

## ANÁLISE LIPIDÔMICA APLICADA AO PROGRAMA DE PERDA DE PESO EM CÃES OBESOS

Nicolle de Paula Neves Gonçalves<sup>1\*</sup>, Yara Camila Barbosa Marques<sup>1</sup>, Melissa Vaz De La Torre<sup>1</sup>, Pedro Henrique Marchi<sup>2</sup>,  
Leonardo Andrade Príncipe<sup>3</sup>, Thiago Henrique Annibale Vendramini<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Discente no Curso de Medicina Veterinária – Universidade de São Paulo – USP – Pirassununga/SP – Brasil – \*Contato: nicollegoncalves@usp.br

<sup>2</sup>Doutorando no Centro de Pesquisa em Nutrologia de Cães e Gatos (CEPEN PET) – Pirassununga/SP – Brasil

<sup>3</sup>Docente do Curso de Medicina Veterinária – Universidade de São Paulo – USP – Pirassununga/SP – Brasil

### INTRODUÇÃO

A obesidade em cães, caracterizada pelo acúmulo excessivo de tecido adiposo, desencadeia uma série de alterações metabólicas, incluindo dislipidemia e modificações na síntese e oxidação de lipídios<sup>1,2</sup>. Estudos metabolômicos demonstram que cães obesos apresentam elevação de lipoproteínas, fosfolipídios e fosfatidilcolinas, além de redução em metabólitos como taurina e carnitina<sup>3,4</sup>. No entanto, as abordagens ômicas convencionais possuem limitações na detecção precisa de espécies lipídicas individuais<sup>5,6</sup>.

Nesse viés, a lipidômica direcionada surge como uma ferramenta promissora para superar essas limitações, permitindo a identificação e quantificação de milhares de lipídios e suas vias metabólicas associadas<sup>7</sup>. Em humanos, essa técnica tem revelado o papel crítico de lipídios específicos, como os esfingolipídios, no desenvolvimento de comorbidades relacionadas à obesidade<sup>8,9</sup>. No entanto, em cães, ainda há escassez de estudos que explorem o lipidoma sérico na obesidade e sua modulação após a perda de peso.

Diante desse contexto, este estudo teve como objetivo investigar, por meio de lipidômica direcionada, as alterações no perfil lipídico sérico de cães obesos antes e após um programa de perda de peso. Os resultados podem contribuir para a identificação de potenciais biomarcadores e para uma melhor compreensão dos mecanismos metabólicos envolvidos na obesidade canina.

### METODOLOGIA

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da FMVZ-USP (protocolo 4668091214), seguindo todas as diretrizes éticas para pesquisa com animais. Foram selecionados oito cães adultos obesos (quatro machos e quatro fêmeas) clinicamente estáveis, com diagnóstico de obesidade (escore corporal 9/9), idade média de  $5,37 \pm 1,41$  anos e peso médio de  $27,15 \pm 12,02$  kg. Todos os animais passaram por avaliação clínica completa incluindo anamnese, exame físico e exames laboratoriais, sendo excluídos aqueles com comorbidades ou que haviam recebido medicamentos nas seis semanas anteriores ao estudo.

O protocolo experimental compreendeu inicialmente um período de padronização de quinze dias, durante o qual os animais foram adaptados a uma dieta comercial para adultos em manutenção e tiveram sua Necessidade Energética de Manutenção (NEM) determinada. Após este período, foi realizada a primeira coleta de sangue para análise lipidômica (Grupo Obeso - OB). O protocolo de perda de peso foi então iniciado, com cálculo da Necessidade Energética para Perda de Peso (NEPP) utilizando a fórmula  $70 \times (\text{Peso Meta})^{0,75}$ , sendo o peso meta estabelecido como 20% abaixo do peso inicial. Os animais foram monitorados quinzenalmente, com ajustes alimentares realizados conforme a resposta individual, até atingirem escore corporal entre 4-5/9 ou completarem oito meses de protocolo. Ao atingirem o peso meta, uma nova coleta sanguínea foi realizada (Grupo Pós-Emagrecimento - WL).

As coletas para análise lipidômica foram padronizadas, sendo realizadas após jejum de 12 horas, com processamento imediato do soro e armazenamento a  $-80^\circ\text{C}$  até análise. Para garantir a consistência dos resultados, todos os animais receberam a mesma dieta durante todo o estudo, foram mantidos em condições ambientais controladas e as coletas foram realizadas sempre no período da manhã, seguindo protocolo de processamento de amostras. Esta abordagem metodológica permitiu avaliar especificamente as alterações no perfil lipídico associadas à perda de peso, minimizando a influência de variáveis (figura 1).

A extração lipídica foi realizada pelo método de Bligh & Dyer<sup>10</sup>, utilizando clorofórmio e metanol como solventes. O perfil lipídico foi analisado por MRM-profiling (Multiple Reaction Monitoring) em

espectrômetro de massa triplo quadrupolo (Agilent 6410), com avaliação de 3.437 transições iônicas relacionadas a 12 classes lipídicas.



Figura 1: Fluxograma temporal da metodologia aplicada durante execução do projeto (fonte autoral).

Os dados foram processados no software MetaboAnalyst 6.0, com normalização e análise multivariada por PLS-DA (Partial Least Squares Discriminant Analysis). A importância das diferentes espécies lipídicas na discriminação dos grupos foi avaliada através de VIP scores (Variable Importance in Projection). Além disso, foi realizada análise de enriquecimento funcional utilizando a plataforma LION (Lipid Ontology) para identificar vias metabólicas e propriedades físico-químicas associadas aos lipídios diferencialmente abundantes.

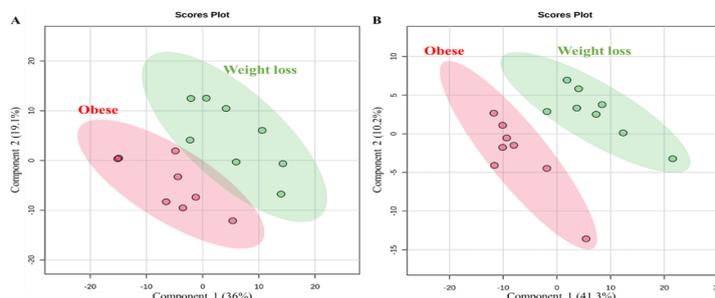
As comparações estatísticas entre os grupos OB e WL foram realizadas utilizando teste t ( $P \leq 0,05$ ) e análise de fold change ( $\geq 1,5$ ). Também foi avaliada a correlação entre as classes lipídicas alteradas e parâmetros clínicos como peso corporal e escore de condição corporal.

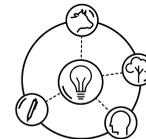
Esta metodologia permitiu uma caracterização abrangente das alterações no perfil lipídico sérico associadas à obesidade canina e sua modulação após a perda de peso, fornecendo dados robustos para a identificação de potenciais biomarcadores metabólicos.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo avaliou as alterações no perfil lipídico sérico de oito cães obesos submetidos a um protocolo de perda de peso. Os animais apresentaram redução média de 23,5% no peso corporal (variando de 21,05% a 30,2%) e melhora significativa no escore de condição corporal após a intervenção nutricional.

A análise lipidômica identificou 630 espécies lipídicas, com predominância de triglicerídeos (301 espécies), fosfatidilcolinas (119) e diglicerídeos (62). Os resultados demonstraram diferenças significativas entre os grupos obeso (OB) e pós-emagrecimento (WL). No grupo OB, observou-se aumento de triglicerídeos específicos (TG 49:8, 51:7, 51:8, 53:8, 55:8, 55:9), ésteres de colesterol (CE 20:5), fosfatidilcolinas (PC 35:4, 36:4) e esfingomielina SM(D18:2/22:1). Por outro lado, houve redução significativa de TG 52:6, TG 54:11, PC 34:6, PC 40:3, PC 44:3, PE 36:3 e PE 40:6 nos animais obesos (figura 2).





**Figura 2:** Gráfico de análise discriminante por mínimos quadrados parciais da distribuição de lipídios séricos no método 1 (A; triglicerídeos e diglicerídeos; n = 363) e método 2 (B; acilcarnitina, ésteres de colesterol, ceramidas, fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilglicerol, fosfatidilinositol e fosfatidilserina, e esfingomielina; n = 267) em cães obesos e após perda de peso (Fonte autoral).

A análise por classes lipídicas revelou que cães OB apresentaram concentrações significativamente maiores de ésteres de colesterol (P=0,047), fosfatidilcolinas (P=0,043), fosfatidilinosítois (P=0,038) e esfingomielinas (P=0,023) em comparação ao grupo WL. Entretanto, não foram observadas diferenças significativas no comprimento da cadeia de carbono ou grau de insaturação dos triglicerídeos e diglicerídeos entre os grupos.

A análise de enriquecimento funcional (LION) identificou termos significativamente enriquecidos (FDR≤0,05), incluindo componentes de membrana, retículo endoplasmático, glicerofosfolípidios, esfingosina (D18:1) e propriedades relacionadas à espessura da bicamada lipídica. Estes resultados sugerem que a obesidade canina está associada a alterações específicas no perfil lipídico sérico, muitas das quais são parcialmente reversíveis após a perda de peso<sup>7</sup>.

Os achados deste estudo corroboram pesquisas anteriores em humanos e modelos animais, que associam o aumento de esfingomielinas e fosfatidilcolinas com resistência à insulina e disfunção mitocondrial<sup>8,9</sup>. A elevação observada nos triglicerídeos com cadeias médias pode indicar maior atividade da lipase lipoproteica no tecido adiposo, enquanto a redução dos triglicerídeos poli-insaturados pode refletir aumento do estresse oxidativo em cães obesos<sup>2,3</sup>.

O enriquecimento de termos como retículo endoplasmático e esfingosina na análise LION apoia a hipótese de que a obesidade canina compartilha vias metabólicas com a humana, incluindo desregulação na síntese de ceramidas<sup>8,9</sup>. Contudo, a ausência de diferenças nas ceramidas totais entre os grupos sugere particularidades no metabolismo lipídico canino que merecem investigação adicional.

A normalização parcial dos níveis de fosfatidilcolinas e esfingomielinas após a perda de peso sugere que estas classes lipídicas podem servir como biomarcadores dinâmicos da recuperação metabólica. No entanto, a persistência de alterações em alguns triglicerídeos e ésteres de colesterol indica que intervenções nutricionais específicas podem ser necessárias para a completa restauração da homeostase lipídica em cães<sup>3</sup>.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo proporcionou uma análise abrangente das alterações no perfil lipídico sérico de cães obesos antes e após um protocolo de perda de peso. Desse modo, pode-se considerar que a obesidade canina está associada a alterações significativas no perfil lipídico sérico, caracterizadas por dislipidemia. Além disso, observou-se que parte dessas alterações foi parcialmente revertida após o protocolo nutricional de perda de peso, o que reforça o potencial do perfil lipídico como marcador metabólico.

Nesse viés, as alterações que apresentaram reversão parcial após a perda de peso sugerem que o monitoramento do perfil lipídico pode se tornar uma ferramenta de relevância complementar na prática clínica veterinária. Propõe-se a inclusão de análises lipidômicas nos protocolos de manejo da obesidade canina, permitindo não apenas identificar animais com maior risco de desenvolver comorbidades metabólicas, mas também monitorar de forma mais precisa a resposta às intervenções terapêuticas. Os achados indicam ainda a necessidade de desenvolver formulações dietéticas específicas, potencialmente enriquecidas com ácidos graxos poli-insaturados e compostos bioativos capazes de modular o metabolismo lipídico, visando à completa normalização metabólica.

Para pesquisas futuras, recomenda-se a realização de estudos longitudinais que acompanhem a dinâmica temporal das alterações lipídicas durante todo o processo de emagrecimento, desde o estado obeso até a manutenção do peso ideal. Seria particularmente relevante investigar a associação entre espécies lipídicas específicas e o desenvolvimento de comorbidades frequentemente associadas à obesidade canina, como diabetes mellitus e artropatias. Estudos intervencionais que testem diferentes perfis de dieta poderiam elucidar

estratégias nutricionais mais eficazes para a normalização metabólica. Adicionalmente, pesquisas focadas nos mecanismos moleculares subjacentes, com ênfase na sinalização por esfingolípídios e na função mitocondrial, poderiam aprofundar nossa compreensão sobre a fisiopatologia da obesidade canina. A realização de estudos multicêntricos com amostras maiores e que incluam diferentes raças seria fundamental para estabelecer padrões mais robustos e amplamente aplicáveis.

Os resultados deste estudo abrem novas perspectivas para o manejo da obesidade canina, destacando a importância de abordagens personalizadas que considerem não apenas a redução de peso corporal, mas também a normalização do perfil metabólico. A integração da lipidômica na prática clínica veterinária representa um avanço promissor, com potencial para revolucionar a prevenção e o tratamento das complicações associadas à obesidade em cães. A elucidação dos mecanismos lipídicos envolvidos na obesidade canina pode ainda contribuir para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas e marcadores prognósticos, beneficiando tanto a medicina veterinária quanto a compreensão da obesidade em um contexto translacional mais amplo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- SÖDER, 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. 1-17, 2017. doi: 10.1371/journal.pone.0180086.
- 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, n. 4, p. 126-135, 2018. doi: 10.1053/j.tcam.2018.08.003.
- 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. doi: 10.1007/s11306-020-01753-4.
- CAI, Y. et al. **Deciphering of differences in gut microbiota and plasma metabolites profile between non-obese and obese Golden Retrievers dogs.** Frontiers in Microbiology, v. 15, 2025. doi: 10.3389/fmicb.2024.1514633.
- DOMENICK, T. M. et al. **Mass spectrometry-based cellular metabolomics: current approaches, applications, and future directions.** Analytical Chemistry, v. 93, p. 546-566, 2021.
- HAN, X.; GROSS, R. W. **The foundations and development of lipidomics.** Journal of Lipid Research, v. 63, n. 2, p. 100164, 2022. doi: 10.1016/j.jlr.2021.100164.
- HAN, X. **Lipidomics for studying metabolism.** Nature Reviews Endocrinology, v. 12, n. 11, p. 668-679, 2016. doi: 10.1038/nrendo.2016.98.
- MACEYKA, M. et al. **Sphingosine-1-phosphate signaling and its role in disease.** Trends in Cell Biology, v. 22, n. 1, p. 50-60, 2012.
- GUITTON, J. et al. **Sphingosine-1-Phosphate Metabolism in the Regulation of Obesity/Type 2 Diabetes.** Cells, v. 9, n. 7, p. 1682, 2020. doi: 10.3390/cells9071682.
- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. **A rapid method of total lipid extraction and purification.** Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959. doi: 10.1139/o59-099.

APOIO:

