

ALTERAÇÕES NA LIPIDÔMICA SÉRICA DE CÃES OBESOS: UM ESTUDO PRÉ- E PÓS-EMAGRECIMENTO

PEDRO H. MARCHI¹, LEONARDO A. PRÍNCIPE¹, GABRIELA L. F. FINARDI¹, DANIEL S. ANTONELO², NICOLLE P. N. GONÇALVES¹, MÁRCIA M. JERICÓ¹, DENISE T. FANTONI³, JÚLIO C. C. BALIEIRO¹, THIAGO H. A. VENDRAMINI¹

1Centro de Pesquisa em Nutrologia de Cães e Gatos (CEPEN Pet), FMVZ/USP, Pirassununga, SP; 2Lipid Marker Omics Sciences, Leme, SP; 3Núcleo de Multicidades, FMVZ/USP, São Paulo, SP
Contato: pedro.henrique.marchi@usp.br / Apresentador: PEDRO H. MARCHI

Resumo: Evidências sugerem alterações no metabolismo lipídico de cães obesos, mas nenhum estudo caracterizou o lipidoma sérico destes animais. Desta maneira, este estudo buscou identificar alterações no perfil lipídico de cães obesos antes e após perda de peso. Oito cães obesos clinicamente estáveis e castrados (machos e fêmeas, $5,37 \pm 1,41$ anos, $27,15 \pm 12,02$ kg) receberam uma única dieta comercial para perda de peso ao longo do experimento. Após adaptação dietética de três semanas, coletou-se sangue para análise lipidômica antes do emagrecimento. Um programa padronizado de perda de peso foi conduzido até que os cães atingissem o escore de condição corporal ideal, seguido por uma análise lipidômica final. Foi realizada análise lipidômica direcionada por perfil de monitoramento de múltiplas reações. Os dados do lipidoma foram analisados no MetaboAnalyst 6.0 e enriquecidos por ontologia lipídica. Foram evidenciadas diferenças no lipidoma sérico de cães obesos antes e após a perda de peso, com destaque no aumento da concentração de esfingolipídios e fosfolipídios, cujas evidências associam-se ao desenvolvimento, progressão e comorbidades da obesidade. Os achados ajudam a estabelecer um perfil lipidômico de cães obesos e basearão novos estudos sobre obesidade canina e suas comorbidades.

PalavrasChaves: canino, ciências ômicas, endocrinologia, perfil lipídico.

SHIFTS IN THE SERUM LIPIDOME OF OBESE DOGS: A PRE- AND POST-WEIGHT LOSS STUDY

Abstract: Evidence suggests alterations in the lipid metabolism of obese dogs, but no study has characterized the serum lipidome of these animals. Therefore, this study aimed to identify changes in the lipid profile of obese dogs before and after weight loss. Eight clinically stable, neutered obese dogs (males and females, 5.37 ± 1.41 years, 27.15 ± 12.02 kg) were fed a single commercial weight-loss diet throughout the experiment. After a three-week dietary adaptation period, blood was collected for lipidomic analysis before weight loss. A standardized weight-loss program was conducted until the dogs reached an ideal body condition score, followed by a final lipidomic analysis. Targeted lipidomic analysis was performed using a multiple reaction monitoring profile. The lipidome data were analyzed in MetaboAnalyst 6.0 and enriched with lipid ontology. Differences in the serum lipidome of obese dogs before and after weight loss were highlighted, with a notable increase in sphingolipid and phospholipid concentrations, which are associated with the development, progression, and comorbidities of obesity. These findings help establish a lipidomic profile of obese dogs and will serve as a basis for future studies on canine obesity and its comorbidities.

Keywords: canine, endocrinology, lipid profile, omics sciences.

Introdução: A obesidade, enquanto acúmulo disfuncional de tecido adiposo, resulta em uma complexa rede de respostas metabólicas alteradas nos cães. Estudos apontam para alterações gerais no metabolismo dos lipídios, como aumento da concentração de lipoproteínas, fosfolipídios e fosfatidilcolinas, redução nas concentrações de carnitina e modulação de vias metabólicas (Forster et al., 2018; Söder et al., 2019; Cai et al., 2025). No entanto, mesmo que a metabolômica identifique algumas classes de lipídios, suas análises são limitadas devido às particularidades físico-químicas dessas moléculas (Han & Gross, 2022). Nesse contexto, a lipidômica possibilita uma investigação direcionada de milhares de espécies lipídicas e evidencia alterações exatas do perfil (Han & Gross, 2022). Uma vez que nenhum estudo examinou o lipidoma sérico de cães obesos, esta pesquisa buscou identificar as alterações no perfil lipídico de cães obesos antes e depois da perda de peso.

Material e Métodos: Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais. Oito cães obesos castrados e clinicamente estáveis (machos e fêmeas, $5,37 \pm 1,41$ anos, $27,15 \pm 12,02$ kg e escore de condição corporal 9 ± 0) receberam uma única dieta comercial para perda de peso durante todo o experimento. Inicialmente, passaram por três semanas de adaptação para padronização da dieta e determinação da necessidade energética de manutenção. No 21º dia, foi coletado sangue para análise lipidômica dos cães ainda obesos. O emagrecimento iniciou-se com a necessidade energética estimada com base no peso meta (PM), 20% menor que o inicial, e calculada pela equação $NEPP = 70 \times PM^{0,75}$, com ajustes na ingestão calórica a cada 15 ou 21 dias. O protocolo seguiu até o escore de condição corporal ideal, quando houve nova coleta de sangue para análise lipidômica dos emagrecidos. A análise lipidômica direcionada utilizou monitoramento de reações múltiplas (MRM-profiling) em espectrômetro de massas triplo sem separação cromatográfica (Agilent 6410, Agilent Technologies, CA, EUA). No total, 3.437 transições de íons lipídicos foram organizadas em dois métodos: método 1, que incluiu triglicerídeos e diglicerídeos; método 2, que contemplou os demais (Xie et al., 2021). Os dados foram processados no MetaboAnalyst 6.0 (Chong et al., 2019) e normalizados por Pareto antes das análises. Foram realizados teste t de Student, análise de *volcano plot*, análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA), gráfico de importância das variáveis na projeção (VIP) e enriquecimento de ontologia lipídica (LION).

Resultado e Discussão: Os cães apresentaram redução de $23,68 \pm 3,18\%$ do peso inicial, e taxa de perda semanal de $1,01 \pm$

0,26%. Foram identificadas 630 espécies de lipídios (363 no método 1 e 267 no método 2). Após agrupamento, observou-se aumento de ésteres de colesterol, fosfatidilcolinas, fosfatidilinosítois e esfingomielinas no soro de cães obesos comparados aos emagrecidos (Tabela 1). O *volcano plot* revelou 34 espécies lipídicas com alterações significativas em cães obesos antes da perda de peso (Figura 1). O PLS-DA elucidou clara diferenciação entre o lipidoma de cães obesos e emagrecidos, com alta capacidade preditiva para ambos os métodos (Figura 2). A análise de escores VIP destacou os 15 principais lipídios responsáveis por essa separação (Figura 3). O enriquecimento LION identificou 11 termos significativamente enriquecidos relacionados a componentes celulares e propriedades lipídicas diferentes entre os grupos (Tabela 2). Os lipídios destacados no *volcano plot* e gráfico VIP podem ser potenciais marcadores da obesidade canina. Ademais, os cães obesos apresentaram maior concentração e enriquecimento significativo de alguns fosfolipídios. Embora a relação ainda não esteja totalmente esclarecida, estudos relataram aumento na concentração de fosfolipídios em cães e humanos obesos (Rauschert et al., 2015; Forster et al., 2018). Ademais, o aumento das esfingomielinas e esfingosina em cães obesos sugere mecanismos semelhantes aos observados em humanos, associados à obesidade, câncer e distúrbios cardiopulmonares (Ogretmen et al., 2018; Torretta et al., 2019).

Tabela 1. Médias, erros-padrão da média (EPM) e valores de probabilidade (P-valor) das concentrações de classes lipídicas em cães obesos e emagrecidos.

Classe lipídica, ng/μL	Obeso	Emagrecido	EPM	P-valor
Ceramida	0,0021	0,0019	0,0001	0,153
Éster de colesterol	8,68	6,11	0,706	0,047
Diglicerídeo	2,45	2,40	0,402	0,959
Lisofosfatidilcolina	0,064	0,050	0,0039	0,076
Lisofosfatidiletanolamina	3,54	2,65	0,226	0,486
Fosfatidilcolina	0,0018	0,0017	0,0001	0,043
Fosfatidiletanolamina	0,052	0,048	0,0028	0,462
Fosfatidilglicerol	0,011	0,010	0,0005	0,373
Fosfatidilinositol	0,125	0,087	0,0093	0,038
Fosfatidilserina	0,015	0,013	0,0006	0,084
Esfingomielina	1,10	0,79	0,072	0,023
Triglicerídeo	1,27	1,15	0,190	0,767

Tabela 2. Termos significativamente enriquecidos na análise de ontologia lipídica (LION) do lipidoma sérico dos cães obesos e emagrecidos.

ID do termo	Descrição	Lipídios	Q-valor
LION:0012010	Componente de membrana	257	<0,001
LION:0000095	Grupo polar com carga positiva	202	<0,001
LION:0000003	Glicerofosfolipídios	184	<0,001
LION:0012080	Reticulo endoplasmático	181	<0,001
LION:0000030	Diacilglicerofosfolipídios	116	0,003
LION:0012081	Mitocôndria	36	0,005
LION:0000010	Glicerofosfolipídios	134	0,008
LION:0002966	Ácido graxo saturado ou monoinsaturado	69	0,019
LION:0080947	D18:1 (esfingosina)	10	0,026
LION:0000038	Diacilglicerofosfoetanolaminas	26	0,026
LION:0000011	Glicerofosfoetanolaminas	30	0,035

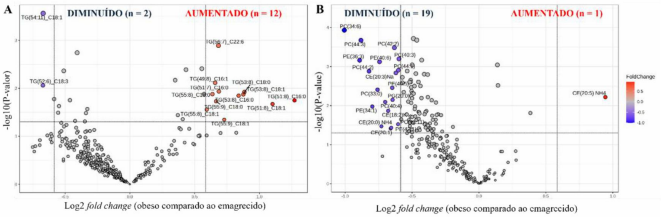


Figura 1 – Volcano plot dos lipídios séricos nos métodos 1 (A) e 2 (B), que evidencia as espécies lipídicas que estavam aumentadas (vermelho) ou reduzidas (azul) no perfil lipídico dos cães obesos em comparação ao perfil após a perda de peso.

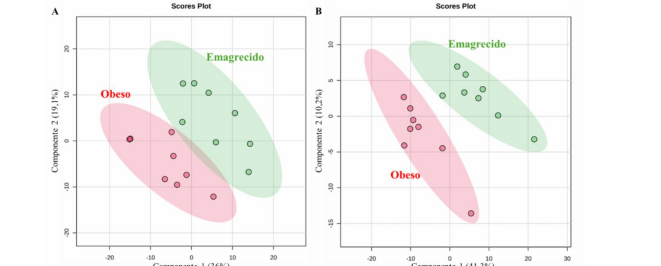


Figura 2 – PLS-DA do lipidoma sérico nos métodos 1 (A) e 2 (B) em cães obesos e emagrecidos.

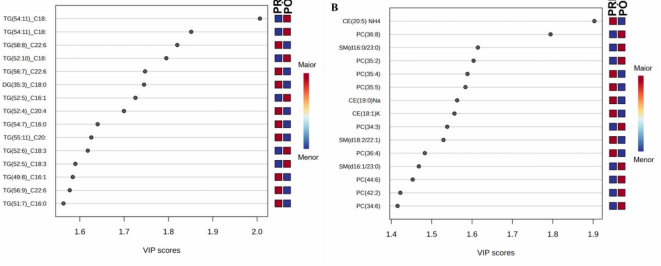


Figura 3 – Gráfico VIP dos lipídios séricos que mais influenciaram a separação do lipidoma séricos dos cães obesos e emagrecidos nos métodos 1 (A) e 2 (B).

Conclusão: O estudo evidencia alterações específicas no metabolismo lipídico de cães obesos antes e após o emagrecimento. Classes e espécies lipídicas, vias metabólicas e termos LION associados ao desenvolvimento e progressão da obesidade e suas comorbidades foram reveladas e sugeridas como potenciais objetos de estudo para futuras descobertas.

Agradecimentos: Os autores agradecem a Lipid Marker Omics Sciences pelo suporte na execução do estudo.

Referências Bibliográficas: 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. CHONG, J. et al. Using MetaboAnalyst 4.0 for comprehensive and integrative metabolomics data analysis. *Current Protocols in Bioinformatics*, v. 68, n. 1, p. e86, 2019. HAN, X.; GROSS, R. W. The foundations and development of lipidomics. *Journal of Lipid Research*, v. 63, n. 2, p. 100164, 2022. OGRETMEN, B. Sphingolipid metabolism in cancer signalling and therapy. *Nature Reviews Cancer*, v. 18, n. 1, p. 33-50, 2018. 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. RAUSCHERT, S. et al. Lipidomics reveals associations of phospholipids with obesity and insulin resistance in young adults. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, v. 101, n. 3, p. 871-879, 2016 SÖDER, J. et al. Plasma metabolomics reveals lower carnitine concentrations in overweight Labrador Retriever dogs. *Acta Veterinaria Scandinavica*, v. 61, p. 10, 2019. TORRETTA, E. et al. Sphingolipids in obesity and correlated co-morbidities: the contribution of gender, age and environment. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 20, 5901, 2019. XIE, Z. et al. Multiple reaction monitoring profiling (MRM profiling): Small molecule exploratory analysis guided by chemical functionality. *Chemistry and Physics of Lipids*, v. 235, p. 105048, 2021.