100282, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2021.100282>>.

SUCHODOLSKI, J. S. et al. Molecular assay for the detection of *Campylobacter* spp. in canine and feline fecal samples. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 24, p. 748–749, 2010.

SUCHODOLSKI, J. S. et al. 16S rRNA gene pyrosequencing reveals bacterial dysbiosis in the Duodenum of dogs with idiopathic inflammatory bowel disease.

PLoS ONE, v. 7, n. 6, p. e39333, 2012.

TAL, M. et al. Bacterial fecal microbiota is only minimally affected by a standardized weight loss plan in obese cats. **BMC Veterinary Research**, v. 16, p. 112, 2020.

TIZARD, I. R.; JONES, S. W. The Microbiota Regulates Immunity and Immunologic Diseases in Dogs and Cats. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 48, p. 307–322, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2017.10.008>>.

TROPF, M. et al. Cardiac and Metabolic Variables in Obese Dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 31, p. 1000–1007, 2017.

TSENG, C. H.; WU, C. Y. The gut microbiome in obesity. **Journal of the Formosan Medical Association**, v. 118, p. S3–S9, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jfma.2018.07.009>>.

TURNBAUGH, P. J. et al. A core gut microbiome in obese and lean twins. **Nature**, v. 457, p. 480–485, 2009.

VAN DEN ABEELE, P. et al. Dried yeast cell walls high in beta-glucan and mannan-oligosaccharides positively affect microbial composition and activity in the canine gastrointestinal tract in vitro. **Journal of Animal Science**, v. 98, n. 6, p. 1–10, 2020.

VENDRAMINI, T. H. A. et al. Gene expression of the immunoinflammatory and immunological status of obese dogs before and after weight loss. **PLoS ONE**, v. 15, n. 9, p. e0238638, 2020.

WALDRAM, A. et al. Top-down systems biology modeling of host metabotype-microbiome associations in obese rodents. **Journal of Proteome Research**, v. 8, p. 2361–2375, 2009.

WANG, Y. et al. High molecular weight barley β -glucan alters gut microbiota toward reduced cardiovascular disease risk. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 129, 2016.

XU, M. et al. Yeast β -glucan alleviates cognitive deficit by regulating gut microbiota and metabolites in A β 1–42-induced AD-like mice. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 161, p. 258–270, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.05.180>>.

YOSHIDA, N. et al. Bacteroides spp. promotes branched-chain amino acid

catabolism in brown fat and inhibits obesity. **iScience**, v. 24, p. 103342, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.isci.2021.103342>>.

ZHOU, A. L. et al. Whole grain oats improve insulin sensitivity and plasma cholesterol profile and modify gut microbiota composition in C57BL/6J mice. **Journal of Nutrition**, v. 145, p. 222–230, 2015.

ZORAN, D. L. Obesity in Dogs and Cats: A Metabolic and Endocrine Disorder. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 40, p. 221–239, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cvsm.2009.10.009>>.