

SARCOPENIA EM GATOS IDOSOS ESTÁ ASSOCIADA À REDUÇÃO DE COBALAMINA E FOLATO E A ALTERAÇÕES NA MICROBIOTA FECAL

MARIA EDUARDA G. TOZATO¹, STEPHANIE S. THEODORO², TICIANE G.B. FREIRE¹, CECILIA P. SOUZA¹, LETICIA L. ARAUJO¹, FÁBIO A. TEIXEIRA³, JULIANA T. JEREMIAS⁴, AULUS C. CARCIOFI¹.

¹Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal; ²Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, (FZEA/USP), Pirassununga; ³Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, Brasil, ⁴PremierPet
Contato: aulus.carciofi@unesp.br / Apresentador: MARIA EDUARDA G. TOZATO

Resumo: Este estudo avaliou condição corporal e muscular, biomarcadores séricos (folato, cobalamina, albumina e proteína amiloide sérica A (SAA)), marcadores fecais imunes e inflamatórios (IgA e calprotectina) e a microbiota fecal em gatos em diferentes fases da vida. Trinta e seis gatos foram distribuídos nos grupos (n=12 por grupo) jovem ($2,2 \pm 1,0$ anos), maduro ($8,8 \pm 1,5$ anos) e idoso ($16,7 \pm 1,6$ anos) e alimentados com a mesma dieta comercial por 60 dias. Gatos idosos apresentaram menores escores de condição corporal e muscular ($P < 0,05$), indicando perda progressiva de massa corporal associada ao envelhecimento. Também foram observadas reduções nas concentrações séricas de albumina, folato e cobalamina ($P < 0,05$). A queda da cobalamina já foi detectada em gatos maduros, e 33% dos gatos com mais de 16 anos apresentaram valores abaixo do intervalo de referência. Não houve diferenças significativas para SAA, creatinina ou ALT. As concentrações fecais de IgA foram maiores em gatos jovens e menores em idosos ($P < 0,05$), enquanto a calprotectina não diferiu entre grupos. A microbiota fecal apresentou redução de *Faecalibacterium*, *Bacteroides* e *Bifidobacterium* e aumento de *Turicibacter* e *Streptococcus* em gatos idosos ($P < 0,05$), indicando remodelação microbiana associada ao envelhecimento.

Palavras-Chaves: envelhecimento; microbiota intestinal; cobalamina; índice de disbiose.

SARCOPENIA IN ELDERLY CATS IS ASSOCIATED WITH REDUCED COBALAMIN AND FOLATE LEVELS AND WITH ALTERATIONS IN THE FECAL MICROBIOTA.

Abstract: This study evaluated the body and muscle condition, serum biomarkers (folate, cobalamin, albumin, and serum amyloid A (SAA)), fecal immune and inflammatory markers (IgA and calprotectin), and the fecal microbiota in cats at different life stages. Thirty-six cats were assigned to the young (2.2 ± 1.0 years), mature (8.8 ± 1.5 years), and senior (16.7 ± 1.6 years) groups (n=12 per group) and were fed the same commercial diet for 60 days. Senior cats showed lower body condition and muscular scores ($P < 0.05$), indicating progressive loss of body mass associated with aging. Reductions were also observed in serum concentrations of albumin, folate, and cobalamin ($P < 0.05$). The decline in cobalamin was already detected in mature cats, and 33% of cats over 16 years old had values below the reference range. There were no significant differences in SAA, creatinine, or ALT. Fecal IgA concentrations were higher in young cats and lower in seniors ($P < 0.05$), while calprotectin did not differ among groups. The fecal microbiota showed a reduction in *Faecalibacterium*, *Bacteroides*, and *Bifidobacterium*, and an increase in *Turicibacter* and *Streptococcus* in senior cats ($P < 0.05$), indicating microbial remodeling associated with aging.

Keywords: Aging; gut microbiota; cobalamin; dysbiosis index.

Introdução: Gatos entre 7 e 10 anos são considerados adultos maduros e aqueles acima de 10 anos são classificados como idosos (QUIMBY et al., 2021). Na fase idosa podem ocorrer alterações nutricionais e metabólicas, incluindo redução na digestibilidade de nutrientes, deficiências de vitaminas do complexo B e mudanças na microbiota intestinal (JIA et al., 2011). O envelhecimento em gatos está associado, ainda, à perda de massa muscular, ou sarcopenia e alterações na função imunológica (ROSATO; SALSANO, 2008). Este processo de imunossenescência, caracterizado pelo declínio da função imune, aumenta a suscetibilidade a enfermidades e pode reduzir a capacidade de resposta a estresses fisiológicos (NYUNT, 2002). Assim, este estudo comparou a condição corporal e muscular, biomarcadores séricos (folato, cobalamina, albumina e proteína amiloide sérica A (SAA)), marcadores fecais imunes e inflamatórios (IgA e calprotectina) e a microbiota fecal em gatos em diferentes fases da vida.

Material e Métodos: Foram utilizados 36 gatos sem raça definida, sua saúde foi avaliada por exame físico, hemograma e análises bioquímicas (creatinina e alanina aminotransferase (ALT)). Foram incluídos gatos adultos saudáveis e gatos idosos saudáveis ou com doença renal crônica em estágios 1 e 2 (IRIS). Estes foram distribuídos em três grupos etários (n=12 por grupo): jovem ($2,2 \pm 1,0$ anos), maduro ($8,8 \pm 1,5$ anos) e idoso ($16,7 \pm 1,6$ anos). Em delineamento inteiramente casualizado, os gatos receberam um mesmo alimento comercial por 60 dias de adaptação, permanecendo alojados em ambiente coletivo ou em seus domicílios. Após este período, sua condição corporal (1–9) e muscular (0–3) foram avaliadas e amostras sanguíneas em jejum foram coletadas para análise de folato, cobalamina, albumina e proteína sérica amiloide A (SAA) (Bionostic Laboratory, Curitiba, Brasil). Para coleta de fezes, as caixas de areia foram monitoradas em intervalos de 15 minutos, estas foram avaliadas quanto ao escore e armazenadas a -80°C . A IgA fecal foi quantificada por ELISA (Immunology Consultants Laboratory, Portland, EUA) e a calprotectina por ELISA (MyBioSource, San Diego, EUA) com leitura em microplacas (Dynex Technology, EUA). Por meio de PCR quantitativo (qPCR) foram quantificadas as populações de *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *E. coli*, *Faecalibacterium*, *Fusobacterium*, *Streptococcus* e *Turicibacter* e calculado o índice de disbiose (ID) (Stonewell, São Paulo, Brasil). Os dados foram analisados por ANOVA e teste de Tukey ou Kruskal-Wallis ($P < 0,05$).

Resultado e Discussão: Gatos idosos apresentaram menores escores de condição corporal (ECC) e de massa muscular (EMM) que gatos jovens e maduros ($P < 0,05$) (Tabela 1), evidenciando perda progressiva de tecido magro e adiposo com o

envelhecimento (LAFLAMME, 2005). A concentração sérica de albumina foi menor em gatos adultos maduros e idosos, enquanto o folato e a cobalamina foram menores apenas nos idosos em relação aos jovens ($P < 0,05$). A queda da cobalamina já foi verificada em alguns gatos maduros e 33% dos gatos com mais de 16 anos apresentaram valores abaixo do intervalo de referência, sugerindo alterações na absorção de nutrientes ou aumento das demandas metabólicas associadas ao envelhecimento. Não foram observadas diferenças entre os grupos para proteína amiloide sérica A ($< 5,0 \mu\text{g/mL}$), creatinina ou ALT ($P > 0,05$). As concentrações fecais de IgA foram maiores em gatos jovens e menores em idosos, com valores intermediários nos adultos ($P < 0,05$; Tabela 2), indicando possível redução da imunidade de mucosa com o envelhecimento, compatível com imunossenescência (ZAINÉ et al., 2011). As concentrações de calprotectina não diferiram entre os grupos ($P > 0,05$). As abundâncias de *Faecalibacterium*, *Bacteroides* e *Bifidobacterium* foram menores em gatos idosos ($P < 0,05$). Em contraste, *Turicibacter* e *Streptococcus* foram maiores nos idosos ($P < 0,05$), sugerindo tendência a um perfil microbiano potencialmente pró-inflamatório (JIA et al., 2011). Entretanto, o índice de disbiose não diferiu entre os grupos ($P > 0,05$), sugerindo remodelação da microbiota sem caracterizar disbiose.

Tabela 1. Condição corporal e metabólitos séricos de gatos de diferentes faixas etárias.

Variáveis	Idade			Valor de p
	2,2±1,0 anos	8,8±1,5 anos	16,7±1,6 anos	
ECC (1-9)	5,30 ± 0,40 ^a	6,70 ± 0,40 ^a	4,30 ± 0,40 ^b	<0,001
EMM (0-3)	3,00 ± 0,01 ^a	2,70 ± 0,50 ^a	1,90 ± 0,80 ^b	<0,001
Albumina (g/dl)	4,00 ± 0,10 ^a	3,50 ± 0,50 ^b	3,20 ± 0,30 ^b	<0,001
Folato (ng/mL)	23,30 ± 2,10 ^a	24,20 ± 1,40 ^a	20,10 ± 3,40 ^b	<0,001
Cobalamina (pg/mL)	1044 ± 41 ^a	800 ± 198 ^{ab}	805 ± 298 ^b	<0,001

^{a, b} Médias nas linhas sem uma letra em comum diferem significativamente ($P < 0,05$) ECC: escore de condição corporal; EMM: escore de massa muscular (Laflamme, 1997).

Tabela 2. Metabólicos e parâmetros microbianos fecais de gatos de diferentes faixas etárias.

Variáveis	Idade			Valor de p
	2,2±1,0 anos	8,8±1,5 anos	16,7±1,6 anos	
IgA mg/g (DM)	0,72 ± 0,01 ^a	0,59 ± 0,01 ^{ab}	0,54 ± 0,01 ^b	0,049
Calprotectina mg/g (DM)	0,0015 ± 0,01 ^a	0,0012 ± 0,01 ^a	0,0011 ± 0,01 ^a	0,143
<i>Faecalibacterium</i> (log DNA)	6,50 ± 0,20 ^a	6,40 ± 0,20 ^{ab}	6,30 ± 0,30 ^b	0,003
<i>Turicibacter</i> (log DNA)	5,30 ± 0,30 ^b	5,30 ± 0,20 ^b	5,80 ± 0,30 ^a	<0,001
<i>Streptococcus</i> (log DNA)	3,20 ± 0,20 ^b	3,40 ± 0,20 ^{ab}	3,60 ± 0,30 ^a	0,02
<i>E. Coli</i> (log DNA)	4,00 ± 1,30	4,40 ± 1,40	4,50 ± 1,10	0,591
<i>Clostridium hiranonis</i> (log DNA)	6,20 ± 0,20	6,10 ± 0,30	6,00 ± 0,30	0,657
<i>Bifidobacterium</i> (log DNA)	6,00 ± 0,50 ^a	5,60 ± 0,80 ^{ab}	5,20 ± 0,50 ^b	0,027
<i>Bacteroides</i> (log DNA)	7,00 ± 0,40 ^a	6,80 ± 0,20 ^a	6,30 ± 0,50 ^b	<0,001
Índice de disbiose	-1,96 ± 0,51	-1,39 ± 0,54	-1,78 ± 0,47	0,773

^{a, b} Médias nas linhas sem uma letra em comum diferem significativamente ($P < 0,05$).

Conclusão: A redução do escore corporal e massa magra reforçam a presença de sarcopenia em gatos idosos, acompanhada por redução da albumina, cobalamina e folato séricos. Foram verificadas também alterações na composição da microbiota fecal, achados que reforçam a necessidade de estratégias nutricionais que favoreçam a homeostase da comunidade microbiana, síntese proteica e status vitamínico de gatos idosos.

Agradecimentos: À FAPESP (2023/06608-2), pela bolsa de doutorado, e à Premier Pet pelo financiamento deste estudo. À MBRF e à Adimax pelo suporte ao laboratório.

Referências Bibliográficas: JIA, J.; KHOO, C.; GIBSON, G. R.; RASTALL, R. A.; MCCARTNEY, A. L. Investigation of the faecal microbiota of geriatric cats. *Letters in Applied Microbiology*, v. 53, n. 3, p. 288-293, 2011. QUIMBY, J. M.; GOWLAND, S.; CARNEY, H. C.; DEPORTER, T.; PLUMMER, P.; WESTROPP, J. L. 2021 AAHA/AAFP feline life stage guidelines. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, v. 23, n. 3, p. 211-233, 2021. LAFLAMME, D. Development and validation of a body condition score system for cats: a clinical tool. *Feline Practice*, v. 25, p. 13-18, 1997. LAFLAMME, D. Nutrition for aging cats and dogs and the importance of body condition. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 35, n. 3, p. 713-742, 2005. NYUNT, W. U. Physiology of aging. *Myanmar Journal of Current Medical Practice*, v. 7, n. 1, p. 6-14, 2002. ROSATO, E.; SALSANO, F. Immunosenescence and autoimmunity. *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*, v. 22, n. 4, p. 217-220, 2008. ZAINÉ, L.; FERREIRA, C.; GOMES, M. de O.; MONTI, M.; TORTOLA, L.; VASCONCELLOS, R. S.; CARCIOFI, A. C. Faecal IgA concentration is influenced by age in dogs. *British Journal of Nutrition*, v. 106, supl. 1, p. S183-S186, 2011.