

LEONARDO DE ANDRADE PRÍNCIPE

**Avaliação dos efeitos da proteína de frango hidrolisada por processo enzimático na pressão arterial e microbiota retal de felinos idosos e obesos: um modelo para hipertensão humana**

Pirassununga, SP

2024

LEONARDO DE ANDRADE PRÍNCIPE

**Avaliação dos efeitos da proteína de frango hidrolisada por processo enzimático na pressão arterial e microbiota retal de felinos idosos e obesos: um modelo para hipertensão humana**

**VERSÃO CORRIGIDA**

Dissertação 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 Mestre em Ciências.

**Departamento:**

Nutrição e Produção Animal (VNP)

**Área de concentração:**

Nutrição e Produção Animal

**Orientador:**

Prof. Dr. Thiago Henrique Annibale  
Vendramini

Pirassununga

2024

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

#### DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

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

Príncipe, Leonardo de Andrade

Avaliação dos efeitos da proteína de frango hidrolisada por processo enzimático na pressão arterial e microbiota retal de felinos idosos e obesos: um modelo para hipertensão humana / Leonardo de Andrade Príncipe ; orientador Thiago Henrique Annibale Vendramini. – Pirassununga, 2024  
107 f. : il.

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal – Departamento de Nutrição e Produção Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2024.

1. Aldosterona. 2. Gatos. 3. Enzima conversora de angiotensina. 4. Microbioma. 5. Peptídeos.  
I. Título.



## CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Efeito da proteína de frango hidrolisada por processo enzimático na pressão arterial de felinos idosos e obesos: um modelo para hipertensão humana", protocolada sob o CEUA nº 8609280422 (ID 009613), sob a responsabilidade de **Thiago Henrique Annibale Vendramini e equipe; Leonardo de Andrade Príncipe** - 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 Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 09/11/2022.

We certify that the proposal "Effect of enzymatically hydrolyzed chicken protein on blood pressure in elderly and obese felines: a model for human hypertension", utilizing 12 Cats (males and females), protocol number CEUA 8609280422 (ID 009613), under the responsibility of **Thiago Henrique Annibale Vendramini and team; Leonardo de Andrade Príncipe** - 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 11/09/2022.

Finalidade da Proposta: Pesquisa

Vigência da Proposta: de 06/2022 a 04/2024 Área: Clínica Médica Veterinária

Origem: Animais de proprietários

Espécie: Gatos

sexo: Machos e Fêmeas

idade: 9 a 12 anos

Quantidade: 12

Linhagem: SRD

Peso: 3 a 7 kg

São Paulo, 16 de fevereiro de 2024

Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna

Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia  
Universidade de São Paulo

Profa. Dra. Camilla Mota Mendes

Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia  
Universidade de São Paulo



**CERTIFICADO : EMENDA** v15/01/2024

Certificamos que a EMENDA (versão de 15/01/2024) da proposta intitulada "Efeito da proteína de frango hidrolisada por processo enzimático na pressão arterial de felinos idosos e obesos: um modelo para hipertensão humana", CEUA nº 8609280422 (027371), sob a responsabilidade de **Thiago Henrique Annibale Vendramini e equipe; Leonardo de Andrade Príncipe; Leonardo de Andrade Príncipe** - 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 vigentes para sua apresentação, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), sendo assim **APROVADO** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) em 15/02/2024.

Pedido apresentado à CEUA: Solicitação de emenda para inclusão de quatro animais no projeto decorrente da necessidade no aumento do número amostral por tratamento. Inicialmente, nós solicitamos para o presente comitê a inclusão do número mínimo de animais para um ensaio em nutrição clínica (n=6). Porém, devido a natureza instável de algumas análises envolvidas no estudo, discutiu-se a possibilidade em aumentar o número amostral por tratamento para oito (n=8). Desta forma, caso hajam quaisquer intercorrências no processo de preparo, armazenamento, envio ou análise, o estudo se mantém preservado e não há perda em sua qualidade. Ademais, visto uma parceria firmada entre o Centro de Pesquisas em Nutrologia de Cães e Gatos e o Laboratório de Oncologia Comparativa e Medicina Translacional, surgiu a oportunidade de realização de análise de sequenciamento de microbiota fecal com custo reduzido. Dado o interesse em correlacionar determinados grupos taxonômicos com o desenvolvimento de alterações cardiovasculares, entre elas a hipertensão arterial em humanos e animais, tal análise torna-se valiosa para o conjunto de dados que serão abordados.

Considerações da CEUA: Não há óbices para a aprovação

Término previsto: 10/2023

Origem: Animais de proprietários

Espécie: Gatos

sexo: Machos e Fêmeas

Idade: 9 a 12 anos

Quantidade solicitada: 4

Linhagem: SRD

Peso: 3 a 7 kg

**ANIMAIS UTILIZADOS**

		Total Aprovado	Quantidade Utilizada
Gatos	Machos e Fêmeas	16	0

São Paulo, 16 de fevereiro de 2024

Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna

Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia  
Universidade de São Paulo

Profa. Dra. Camilla Mota Mendes

Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia  
Universidade de São Paulo

## FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: PRÍNCIPE, Leonardo de Andrade

Título: **Avaliação dos efeitos da proteína de frango hidrolisada por processo enzimático na pressão arterial e microbiota retal de felinos idosos e obesos: um modelo para hipertensão humana**

Dissertação 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 Mestre em Ciências.

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

### Banca Examinadora

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

*Aos meus pais Alexandre Príncipe e Lilian Andrea de Andrade Príncipe*

**Que me ensinaram a nunca desistir, obrigado.**

## **AGRADECIMENTOS**

Ajoelhar e agradecer diante da tarefa a ser cumprida. Sério, mas alegre, convicto e determinado.

Chego aqui para agradecer e louvar o ventre que me gerou, a mão do pai que me consagrou e o universo que me tomou. Louvar a água, o chão que me sustenta, a comida que me alimenta, a beira do abismo, o punhal do susto de cada dia. Agradecer às nuvens que logo são chuvas e clareiam os sentidos, e que me ensinaram a reviver. Agradecer aos amigos que fiz e os que deixei, que mantiveram a coragem de gostar de mim, apesar de mim. Agradecer a alegria das crianças, as borboletas azuis da sala, reais ou não. Agradecer a cada folha, toda raiz, as pedras majestosas e também aquelas pequeninas, como eu. Agradecer o sol que raia o dia e a lua, que como Deus, espalha luz, ilumina a escuridão e me traz sonhos. Agradecer as marés que levam para outros costões todos os males. Agradecer tudo que canta livre no ar, dentro do mato e sobre o mar. Agradecer ter o que agradecer, ou seja, louvar e abraçar a vida como ela é. E dessa maneira de ser, ver e sentir, que é parte de mim, quero agradecer aos meus pais, Alexandre Príncipe e Lilian Andrea de Andrade Príncipe, que me ensinaram a agradecer e a viver, com a alegria de ser feliz, de ser eu. Obrigado.

Aos meus avós Maria José e Aléssio e a minha tia Célia, que sempre me amaram e apoiaram minhas escolhas. Além disso me incentivaram como podiam para assim alcançar meus objetivos.

Gostaria de agradecer à uma família de anos: Lukinhas Gabriela, Edgard, Marcelo, Lucas, Victor, Guilherme, Camila, Henrique e João. Nunca esquecerei o apoio de vocês, as empadinhas compradas e a vaquinha que me possibilitaram vir até Pirassununga fazer o estágio. O ponto inicial de tudo que vivi, de estar nesse momento agora, foi graças a vocês também. Foram dois anos longe, a saudade de estar longe de vocês foi imensa e vezes dolorida em perder momentos tão especiais. Espero voltar logo, com tempo, para um parque a noite, um role na piscina, uma festa no Viana.

Agradecer aos meus grandes amigos: Thalita, Thais e Gustavo. Cinco anos de graduação me deram três amigos, uma grande conquista para mim. Obrigado por sempre estarem comigo em mensagens, pensamentos e energia. Sem vocês a



caminhada teria sido muito mais difícil. A base que vocês são para mim é tudo que eu preciso para levantar a cabeça e continuar.

Não há palavras para descrever o que vocês significam para mim: Tarik, Jennifer e Victor. Desde o primeiro até o último dia, em todos os momentos, vocês estiveram ao meu lado. Nos momentos mais felizes e nos momentos mais difíceis vocês estiveram comigo nessa jornada. Realmente eu não sei o que escrever kkk Mas sei, que ninguém terá esse privilégio em vida, de ter trilhado um mestrado junto à vocês. Meus irmãos da academia às 6:00, do café da tarde com pão de queijo e fofoca e da esfiha de domingo a noite. Mas também meus irmãos que me viram chorar, me apoiaram, me levantaram e me impulsionaram nessa caminhada. Gratidão. Eu amo muito vocês.

Aos colegas de trabalho, funcionários, alunos de iniciação científica, estagiários e colaboradores, meus agradecimentos. A Cíntia Lenz por toda a ajuda e apoio durante o período de projeto. A Lucineia por ser uma mãezona, puxar minha orelha e me orientar no melhor caminho a seguir. A Ciça e Didi por todas as manhãs alegres de música e cantoria. Obrigado por todos esses momentos.

Ao meu grande mentor nesse processo: Pedro H. Marchi (Tigi). Desde o primeiro dia, do seu jeito estranho e rígido (uma muralha), foi você que me orientou nesta caminhada. Me mostrou os caminhos, me ensinou o certo e me fez querer ser melhor. Com certeza, sem os seus conselhos, a trajetória seria mais difícil. Houveram momentos de comemorar vitórias e momentos de cair em lágrimas, mas sempre seguimos em frente, em busca de melhorar. Sempre serei o estagiário que está realizando um sonho e eternamente grato por tudo. Muito obrigado, por tudo “amigo”.

Ao Professor Júlio Cesar de Carvalho Balieiro por toda a ajuda e apoio durante toda a minha formação, muito obrigado. Aos meus colegas da pós-graduação: Vinicius, Lídia, Breno, Carlinhos, Kristian, Léo, Laya, Flávio, Nádia, Aninha e Airton, obrigado por todos os momentos bons de risada e alegria.

Ao meu orientador Thiago H. A. Vendramini, minha gratidão. Você me ensinou a lição mais valiosa de todas: “Tenha um coração bom, o resto nada mais importa. Se você tiver um coração bom, boas coisas irão acontecer”. Obrigado por me aceitar do jeito que sou e nunca parar de acreditar em mim, até mesmo quando eu não

acreditava. Você sempre trouxe luz, paz e alegria durante todos esses anos. Sempre foi e sempre será um exemplo de profissional e pessoa para mim.

Por fim, minha eterna gratidão ao Prof. Dr. Márcio Antonio Brunetto. O senhor foi e sempre será um grande exemplo. O senhor deu a oportunidade, sem conhecer muito bem, à um menino vindo de longe, estagiário de uma semana que só queria estudar nutrição de cães e gatos, e não sabia nada. O senhor disse sim, quando poderia ter dito não. Isso é algo que levarei sempre comigo, projetando ser e fazer sempre o melhor como forma de agradecer ao início de tudo que o senhor me proporcionou. Obrigado.

Agradeço à Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia e Departamento de Nutrição e Produção Animal, tal como todo o seu corpo docente e de funcionários. Agradeço à Premier Pet, pelo financiamento e investimento neste projeto, e no Centro de Pesquisas em Nutrologia de Cães e Gatos da FMVZ/USP. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

*“Pássaros criados em gaiolas acreditam que voar é uma doença”*

**Alejandro Jodorowsky**

## RESUMO

PRÍNCIPE, L.A. **Avaliação dos efeitos da proteína de frango hidrolisada por processo enzimático na pressão arterial e microbiota retal de felinos idosos e obesos:** um modelo para hipertensão humana. 2024. 113f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2024.

A hipertensão arterial (HA) é uma doença multifatorial caracterizada pela elevação crônica da pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD) prejudicial ao organismo. A obesidade e o envelhecimento estão associados ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares. O tratamento da HA baseia-se no uso de medicamentos que inibem os componentes do sistema renina-angiotensina-aldosterona e objetiva controlar o risco de hipertensão através da redução da pressão arterial (PA), prevenir intercorrências cardiovasculares e diminuir a mortalidade. Porém, a adaptabilidade do organismo frente a estes medicamentos pode desencadear um quadro de resistência. Desta maneira, alternativas não farmacológicas são almejadas para auxiliar no controle da PA. Neste cenário, os peptídeos bioativos surgem como moléculas multifuncionais empregadas no tratamento de diversas doenças, entre elas, a HA. Uma vez que, determinados peptídeos possuem a capacidade de inibir a enzima conversora de angiotensina I (ECA I), e conseqüentemente, reduzir as concentrações de aldosterona (ALD). Além disso, possuem influência na manutenção da eubiose, diminuição da disbiose e HA, por meio da diminuição do estresse oxidativo e inflamação. O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos da inclusão de 12,00% de farinha de vísceras de frango hidrolisada enzimaticamente (FVHE-c) na dieta de gatos idosos e obesos, como modelo experimental para hipertensão humana. Foram selecionados 16 gatos, machos e fêmeas, SRD, idosos e obesos, clinicamente saudáveis. Os animais foram divididos em dois grupos: Grupo controle [(GC), alimentados com farinha de vísceras de frango processada de forma convencional (FVA-c)] e grupo experimental [(GE), alimentados com dieta formulada com FVHE-c]. Todos os animais foram alimentados por 30 dias (T0) com uma dieta de padronização e depois por 45 dias (T45) com uma dieta controle (DC) ou experimental (DE). Foram determinados os valores da PAS, concentrações séricas de aldosterona (ALD), teste da atividade da enzima conversora de angiotensina I (ECA I) e microbiota retal. Todos os resultados foram avaliados com base na investigação dos efeitos individuais e

associados à dieta em teste. Os dados obtidos foram analisados por meio do software computacional Statistical Analysis System (SAS, versão 9.4) e valores de  $P < 0,05$  foram considerados significativos. As correlações entre microbiota e demais variáveis foram realizadas com o procedimento PROC CORR e valores de  $P < 0,05$  foram considerados significativos. Não foram observadas diferenças nos valores clínicos de PAS, concentrações séricas de ALD e no teste de atividade da ECA I. Foi observado efeito principal de tratamento (T0 x T45) para os 8 filos (Actinobacteria, Bacteroidetes, Campylobacterota, Cyanobacteria, Desulfobacterota, Firmicutes, Fusobacteria e Proteobacteria), 30 famílias e 12 gêneros principais para gatos. A inclusão de 12,00% de FVHE-c não foi eficiente em reduzir aos valores da PAS clínica, concentrações séricas de ALD e da atividade da ECA I. A microbiota retal de gatos obesos e idosos não diferiu mediante ao consumo da FVHE-c. Porém, a inclusão da FVHE-c foi efetiva em modular a microbiota retal desses animais.

**Palavras-chave:** aldosterona, gatos, enzima conversora de angiotensina, microbioma, peptídeos

## ABSTRACT

PRÍNCIPE, L.A. **Evaluation of the effects of chicken protein hydrolyzed by an enzymatic process on blood pressure and fecal microbiota in elderly and obese felines: a model for human hypertension.** 2024. 113f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2024.

Arterial hypertension (AH) is a multifactorial condition characterized by the chronic elevation of systolic and diastolic blood pressure, which is harmful to the body. Obesity and aging are associated with the development of cardiovascular diseases. The treatment of AH is primarily based on medication that targets components of the renin-angiotensin-aldosterone system, aiming to control hypertension risk by reducing blood pressure (BP), preventing cardiovascular events, and lowering mortality rates. However, the body's adaptability to these medications can lead to a resistance syndrome. Therefore, non-pharmacological alternatives are being explored to assist in BP management. In this context, bioactive peptides emerge as multifunctional molecules used in the treatment of various diseases, including AH. Certain peptides have been found to inhibit angiotensin-converting enzyme I (ACE I), thereby reducing aldosterone (ALD) concentrations. Additionally, they play a role in maintaining eubiosis, reducing dysbiosis and hypertension by decreasing oxidative stress and inflammation. The aim of this study was to assess the effects of including 12.00% enzymatically hydrolyzed chicken viscera meal (EHCV-c) in the diet of elderly and obese cats, serving as an experimental model for human hypertension. Sixteen clinically healthy mixed-breed male and female elderly and obese cats were selected for the study. They were divided into two groups: the Control Group (CG), fed with conventionally processed chicken viscera meal (CV-c), and the Experimental Group (EG), fed with a diet formulated with EHCV-c. All animals were fed a standard diet for 30 days (T<sub>0</sub>) before being switched to either a control diet (CD) or an experimental diet (ED) for 45 days (T<sub>45</sub>). Systolic blood pressure (SBP), serum aldosterone concentrations (ALD), angiotensin-converting enzyme I (ACE I) activity, and rectal microbiota were measured. The data were analyzed using Statistical Analysis System (SAS, version 9.4) software, with significance considered at P values <0.05. No significant differences were observed in clinical SBP values, serum ALD concentrations, or ACE I activity between the groups. However, a main treatment effect (T<sub>0</sub> x T<sub>45</sub>) was observed for the eight phyla and 30 families of rectal microbiota in cats. The inclusion of 12.00% EHCV-c did not effectively reduce clinical SBP values, serum ALD concentrations, or ACE I activity, nor did it significantly alter the rectal microbiota of obese and elderly cats. Nonetheless, the inclusion of EHCV-c was effective in modulating the rectal microbiota of these animals.

**Keywords:** aldosterone, cats, angiotensin-converting enzyme, microbiome, peptides

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Grupos experimentais composto por animais idosos (entre 7 a 12 anos) e obesos (ECC= 8 e 9/9).	74
Figura 2. Etapas experimentais	75
Figura 3. Amplicon sequence variants (ASVs) identificadas por nível taxonômico em cada tratamento.	80
Figura 4. Gráfico da escala métrica multidimensional (MDS) da comunidade bacteriana para tratamentos. A diversidade beta foi calculada usando distâncias UniFrac ponderadas	81
Figura 6. Principais filos identificados na amostra	82
Figura 5. Análises de diversidade Alpha. Shannon-Weiner, Simpson, e Chao1 foram realizados para avaliar a diversidade alfa na comunidade microbiana	82

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição em ingredientes (%) e composição química (%) dos alimentos experimentais	72
Tabela 2. Principais variáveis: idade, peso, ECC, EMM, CA.	79
Tabela 3. Resultados das variáveis pressóricas (PAS, ALD e ECA I)	80
Tabela 4. Estimativas de médias e erros padrão das abundâncias relativas dos filis observados no estudo.	83



## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Principais estudos que avaliaram os efeitos anti-hipertensivos dos peptídeos bioativos presentes em diferentes fontes de proteína	35
Quadro 2 - Principais estudos que avaliaram os efeitos anti-hipertensivo dos peptídeos bioativos presentes em derivados da proteína de vísceras de frango hidrolisada e seus subprodutos	38
Quadro 3 - Principais estudos que avaliaram os efeitos das fontes proteicas hidrolisadas e dos peptídeos proteicos na modulação da microbiota intestinal e na pressão arterial.	44

## LISTA DE ABREVIATURAS

ALD	Aldosterona
ANG I	Angiotensina I
ANG II	Angiotensina II
AVMA	American Veterinary Medical Association
BB	Betabloqueadores
BCC	Bloqueadores dos canais de cálcio
BRA	Bloqueadores dos receptores da angiotensina II
DRC	Doença renal crônica
ECA	Enzima conversora de angiotensina
ECC	Escore de condição corporal
EMM	Escore de massa muscular
GE	Grupo experimental
GC	Grupo controle
HA	Hipertensão arterial
HAR	Hipertensão arterial resistente
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
iECA	Inibidores da enzima conversora de angiotensina
iSGLT	Inibidores do Cotransportador Sódio-Glicose
MDS	Escala métrica multidimensional
OMS	Organização Mundial da Saúde
PA	Pressão arterial
PAD	Pressão arterial diastólica
PAS	Pressão arterial sistólica
PC	Peso corporal
SRAA	Sistema renina-angiotensina-aldosterona
SRD	Sem raça definida
T0	Primeiro período de coletas (0 dias)
T45	Segundo período de coletas (45 dias)
TGI	Trato gastrointestinal

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1.....</b>	<b>16</b>
<b>1. INTRODUÇÃO GERAL E OBJETIVOS</b>	<b>17</b>
1.1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	17
1.2. OBJETIVOS GERAIS	20
1.3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
1.4. REFERÊNCIAS	20
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>27</b>
2.1 HIPERTENSÃO HUMANA E FELINA	27
2.2 GATOS COMO MODELOS EXPERIMENTAIS	29
2.3 MANEJO FARMACOLÓGICO DA HIPERTENSÃO	31
2.4 MANEJO DA HIPERTENSÃO COM USO DE PEPTÍDEOS DIETÉTICOS	34
2.4.1 Peptídeos anti-hipertensivos derivados da proteína de vísceras de aves hidrolisada	37
2.5 MICROBIOTA E PRESSÃO ARTERIAL	40
2.6 REFERÊNCIAS	46
<b>3. AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA PROTEÍNA DE FRANGO HIDROLISADA SOBRE FATORES PRESSÓRICOS E MICROBIOTA FECAL EM GATOS IDOSOS E OBESOS</b>	<b>68</b>
3.1 RESUMO	68
3.2 INTRODUÇÃO	70
3.3 MATERIAL E MÉTODOS	71
3.3.1. Local	71
3.3.2. Animais e dietas experimentais	71
3.3.5. Mensuração da pressão arterial	76
3.3.6 Mensuração da aldosterona	76
3.3.7 Teste da atividade da enzima conversora de angiotensina I (ECA I)	76
3.3.8 Análise de microbiota	77

3.3.9 Análise estatística	78
3.4 RESULTADOS	79
3.5 DISCUSSÃO	87
3.6 CONCLUSÕES	96
3.7 REFERÊNCIAS	96

# **CAPÍTULO 1**

## **Introdução geral e objetivos**

## 1. INTRODUÇÃO GERAL E OBJETIVOS

### 1.1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2021) estima-se a prevalência de 1,14 bilhões de pessoas portadoras de hipertensão arterial (HA). Ademais, ao passo em que a população envelhece e a expectativa de vida aumenta, estima-se o aumento da prevalência e crescimento exponencial da HA (MILLS et al., 2016; NOUBIAP et al., 2019). A HA consiste em uma doença multifatorial caracterizada pela elevação crônica da pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD) acima dos valores de referência para a espécie (NEREMBERG et al., 2018; ACIERNO et al., 2018). A elevação da pressão arterial (PA), de maneira crônica ou recorrente, provoca injúrias nos tecidos vasculares, cardíacos e renais; alterações essas que predispõem ao desenvolvimento de insuficiência cardíaca e doença renal crônica em seres humanos (OLSEN et al., 2016).

A obesidade é a principal doença nutricional e já foi relatada sua correlação com o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (SOOD et al., 2023). Uma das explicações infere que o aumento do tecido adiposo observado em pacientes obesos aumenta o volume sistólico do ventrículo esquerdo, e conseqüentemente, o débito cardíaco. Ou seja, uma sobrecarga extra é imposta ao coração resultando em alterações na anatomia, funcionalidade e hemodinâmica cardíaca (ORTEGA; LAVIE; BLAIR, 2016; SOOD et al., 2023). Além disso, o acúmulo de tecido adiposo piora outros fatores de riscos para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, como maiores níveis de lipídeos plasmáticos, aumento da pressão arterial, resistência à insulina e inflamação crônica (ORTEGA; LAVIE; BLAIR, 2016). Desta forma, indivíduos obesos possuem maior predisposição a hipertensão e distúrbios cardiorrenais e metabólicos (HALL et al., 2015). Outro fator importante que predispõe ao desenvolvimento da HA é a idade do indivíduo, visto que o sistema cardiovascular está sujeito a uma série de alterações com o envelhecimento do organismo (MCENIERY et al., 2007).

Para os gatos, as principais causas de hipertensão arterial sistêmica (HAS) estão relacionadas a doenças como doença renal crônica (DRC), insuficiência renal aguda, hipertireoidismo, diabetes mellitus, hiperaldosteronismo e hiperadrenocorticismismo (ACIERNO et al., 2018). E pode causar lesões renais como

proteinúria, glomerulosclerose e arteriosclerose hiperplásica (SYME et al., 2006; CHAKRABARTI et al., 2013); retinopatia hipertensiva (MAGGIO et al., 2000); encefalopatia hipertensiva e mielopatia isquêmica da medula espinhal cervical cranial (LITTMAN, 1994; SIMPSON et al., 2014) e doenças cardíacas (LESSER et al., 1992; CHETBOUL et al., 2003). Apesar de não haver relação entre obesidade e as medidas da PA na mensuração oscilométrica, gatos com menor peso corporal (PC) e escore de condição corporal (ECC) apresentaram valores de PA menores do que gatos em condição corporal ideal e obesos (BODEY & SANSOM, 1998). No entanto, estes felinos apresentam maior associação entre valores elevados de PA conforme o avanço da idade (KNIES et al., 2023).

Outro fator importante a ser considerado é a relação entre microbiota intestinal e PA dos indivíduos. Tal fato corrobora com a hipótese da existência de um grupo de bactérias da microbiota intestinal que, direta ou indiretamente está ligada à síntese de metabólitos, e influenciam para o aumento da PA (O'DONNELL et al., 2023). Li et al. (2017) observaram diferenças na microbiota intestinal de seres humanos normotensos, pré-hipertensos e hipertensos não tratados. Os mecanismos de ação que esclarecem as relações causais entre microbiota intestinal e seus metabólitos na regulação da PA permanecem desconhecidos (O'DONNELL et al., 2023).

A pressão arterial é regulada, principalmente, pelo sistema renina-angiotensina-aldosterona (SANTOS et al., 2017). Desse modo, os tratamentos para a hipertensão arterial baseiam-se no uso de medicamentos diuréticos e inibidores da enzima conversora de angiotensina I (ECA), com o intuito de reduzir as concentrações plasmáticas da angiotensina II (ANG II) e aldosterona (ALD) (BARROSO et al., 2021). Porém, a terapia com inibidores da ECA está sujeita ao efeito denominado “escape da aldosterona” (NOBAKHT et al., 2011). Diante deste, o organismo se torna resistente aos fármacos, e os valores plasmáticos de aldosterona são mantidos (STRUTHERS, 1996). Desta forma, a troca do princípio ativo ou o uso de doses cada vez mais elevadas dos medicamentos faz-se necessária, o que aumenta o risco de efeitos adversos e altera a eficácia do tratamento (BOMBACK et al., 2007; SCHRIER, 2010). Além disso, apesar de desconhecidos os mecanismos de ação, estudos correlacionaram a ineficácia dos fármacos supracitados com a composição do microbioma intestinal (WEERSMA; ZHERNAKOVA; FU, 2020; O'DONNELL et al., 2023).

Neste cenário, destaca-se o manejo alternativo para auxiliar no controle da PAS, baseado na nutrição do indivíduo (VERMA et al., 2021). Os peptídeos dietéticos ou bioativos, originários de fontes proteicas de origem animal ou vegetal, possuem características funcionais e nutricionais que contribuem para saúde do hospedeiro (MARTÍNEZ-MAQUEDA et al., 2012; LEE; HUR, 2017). Os peptídeos bioativos interligam-se com receptores do organismo e são capazes de inibir a ação de enzimas reguladoras (MARTÍNEZ-MAQUEDA et al., 2012). Desta forma, o processo de hidrólise enzimática é essencial para garantir a biodisponibilidade, função e aproveitamento dos peptídeos (ALUKO, 2015; LEE; HUR, 2017). Dentre o conjunto de possíveis efeitos, a ação anti-hipertensiva destes componentes dietéticos ganha notoriedade (BHAT; KUMAR; BHAT, 2017; CÍCERO et al., 2017).

Determinados peptídeos possuem a capacidade de inibir a atividade da ECA, e assim, impedir a conversão de ANG I em ANG II, procedendo a vasodilatação e redução da PA (TSAFACK; LI; TSOPMO, 2022). Peptídeos de origem animal têm se destacado quanto a síntese de peptídeos bioativos inibidores da ECA (BHAT; KUMAR; BHAT, 2017; LEE; HUR, 2017). Estudos demonstram o potencial de efeitos hipotensivos de peptídeos originários da proteína de aves (CHEN et al., 2002; JAMDAR; RAJALAKSHMI; SHARMA, 2012; MANE; JAMDAR, 2017; DOS SANTOS AGUIAR; DE SOUZA; DE CASTRO, 2020). No cenário pet food, predomina-se o emprego da farinha de vísceras de aves como principal fonte de proteína (MEEKER; MEISINGER, 2015). Contudo, esta associação foi pouco abordada e estudada para animais de companhia até o momento (SANGSAWAD et al., 2017). Até o presente momento, apenas um estudo buscou avaliar o potencial de ação dos peptídeos dietéticos para felinos domésticos. Miltenburg et al. (2021), observaram o potencial de efeito inibitório da farinha de vísceras de frango hidrolisada frente à redução da concentração sérica de ECA de gatos saudáveis. O uso da proteína de frango hidrolisada no manejo da pressão arterial é algo inédito em gatos obesos.

Considerando as alterações deletérias ocasionadas pela hipertensão arterial e os possíveis efeitos benéficos dos peptídeos dietéticos sobre a inibição da ECA e microbiota intestinal. Este estudo buscou-se avaliar os efeitos da inclusão da proteína de frango hidrolisada por processo enzimático na pressão arterial e microbiota fecal de felinos idosos e obesos, e utilizá-los como um modelo de estudo para hipertensão em seres humanos.



## 1.2 OBJETIVOS GERAIS

Avaliar os efeitos da inclusão da farinha de vísceras de frango obtida por hidrólise enzimática na dieta de felinos idosos e obesos na pressão arterial sistólica dos animais e caracterizar o perfil da microbiota fecal.

## 1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Avaliar e comparar os efeitos da farinha de vísceras de frango obtida por hidrólise enzimática em relação a farinha de vísceras de frango obtida de forma convencional na regulação da pressão arterial (itens A, B e C):
  - A) Pressão arterial sistólica;
  - B) Concentração sérica do hormônio aldosterona;
  - C) Atividade sérica da enzima conversora de angiotensina I
2. Caracterizar o perfil da microbiota retal de felinos idosos e obesos e os possíveis efeitos da inclusão farinha de vísceras de frango obtida por hidrólise enzimática sobre esta variável.
3. Por meio da comparação entre os resultados, estabelecer a relação entre a aplicabilidade e viabilidade do uso deste ingrediente na formulação de dietas coadjuvantes para felinos domésticos, e também como método alternativo não medicamentoso no tratamento e prevenção da hipertensão em e gatos.

## 1.4 REFERÊNCIAS

ACIERNO, M. J. et al. ACVIM consensus statement: Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v. 32, n. 6, p. 1803-1822, 2018.

ALUKO, R. E. Antihypertensive peptides from food proteins. **Annual review of food science and technology**, v. 6, p. 235-262, 2015.

BARROSO, W. K. S. et al. Diretrizes brasileiras de hipertensão arterial–2020. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 116, p. 516-658, 2021.

BHAT, Z. F.; KUMAR, S.; BHAT, H. F. Antihypertensive peptides of animal origin: A review. **Critical reviews in food science and nutrition**. v. 57, n 3, p. 566-578. 2017.

BODEY, A. R.; SANSOM, J. Epidemiological study of blood pressure in domestic cats. **Journal of Small Animal Practice**. v. 39, p. 567-573. 1998.

BOMBACK, A. S; KLEMMER, P. J. The incidence and implications of aldosterone breakthrough. **Nature Reviews Nephrology**, v. 3, p. 486-492. 2007.

CHAKRABARTI, S.; SYME, H. M.; BROWN, C. A.; ELLIOTT, J. Histomorphometry of feline chronic kidney disease and correlation with markers of renal dysfunction. **Veterinary Pathology**. v. 50, n. 1, p. 147-155. 2013.

CHETBOUL, V.; LEFEBVRE, H. P.; PINHAS, C.; CLERC, B.; BOUSSOUF, M.; POUCHELON, J. L. Spontaneous feline hypertension: clinical and echocardiographic abnormalities, and survival rate. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v. 17, p. 89-95. 2003.

DOS SANTOS AGUILAR, J. G.; DE SOUZA, A. K. S.; DE CASTRO, R. J. S. Enzymatic hydrolysis of chicken viscera to obtain added-value protein hydrolysates with antioxidant and antihypertensive properties. **International Journal of Peptide Research and Therapeutics**, v. 26, p. 717-725, 2020.

HALL, J. E. et al. Obesity-induced hypertension: interaction of neurohumoral and renal mechanisms. **Circulation research**. v. 116, n. 6, p. 991-1006, 2015.

JAMDAR, S. N.; RAJALAKSHMI, V.; SHARMA, Arun. Antioxidant and ace inhibitory properties of poultry viscera protein hydrolysate and its peptide fractions. **Journal of Food Biochemistry**, v. 36, n. 4, p. 494-501, 2012.

KNIES, M.; KOOISTRA, H. S.; TESKE, E. Prevalence of persistent hypertension and situational hypertension in a population of elderly cats in The Netherlands. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 25, n. 6, p. 1098612X231172629. 2023.

LACKLAND, D. T.; WEBER, M. A. Global burden of cardiovascular disease and stroke: hypertension at the core. **Canadian Journal of Cardiology**, v. 31, n. 5, p. 569–571. 2015.

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

LESSER, M.; FOX, P. R.; BONDE, B. R. Assessment of hypertension in 40 cats with left ventricular hypertrophy by Doppler-shift sphygmomanometry. **Journal of Small Animal Practice**. v. 33, p. 55-58. 1992.

LI, J. et al. Gut microbiota dysbiosis contributes to the development of hypertension. **Microbiome**, v. 5, n. 14, p. 1-19, 2017.

LITTMAN, M. P. Spontaneous systemic hypertension in 24 cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v. 8, p. 79-86.1994.

MAGGIO, F.; DEFRANCESCO, T. C.; ATKINS, C. E.; PIZZIRANI, S.; GILGER, B. C.; DAVIDSON, M. G. Ocular lesions associated with systemic hypertension in cats: 69 cases (1985-1998). **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v. 217, p. 695–702. 2000.

MANE, S.; JAMDAR, S. N. Purification and identification of Ace-inhibitory peptides from poultry viscera protein hydrolysate. **Journal of Food Biochemistry**, v. 41, n. 2, p. e12275, 2017.

MARTÍNEZ-MAQUEDA, D.; MIRALLES, B.; RECIO, I.; HERNÁNDEZ-LEDESMA, B. Antihypertensive peptides from food proteins: a review. **Food and Function**, v. 3, p. 350-361. 2012.

MCENJERY, C. M.; WILKINSON, I. B.; AVOLIO, A. P. Age, hypertension and arterial function. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**. v. 34, n. 7, p. 665-671. 2007.

MILLS, K. T.; BUNDY, J. D.; KELLY, T. N.; REED, J. E et al. Global disparities of hypertension prevalence and control: a systematic analysis of population-based studies from 90 countries. **Circulation**, v. 134, n. 6, p. 441-450, 2016.

MILTENBURG, T. Z.; DA SILVA, M. U.; BOSCH, G.; VASCONCELLOS, R. S. Effects of enzymatically hydrolysed poultry byproduct meal in extruded diets on serum angiotensin-converting enzyme activity and aldosterone in cats. **Archives of Animal Nutrition**, v. 75, n. 1, p. 64-77, 2021.

NEREMBERG, K. A.; ZARNKE, K. B.; LEUNG, A. A. et al. Hypertension Canada's 2018 guidelines for diagnosis, risk assessment, prevention, and treatment of hypertension in adults and children. **Canadian Journal of Cardiology**. v. 34, p. 506-525, 2018.

NGUYEN, P.; REYNOLDS, B.; ZENTEK, J.; PABLACK, N.; LERAY, V. Sodium in feline nutrition. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 101, n. 3, p. 403-420, 2017.

NOBAKHT, N.; KAMGAR, M.; RASTOGI, A.; SCHRIER, R. W. Limitations of angiotensin inhibition. **Nature Reviews Nephrology**, v. 7, n. 6, p. 356–359, 2011.

NOUBIAP, J. J.; NANSSEU, J. R.; NYAGA, U. F.; SIME P. S.; FRANCIS, I.; BIGNA, J. J. Global prevalence of resistant hypertension: a meta-analysis of data from 3.2 million patients. **Heart**, v. 105, n. 2, p. 98-105, 2019.

O'DONNELL, J. A.; ZHENG, T.; MERIC, G.; MARQUES, F. Z. The gut microbiome and hypertension. **Nature Reviews Nephrology**, v. 19, n. 3, p. 153-167, 2023.

OLSEN, M. H.; ANGELL, S. Y.; ASMA, S.; BOUTOUYRIE, P. et al. A call to action and a lifecourse strategy to address the global burden of raised blood pressure on current

and future generations: the Lancet Commission on hypertension. **The Lancet**, v. 388, n. 10060, p. 2665-2712, 2016.

ORTEGA, F. B.; LAVIE, C. J.; BLAIR, S. N. Obesity and cardiovascular disease. **Circulation Research**, v. 118, n. 11, p. 1752-1770, 2016.

SANGSAWAD, P.; ROYTRAKUL, S.; YONGSAWATDIGUL, J. Angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory peptides derived from the simulated in vitro gastrointestinal digestion of cooked chicken breast. **Journal of Functional Foods**, v. 29, p. 77–83. 2017.

SANTOS, R. A. S.; SAMAPAIIO, W. O.; ALZAMORA, A. C.; MOTTA-SANTOS, D.; ALENINA, N.; BADER, M.; CAMPAGNOLE-SANTOS, M. J. The ACE2/angiotensin-(1–7)/MAS axis of the renin-angiotensin system: focus on angiotensin-(1–7). **Physiological Reviews**, v. 98, n. 1, p. 505-553. 2017.

SIMPSON, K. M.; DE RISIO, L.; THEOBALD, A.; GAROSI, L.; LOWRIE, M. Feline ischemic myelopathy with a predilection for the cranial cervical spinal cord in older cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v. 16, p. 1001-1006. 2014.

SOOD, S.; MITTAL, N.; SINGH, T.G.; DEVI, S. Pathogenesis of obesity-associated cardiovascular diseases: Key role of biomolecules. *Health Sciences Review*, v. 7, p. 100098, 2023.

STRUTHERS, A. D. Aldosterone escape during angiotensin-converting enzyme inhibitor therapy in chronic heart failure. **Journal of Cardiac Failure**, v. 2, p. 47-54. 1996.

SYME, H. M.; MARKWELL P. J.; PFEIFFER, D.; ELLIOTT, J. Survival of cats with naturally occurring chronic renal failure is related to severity of proteinuria. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v. 20, n. 3, p. 528-535. 2006.

TSAFACK, P. B.; LI, C.; TSOPMO, A. Food Peptides, Gut Microbiota Modulation, and Antihypertensive Effects. **Molecules**, v. 27, n. 24, p. 8806, 2022.

WEERSMA, R. K.; ZHERNAKOVA, A.; FU, J. Interaction between drugs and the gut microbiome. **Gut**, v. 69, n. 15, p. 10-19, 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. Guideline for the pharmacological treatment of hypertension in adults. **World Health Organization**, 2021.

## **CAPÍTULO 2**

### **Revisão bibliográfica**

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 HIPERTENSÃO HUMANA E FELINA

A hipertensão arterial (HA) caracteriza-se pelo aumento crônico da pressão arterial (PA) decorrente da resistência vascular, aumento do volume sanguíneo e/ou vasoconstrição (ADUA, 2023). A interatividade entre fatores genéticos e ambientais favorece para elevação crônica da pressão arterial sistólica (PAS), acima de 135 mmHg em humanos (NEREMBERG et al., 2018; ADUA, 2023). A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é classificada de três formas, de acordo com a etiologia: hipertensão idiopática, que ocorre na ausência de comorbidades e outros possíveis agentes causais; hipertensão secundária em função de processos patológicos que elevam a pressão arterial; e hipertensão situacional, originada por estímulos ambientais ou situacionais estressantes (ACIERNO et al., 2018). O aumento da PA, crônico ou recorrente, provoca injúrias nos tecidos vasculares, cardíacos e renais; alterações que predis põem os indivíduos acometidos ao desenvolvimento de insuficiência cardíaca e doença renal crônica (BLIZIOTIS et al., 2012; OLSEN et al., 2016; ACIERNO et al., 2018).

Além dos aspectos genéticos, fatores ambientais como estresse, consumo de álcool, elevada ingestão de sódio, sedentarismo, obesidade, doenças renais e cardíacas aumentam o risco de os indivíduos desenvolverem HA (NEREMBERG et al., 2018; OMS, 2021). Destes fatores, a obesidade está associada ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares, uma vez que altera a anatomia, funcionalidade e hemodinâmica cardíaca (SOOD et al., 2023). Hall et al. (2015) relataram o aumento da predisposição de hipertensão e distúrbios cardiorenais e metabólicos em indivíduos obesos. O aumento do tecido adiposo observado em pacientes obesos aumenta o volume sistólico do ventrículo esquerdo, e conseqüentemente, o débito cardíaco. Ou seja, uma sobrecarga extra é imposta ao coração resultando em alterações na anatomia, funcionalidade e hemodinâmica cardíaca (ORTEGA; LAVIE; BLAIR, 2016; SOOD et al., 2023). Além disso, o acúmulo de tecido adiposo piora outros fatores de riscos para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, como maiores níveis de lipídeos plasmáticos, aumento da pressão arterial, resistência à insulina e inflamação crônica (ORTEGA; LAVIE; BLAIR, 2016).



A etiologia dos mecanismos de ação para o qual a obesidade provoca o aumento da PA é desconhecido (SOOD et al., 2023). Porém, disfunções causadas pela obesidade na síntese de adipocinas e citocinas; mudanças das vias metabólicas neuro-humorais; distúrbios metabólicos e alterações nos mecanismos do sistema nervoso contribuem para o desenvolvimento da hipertensão (KOTSIS et al., 2010; ATAWIA et al., 2019). Além disso, Nagase et al. (2006) demonstraram que substâncias secretadas pelo tecido adiposo aumentam a síntese de aldosterona em ratos obesos e hipertensos. Outra condição importante que predispõe ao desenvolvimento da HA nos seres humanos está relacionada a idade do indivíduo (CHOBANIAN, 2017). A idade é um fator fundamental para ocorrência das doenças cardiovasculares (SAFAR, 1990; NORTH; SINCLAIR, 2012). Apesar disso, a etiologia do impacto do envelhecimento sobre o sistema arterial e cardíaco não está totalmente elucidada. Sabe-se que o envelhecimento dos componentes cardiovasculares implica na hipertrofia do ventrículo esquerdo com diminuição da sua capacidade sistólica, aumento da rigidez arterial e comprometimento da função endotelial (LAKATTA; LEVY, 2003; MCENIERY et al., 2007). Por essa razão, Lewington et al. (2002) e Chobanian et al. (2003) constataram o aumento do risco de mortalidade por doenças cardiovasculares em função do aumento da PA, em indivíduos de 40 a 90 anos.

Na medicina veterinária, o diagnóstico de HAS depende de recorrentes aferições fidedignas da PA em cães e gatos (GEDDES, 2020). Os valores médios da PAS categorizam o paciente e predispõe o risco de danos à órgãos alvos: normotenso PAS <140 mmHg (risco mínimo); pré-hipertensivo PAS entre 140-159 mmHg (baixo risco); Hipertenso PAS entre 160-179 mmHg (risco moderado); hipertenso grave PAS  $\geq$  180 mmHg (risco elevado) (ACIERNO et al., 2018). Para pacientes felinos observa-se, cada vez mais, a incidência da HAS (GEDDES, 2020). Conroy et al. (2018) observaram um risco de incidência de hipertensão em 19,5% dos gatos triados (n=1445) no Reino Unido. Estudos realizados até o momento indicam que cerca de 20% dos casos de hipertensão possuem origem idiopática (MAGGIO et al., 2000; ELLIOT et al., 2001). Entretanto, a hipertensão secundária apresenta-se como a mais frequente, superior a 80% dos casos (SYME et al., 2002; TAYLOR et al., 2017; ACIERNO et al. 2018). A principal implicação clínica associada a elevação da PA consiste na doença renal crônica, de 20% a 60% dos casos; precedida pelo hipertireoidismo, de 10% a 20% dos casos (SYME et al., 2002). Nos gatos, a HAS pode causar lesões renais como proteinúria, glomerulosclerose e arteriosclerose

hiperplásica (SYME et al., 2006; CHAKRABARTI et al., 2013); retinopatia hipertensiva (MAGGIO et al., 2000); encefalopatia hipertensiva e mielopatia isquêmica da medula espinhal cervical cranial (LITTMAN, 1994; SIMPSON et al., 2014) e doenças cardíacas (LESSER et al., 1992; CHETBOUL et al., 2003).

Diferente dos seres humanos, o escore de condição corporal (ECC), peso corporal (PC) e escore de massa muscular (EMM) não influenciam nos valores de PAS dos cães e gatos (MOONEY et al., 2017; WHITTEMORE et al., 2017). Porém, Bodey & Sansom (1998) observaram que, apesar de não haver relação entre obesidade e as medidas da PA na mensuração oscilométrica, gatos com menor PC e ECC tiveram valores de PA menores do que gatos em ECC ideal e obesos. Apesar da relação entre prevalência da HAS e envelhecimento não estar bem estabelecida para animais de companhia. Os gatos apresentam associação significativa entre maiores valores de PA conforme o avançar da idade (TAYLOR et al., 2017). Bijsmans et al. (2015) observaram que de 133 gatos normotensos, hígidos e com idade  $\geq 9$  anos, 7% manifestaram hipertensão idiopática durante o acompanhamento de  $\geq 3$  meses. Além do mais, constataram discreto aumento da PA em felinos geriátricos, normotensos e saudáveis ao longo de 100 dias. Por esta razão, Acierno et al. (2018) estabeleceram como população de risco à hipertensão gatos acima de 9 anos; gatos com doenças associadas a hipertensão e degeneração ocular e neural; e gatos cardiopatas. Em estudo mais recente, Knies et al. (2023) observaram maior ocorrência de hipertensão situacional constante entre os felinos idosos.

Até o momento, não há estudos que conseguiram estabelecer a associação entre tratamento e tempo de sobrevivência da hipertensão em pacientes felinos. Porém, gatos que apresentam constante acompanhamento das doenças concomitantes obtiveram maiores taxas de sobrevivência (CONROY et al., 2018). Desta forma, faz-se necessário a triagem recorrente de felinos com idade  $\geq 9$  anos (ACIERNO et al., 2018). Além do mais, as graves implicações decorrentes da HAS justificam a busca por novas formas de tratamento e prevenção na medicina humana e veterinária.

## 2.2 GATOS COMO MODELOS EXPERIMENTAIS

Modelos animais sempre foram fundamentais na medicina translacional, e permitiram a compreensão da fisiopatologia e a elaboração de melhores tratamentos para afecções que acometem os seres humanos (LAIRMORE e KHANNA, 2014). A

medicina veterinária promove conhecimentos e dados provenientes de modelos de doenças em animais, que podem ser aplicados em humanos (KOL et al., 2023).

Desta forma, estudos clínicos em animais de companhia podem reproduzir os sistemas de saúde humana (DANAYER et al., 2014). Assim, ensaios que abordam doenças semelhantes ou idênticas entre humanos e animais são fontes para novas compreensões e perspectivas de etiologia, diagnóstico e terapêutica, (BANEUX et al., 2014; (DANAYER et al., 2014; LAIMORE; KHANNA, 2014).). Bem como, beneficiam ambas as espécies (BANEUX et al., 2014). Visto que, refletem a variação genética, ambiental e fisiológica de modo análogo e fidedigno à dos seres humanos (KOL et al., 2023). Por essa razão, cães e gatos viabilizam ensaios básicos, pré-clínicos e clínicos como modelos de doenças em humanos (KOL et al., 2023). Vislumbra-se o uso dos animais de companhia, entre eles os gatos, como modelos experimentais que diminuem a imprecisão dos ensaios clínicos em humanos e otimizam a síntese e transferência de tratamentos eficientes no ambiente da medicina humana (KOL et al., 2023). Os felinos domésticos já se demonstraram eficientes modelos experimentais para pesquisas clínicas relacionadas a doenças que acometem os seres humanos (LAIMORE; KHANNA, 2014). Por exemplo, estudos clínicos com o objetivo de compreender melhor a patogênese da diabetes mellitus tipo 2 e formação de depósitos de peptídeos amiloides foram conduzidos com felinos. (HOENIG et al., 2000; HENSON e O'BRIEN, 2006; NELSON e REUSCH, 2014; BRITO-CASILLAS et al., 2016).

Além disso, outras doenças podem ser abordadas empregando o gato como modelo experimental. Por apresentarem etiologia e quadro clínico iguais ou semelhantes, os gatos também são utilizados e validados para o estudo de doenças musculares hereditárias humanas (SHELTON e ENGVALL 2005; SMITH, 2011). Os gatos se apresentam também como modelos vitais para testes de retrovirais utilizados para o tratamento da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) (BENDINELLI et al., 1995). Devido a semelhança de manifestações clínicas provocadas pelo vírus da leucemia felina (FeLV) e da imunodeficiência felina (FIV) (ELDER et al., 2010; YAMAMOTO et al., 2010). Em relação ao câncer, as neoplasias em felinos apresentam comportamento e composição histopatológica similar ao de seres humanos (KHAYATAN et al., 2023). Desta forma, servem de modelos para terapias medicamentosas de adenocarcinoma de glândula mamária, osteossarcoma e carcinoma de células orais (CANNON, 2015; NASCIMENTO e FERREIRA, 2021;

DIBERNARDI et al., 2007; KHAYATAN et al., 2023). Por fim, os felinos são importantes modelos experimentais no estudo de distúrbios cardiovasculares, como acidente vascular cerebral isquêmico (WOODRUFF et al., 2011) e a cardiomiopatia hipertrófica (FREEMAN et al., 2017; GIL-ORTUÑO et al., 2020; JOSHUA et al., 2023).

### 2.3 MANEJO FARMACOLÓGICO DA HIPERTENSÃO

O tratamento da hipertensão tem por objetivo controlar a variação dos níveis pressóricos e alcançar o valor de PA ideal para o paciente (GEDDES, 2020). Baseando-se na idade, doenças concomitantes e fatores de risco predisponentes (BARROSO et al., 2021). Através da meta-análise cumulativa, Verdecchia et al. 2016 reuniu dados relevantes sobre os quais a expressiva diminuição da PA trouxe benefícios aos pacientes. Principalmente para aqueles com risco cardiovascular elevado, observou-se redução de 20%, 18% e 15% no risco de acidente vascular cerebral, óbito por causas cardiovasculares e infarto do miocárdio, respectivamente. Desta forma, o controle e manutenção da hipertensão, especialmente para indivíduos idosos, é extremamente importante (BARROSO et al., 2021). Porém, tendo em vista as diversas comorbidades associadas ao processo de envelhecimento, torna-se um desafio (PAREKH et al., 2017).

Os medicamentos anti-hipertensivos objetivam controlar o risco de hipertensão através da redução da PA; prevenção de intercorrências cardiovasculares; diminuição da mortalidade associada à doença e oferecer benefícios ao indivíduo a longo prazo (BARBOS et al., 2017). Para esta finalidade, conceituar as características dos medicamentos anti-hipertensivos, tais como, mecanismos de ação, local de atuação, benefícios e riscos, é relevante para o protocolo terapêutico do paciente (TURNBULL et al., 2003; PAREKH et al., 2017). A pressão arterial no organismo é regulada principalmente pelo sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), o qual é coordenado pelos rins (CAMPBELL et al., 2008). Sendo assim, o tratamento farmacológico baseia-se no emprego de moléculas que inibirão os hormônios e enzimas desse sistema (ACIERNO et al., 2018). Turnbull et al. 2003, realizaram a análise prospectiva de sete conjuntos de revisões, com resultados de 29 estudos clínicos randomizados (n=162.341). Os autores observaram redução eficiente da PA contraposta com placebos, diminuição de complicações cardiovasculares e benefícios essencialmente decorrentes da redução da PA. Tais efeitos foram provenientes dos

agentes farmacológicos: bloqueadores dos canais de cálcio (BCC); inibidores da enzima conversora de angiotensina (iECA); bloqueadores dos receptores da angiotensina II (BRA); betabloqueadores (BB); Inibidores do Cotransportador Sódio-Glicose (iSGLT) e diuréticos. Esses são os principais fármacos utilizados no manejo e tratamento da hipertensão (CHOBANIAN et al., 2003; NEREMBERG et al., 2018).

A terapia medicamentosa em humanos possui um caráter específico e particularizado. Os diversos quadros de hipertensão são associados a condições clínicas (insuficiência cardíaca, diabetes mellitus, doença renal crônica, infarto do miocárdio e hipertrofia do ventrículo esquerdo) e as características do paciente (valor da pressão arterial, idade e risco cardiovascular) (NERENBERG et al., 2018; BARROSO et al., 2021). No estágio 1 da hipertensão, mudanças no estilo de vida do paciente contribuem para o controle da PA e podem adiar o tratamento medicamentoso por 4 a 6 meses, antes dos sinais clínicos aparentes (CHOBANIAN, 2017). Para os próximos estádios da HA, preconiza-se iniciar o tratamento com a associação de dois fármacos (BARROSO et al., 2021; OMS, 2021). Adaptações à dose e/ou combinações com outros fármacos são recomendadas até se alcançar a meta pressórica desejada (CHOBANIAN, 2016; BARROSO et al., 2021).

Apesar da alta prevalência da HA e os diversos fármacos anti-hipertensivos, menos de 14% da população a tem sob controle (OMS, 2021). A situação agrava-se, ao passo em que Muntner et al. (2020) constataram a progressiva redução da taxa de controle da PA em indivíduos hipertensos nos Estados Unidos. Ainda que exista uma ampla variedade de medicamentos que auxiliam no tratamento e controle da HA, os pacientes estão sujeitos a desenvolverem resistência à estas drogas (NOBAKHT et al., 2011). A adaptabilidade do organismo pode desencadear à hipertensão arterial resistente (HAR) (WEBER et al., 2014). A American Heart Association define HAR quando a os níveis da PA apresentam-se acima do ideal, apesar do uso em associação de três ou mais anti-hipertensivos distintos, no qual um seja diurético, em doses máximas (WEBER et al., 2014). A HAR possui etiologia multifatorial, em que seus fatores predisponentes e comorbidades estão relacionados ao antagonismo à terapia medicamentosa (OMS, 2021). Desta forma, acredita-se que a resistência ao tratamento pode estar associada às vias alternativas de produção da angiotensina II (STRUTHERS, 1996; ROIG et al., 2000). Uma vez que, a renina pode ser convertida diretamente em angiotensina II pela catepsina G, calicreína-1 e tonina; e a angiotensina I convertida em angiotensina II pela elastase, proteinase-3, quimase,

além das outras três mencionadas anteriormente (RYKL et al., 2006). Neste cenário, a ECA não desempenharia um papel importante no processo. Em humanos, vale ressaltar que já foi demonstrado que elevadas concentrações plasmáticas de angiotensina II estão associadas a maiores taxas de mortalidade mesmo com o uso dos inibidores da ECA (ROIG et al., 2000).

Assim como os seres humanos, gatos pré-hipertensos e com hipertensão situacional não requerem tratamento medicamentoso com anti-hipertensivos (ACIERNO et al., 2018; GEDDES, 2020). A terapia farmacológica anti-hipertensiva para felinos é preconizada para pacientes hipertensos, de etiologia idiopática ou secundária, e tem por primeira escolha na utilização de BCC e BRA (GEDDES, 2020). O objetivo do tratamento é a redução gradual e manutenção da PA, afim de diminuir o risco de lesão tecidual aos órgãos adjacentes (ACIERNO et al., 2018). O besilato de amlodipina é a primeira escolha de anti-hipertensivo no tratamento medicamentoso contra a hipertensão felina, na dose de 0,625 mg por gato, a cada 24 horas. (GEDDES, 2020). Porém, Bijsmans et al. (2016) constataram a necessidade de aumentar a dose para manutenção adequada da PA. Apesar da eficiência, a dose máxima para pacientes que necessitem controlar e manter a PA nos valores adequados, pode chegar a 2,5 mg por gato, a cada 24 horas (GEDDES, 2020). Além do mais, independentemente do êxito em controlar a PA, a terapia a longo prazo não demonstrou eficácia em aumentar o tempo de sobrevida em gatos hipertensos (JEPSON et al., 2007). Em relação aos outros fármacos disponíveis, não se recomenda a utilização de iECA e BB como primeira escolha medicamentosa (ACIERNO et al., 2018; GEDDES, 2020). Apesar disso, os gatos apresentaram aspectos clínicos favoráveis para a combinação de iECA e besilato de amlodipina (ELLIOTT et al., 2004; HENIK et al., 2008) ou besilato de amlodipina com BRA (BIJSMANS et al., 2016). Portanto, assim como para seres humanos, o emprego de duas ou mais drogas anti-hipertensivas podem ser necessárias para restabelecer os valores adequados da PA nos felinos (GEDDES, 2020).

Diferente de humanos, para o qual preconiza-se o emprego de diuréticos no tratamento da hipertensão, estes fármacos não são utilizados com a intuito anti-hipertensivo em gatos (ELLIOTT et al., 2001). Para os felinos, um aspecto importante que corrobora com a resistência terapêutica, é a ativação do SRAA sistêmico ou intrarrenal que mantem os níveis de PA elevados (JEPSON et al., 2014). Estudos com modelos animais e humanos, verificaram que doses baixas e a longo prazo, não foram

eficientes para inibir a conversão de angiotensina I e a produção de angiotensina II pelo organismo, que poderiam ser mantidas pelo miocárdio (WOLNY et al., 1997; VAN KATS et al., 1998; TANG et al., 2002).

Desta forma, faz-se necessário pesquisas de longo prazo para definir a abordagem mais adequada no tratamento farmacológico da HA nos felinos e avaliar a ofertar de melhor qualidade e quantidade de vida dos pacientes. Além disso, a resistência ao tratamento medicamentoso anti-hipertensivo em seres humanos, implica na troca e/ou aumento da dose dos fármacos empregados, e prejudica a eficácia terapêutica. Sendo assim, estudos por métodos alternativos, não farmacológicos, para o controle da pressão arterial são de extrema importância para ambas as espécies.

#### 2.4 MANEJO DA HIPERTENSÃO COM USO DE PEPTÍDEOS DIETÉTICOS

Perante todos os desafios do tratamento medicamentoso da HA, buscam-se alternativas não farmacológicas que agreguem valor no manejo de pacientes hipertensos para controle, manutenção e/ou redução dos valores da PA. Mudanças no estilo de vida são recomendadas e auxiliam os indivíduos hipertensos a terem uma melhor qualidade de vida, além de diminuir o uso de anti-hipertensivos (MAHMOOD et al., 2018). As intervenções não farmacológicas para os seres humanos incluem alteração da dieta, aumento da prática de atividade física, restrição do consumo de álcool e perda de peso (MAHMOOD et al., 2018; VERMA et al., 2021). Apesar do uso de medicamentos anti-hipertensivos, o manejo dietético destaca-se como uma importante ferramenta coadjuvante ao tratamento da hipertensão.

No organismo, diversas funções são intercedidas por peptídeos (MARTÍNEZ-MAQUEDA et al., 2012). Os peptídeos dietéticos ou bioativos, originários de fontes proteicas de origem animal ou vegetal, possuem características funcionais e nutricionais que contribuem para saúde do hospedeiro (MARTÍNEZ-MAQUEDA et al., 2012; LEE; HUR, 2017). Para tal finalidade, são capazes de interligar-se com receptores do organismo e inibir a ação de enzimas reguladoras (MARTÍNEZ-MAQUEDA et al., 2012). A biodisponibilidade dos peptídeos dietéticos é influenciada pela fonte proteica, atividade enzimática e circunstâncias do processamento do ingrediente (BECHAUX et al., 2019). Portanto, novas técnicas para disponibilizar estas moléculas são apuradas, com intuito de melhorar a qualidade e aumentar a

bioatividade (BRANDELLI et al., 2015; MAS-CAPDEVILA et al., 2019). Desta forma, o processo de hidrólise enzimática potencializa a biodisponibilidade, função e aproveitamento destas moléculas (ALUKO, 2015; LEE; HUR, 2017; ZÓIA et al., 2021). Além disso, a hidrólise enzimática permite maior eficiência da digestão e absorção das proteínas e aumenta a disponibilidade dos aminoácidos (KOOPTMAN et al. 2009).

Dentre o conjunto de possíveis efeitos dos peptídeos bioativos, a ação anti-hipertensiva ganha notoriedade (BHAT; KUMAR; BHAT, 2017; CÍCERO et al., 2017). Determinados peptídeos possuem a capacidade de inibir a ECA, e assim, impedir a conversão de ANG I em ANG II, procedendo à vasodilatação e redução da PA (TSAFACK; LI; TSOPMO, 2022). Kawasaki et al. (2000) observaram em humanos moderadamente hipertensos, redução da PAS em -9,3mmHg, e a PAD em -5,2mmHg ( $P < 0.001$ ), efeito relacionado ao peptídeo Val-Tir obtido da sardinha. A redução da pressão arterial foi acompanhada, simultaneamente, pela redução das concentrações séricas de ANG I e ALD. Além disso, Nakashima et al. (2002) constataram, em modelos de ratos espontaneamente hipertensos (SHR), efeitos hipotensivos dos peptídeos metionina, asparagina, prolina, lisina, isoleucina e treonina, provenientes da fonte de proteína suína. Capazes de diminuir a PAS de -23,4 mmHg ( $\pm 3,0$ ) para -21,0 mmHg ( $\pm 3,1$ ), após 6 horas da ingestão. Diversas pesquisas *in vitro* e *in vivo* foram realizadas com o intuito de encontrar peptídeos capazes de exercerem efeitos anti-hipertensivos (Quadro 1). Assim, surgem como uma alternativa estável e de baixo efeito colateral para o tratamento da hipertensão (LEE e HUR, 2017).



Quadro 1 - Principais estudos que avaliaram os efeitos anti-hipertensivos dos peptídeos bioativos presentes em diferentes fontes de proteína

<b>Autor</b>	<b>Experimento</b>	<b>Fontes proteicas</b>	<b>Modelo animal</b>	<b>Principais resultados</b>
MATSUFUJI et al. (1994)	<i>In vitro</i>	Músculo de sardinha	-	Potencial atividade inibitória da ECA da fonte e peptídeos isolados
ARIHARA et al. (2001)	<i>In vitro</i>	Músculo suíno	-	Atividades inibitórias da ECA de músculos
YOSHJI et al. (2001)	<i>In vivo</i>	Ovo	Ratos	Oligopeptídeos com potencial anti-hipertensivo decorrente da inibição da ECA
HERNÁNDEZ-LEDESMA et al. (2004)	<i>In vitro</i>	Leite de vaca	-	O potencial inibitório da ECA está relacionado com sequência de aminoácidos dos peptídeos
LI et al. (2007)	<i>In vitro e In vivo</i>	Proteína de arroz	Ratos	Atividade inibitória <i>in vitro</i> da ECA e propriedade anti-hipertensiva <i>in vivo</i>
MAJUMDER & WU (2009)	<i>In vitro</i>	Ovo cozido	-	A digestão <i>in vitro</i> de ovos cozidos pode gerar peptídeos inibidores da ECA
ESCUDEIRO et al. (2010)	<i>In vitro</i>	Proteína suína	-	Uso da proteína suína como fonte de peptídeos anti-hipertensivos
KARI et al. (2023)	<i>In silico</i>	Anchova	-	Peptídeos bioativos que possuem atividades inibitórias da ECA

Continuação

HATAKENAKA, KATO & OKAMOTO (2023)	<i>In vitro e in silico</i>	Elastina suína	-	O número e a força das interações entre os peptídeos e a ECA são importantes para a potência inibitória do peptídeo.
--------------------------------------	-----------------------------	----------------	---	--

Fonte: Príncipe (2024)

Legenda: ECA: enzima conversora de angiotensina.

#### 2.4.1 Peptídeos anti-hipertensivos derivados da proteína de vísceras de aves hidrolisada

A farinha de vísceras de aves, destaca-se pela alta qualidade, adequado perfil aminoacídico, baixo impacto ambiental e custo reduzido (MEEKER; MEISINGER, 2015). Estudos demonstram o potencial de efeitos hipotensivos de peptídeos originários da proteína de aves (Quadro 2). Estudos *in vitro* avaliaram a digestão da carne de aves pelas proteases de *Aspergillus spp.*, proteases gástricas e simulações de digestão gastrointestinal, e observaram a liberação de peptídeos capazes de inibir a atividade da ECA (SAIGA et al., 2003; SAIGA et al., 2008; TERASHIMA et al., 2010; SANGSAWAD et al., 2017). Estudo *in vivo* com modelos SHR demonstrou que a administração oral (100mg de peptídeos/kg de PC) de hidrolisados enzimáticos extraídos da pele de frango foram capazes de reduzir a PAS de -32,67mmHg para -31,33mmHg (ONUH et al., 2015). Além disso, em modelos SHR, constatou-se que a ingestão de extrato de frango e de colágeno de frango hidrolisados são eficazes na redução da PA e na atenuação de lesões cardiovasculares (MATSUMURA et al., 2001; ZHANG et al., 2010).

Contudo, esse tema foi pouco abordado para animais de companhia. (SANGSAWAD et al., 2017). Até o presente momento, apenas um estudo foi conduzido com gatos saudáveis e nenhum estudo abordou esta temática sobre a perspectiva do paciente obeso e idoso. Miltenburg et al. (2021) avaliaram o efeito da farinha de vísceras de frango hidrolisada sobre a atividade sérica da ECA e ALD de oito gatos saudáveis (quatro fêmeas e quatro machos) através do delineamento cruzado. Uma dieta controle e uma dieta teste foram formuladas, diferenciadas pelo processamento de hidrólise enzimática sobre a fonte proteica. Os autores observaram tendência da farinha de vísceras de frango hidrolisada para o efeito inibitório da ECA sérica. Porém, não houve alterações nas concentrações séricas de ALD. Desta forma, há necessidade de experimentos *in vivo*, com a finalidade de validar o potencial de ação e aplicabilidade clínica, em humanos e animais, do efeito anti-hipertensivo dos peptídeos originários da proteína de frango. Além disso, o uso da proteína de frango hidrolisada no manejo da pressão arterial é algo inédito em gatos obesos.

Quadro 2 - Principais estudos que avaliaram os efeitos anti-hipertensivo dos peptídeos bioativos presentes em derivados da proteína de vísceras de frango hidrolisada e seus subprodutos

<b>Autor</b>	<b>Experimento</b>	<b>Fonte proteica</b>	<b>Modelo animal</b>	<b>Principais resultados</b>
FUJITA et al. (2000)	<i>In vitro e in vivo</i>	Músculo de frango e ovalbumina	SHR	Peptídeos inibidores da ECA pré-incubados com valores IC <sub>50</sub> e do tipo pró-fármacos possuem potencial anti-hipertensivo
CHEN et al. (2002)	<i>In vivo</i>	Vísceras de frango	SHR	Redução da PAS dos ratos após 16 semanas de ingestão
SAIGA et al. (2003)	<i>In vivo</i>	Peito de frango	SHR	Redução da PA após a administração oral do extrato de músculo do peito de frango
CHENG et al. (2008)	<i>In vitro e in vivo</i>	Ossos de coxa de frango	SHR	Excelente atividade inibitória da ECA <i>in vitro</i> e atenuação da progressão da hipertensão e hipertrofia cardiovascular nos ratos (SHRs)
SAIGA et al. (2008)	<i>In vivo</i>	Colágeno de frango	SHR	Redução dos valores da PA
JAMDAR & SHARMA (2012)	<i>In vitro</i>	Vísceras de frango	-	A atividade inibidora da ECA é independente do tamanho do peptídeo e está relacionada à composição de aminoácidos da fonte
ONUH et al. (2016)	<i>In vivo</i>	Pele de frango	SHR	Redução da PA, desta forma, a atividade plasmática da ECA pode ser um biomarcador de hipertensão

Continuação

MANE & JAMDAR (2017)	<i>In vitro</i>	Vísceras de frango	-	A atividade inibidora da ECA
SANGSAWAD, ROYTRAKUL & YONGSAWATDIGUL (2017)	<i>In vitro</i>	Peito de frango cozido	-	Síntese de peptídeos inibidores da ECA
DOS SANTOS AGUIAR, DE SOUZA & DE CASTRO (2020)	<i>In vitro</i>	Vísceras de frango	-	Fonte de peptídeos com propriedades antioxidantes e anti-hipertensivas
MILTENBURG et al. (2021)	<i>In vitro e in vivo</i>	Vísceras de frango	Gatos	Tendência para redução da atividade sérica da ECA e adequada consistência fecal sem afetar a digestibilidade dos nutrientes

Fonte: Príncipe (2024)

Legenda: ECA: enzima conversora de angiotensina; IC<sub>50</sub>: concentração de inibidor necessária para inibir 50% da atividade da ECA; PA: pressão arterial; PAS: pressão arterial sistólica; SHR: rato espontaneamente hipertenso.

## 2.5 MICROBIOTA E PRESSÃO ARTERIAL

Uma ampla diversidade e densidade de microrganismos colonizam e habitam os seres vivos, os quais estruturam comunidades essenciais e funcionais para a homeostase fisiológica do hospedeiro (BARKO et al., 2018). Através da relação ativa e simbiótica entre as células do organismo e unidades microbianas, archeas, bactérias, fungos, protozoários e vírus contribuem para saúde e bem-estar dos hospedeiros (BLAKE; SUCHODOLSKI, 2016; HEIJTZ, 2016). O termo microbiota refere-se ao conjunto de microrganismos colonizadores de um habitat ou sistema específico (SUCHODOLSKI, 2017). Enquanto que, o termo microbioma reproduz todo ecossistema e engloba fatores bióticos e abióticos, ambientais e o genoma microbiano (WHITESIDE et al., 2015). Diversos fatores podem influenciar no crescimento, diversidade e composição dos microrganismos habitantes do trato gastrointestinal (TGI) (PANASEVICH et al., 2015). Fatores como a genética do hospedeiro (KOVACS et al., 2011), uso de medicamentos (BECATTINI; TAUR; PAMER, 2016), idade e ambiente externo (YATSUNENKO et al., 2012), estado de saúde e comorbidades (LI et al., 2016) e a dieta (CARMODY et al., 2019), interferem diretamente no microbioma.

Em equilíbrio (eubiose), a microbiota do TGI afeta diretamente diversas funções do organismo, dentre elas, absorção de nutrientes, metabolismo (MARTINEZ-GURYN et al., 2018), sistema imunológico (BANA; CABREIRO, 2019), sistema nervoso e endócrino (RASTELLI; CANI; KNAUF, 2019), regulação da barreira epitelial intestinal e prevenção da colonização por bactérias patogênicas (SCHUIJT et al., 2015). Além de espécies benéficas, espécies de bactérias potencialmente patogênicas também são colonizadoras da microbiota intestinal (ROBERFROID et al., 2010). A condição na qual ocorre a redução de bactérias benéficas e aumento na abundância de bactérias patogênicas é denominada de disbiose (SUCHODOLSKI, 2016). Desta forma, a disbiose intestinal do hospedeiro pode estar correlacionado com a etiopatogenia da doença, por exemplo em distúrbios gastrointestinais, imunológicos, neurológicos, reprodutivos, metabólicos (doenças cardiovasculares, doenças renais, obesidade e diabetes mellitus tipo 2) e neoplasias (ROOKS; GARRETT, 2016; TANG; KATAI; HAZEN, 2017; JACKSON et al., 2018; ZUO; SIEW, 2018; VALLES-COLOMER et al., 2019).

Diante disso, diversos estudos têm demonstrado o impacto da microbiota intestinal e seus metabólitos na etiologia, fisiopatologia e nos mecanismos de ação que envolvem a hipertensão arterial em humanos e animais (Quadro 3). Li et al. (2017) conduziram um estudo, baseado no transplante de microbiota fecal de seres humanos em camundongos *germ-free*. Pacientes normotensos, pré-hipertensos e hipertensos foram selecionados e suas respectivas microbiotas fecais foram transplantadas em camundongos totalmente livres de qualquer microbiota. Na análise da microbiota fecal, os autores observaram alterações na composição dos grupos bacterianos entre os grupos de pacientes. Além disso, constataram que os camundongos *germ-free* tornaram-se hipertensos após receberem transplante de microbiota fecal de pacientes humanos hipertensos (LI et al., 2017). Desta forma, demonstraram que a microbiota e a hipertensão arterial estão intimamente relacionadas. Acredita-se que alguns fatores como a síntese de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), permeabilidade intestinal, eixo intestino-cérebro, ativação do sistema nervoso simpático, inflamação e neuro-inflamação podem estar correlacionados. (VERHAAR et al., 2020; XIONG et al., 2021). Porém, a relação entre disbiose intestinal e hipertensão não é totalmente lúcida.

Por exemplo, valores elevados de PA foram associados à maiores concentrações fecais de AGCC em seres humanos (DE LA CUESTA-ZULUAGA et al., 2018). Porém, Huart et al. (2019) constataram menores valores de PA em indivíduos que possuíam uma microbiota produtora de AGCC. Outros ensaios clínicos realizados em camundongos (KUMAR et al., 2017) e seres humanos (BOUTER et al., 2018) corroboram os resultados de Huart et al. (2019). A influência dos AGCC no controle da pressão arterial não foi totalmente elucidada, e mais estudos são necessários. Além disso, a maior permeabilidade intestinal pode contribuir para o desenvolvimento da hipertensão (TORAL et al. 2019). Uma vez que, a translocação de lipopolissacarídeos (LPS) podem levar à inflamação e neuro-inflamação e desencadear efeitos metabólicos e cardiovasculares, que influenciam na regulação da PA (MASSON et al., 2015).

Desta forma, o tratamento da hipertensão encontra novos desafios a serem superados. A microbiota intestinal e os seus metabólitos são fatores essenciais na hipertensão arterial (XIONG et al., 2021). Ambos possuem a capacidade de intervir na absorção e metabolização dos fármacos anti-hipertensivos (ZIMMERMANN et al., 2019). A redução direta dos valores da PA pelos medicamentos anti-hipertensivos,

atrela-se também ao efeito de modulação da microbiota e reestabelecimento da eubiose (YANG et al., 2019; LI et al., 2020; ROBLES-VERA et al., 2020). A relação entre o microbioma intestinal e os fármacos anti-hipertensivos a respeito da sua biotransformação, atuação e metabolização ainda não está clara (XIONG et al., 2021). Mais estudos são necessários para compreender a interação microbiota e anti-hipertensivos, e assim, desenvolver novas abordagens terapêuticas.

A dieta é o principal fator influenciador na composição e funcionalidade da microbiota intestinal. Desta forma, o eixo de interação dieta-microbiota serve como modulador de higidez e doença do hospedeiro (RICHARDS et al., 2022). Dentre os fatores conhecidos diante da literatura científica, as fibras dietéticas são os principais elementos da dieta que impactam a microbiota intestinal (ASHAOLU et al., 2020). Porém, peptídeos dietéticos originários de outros nutrientes possuem influência na manutenção da eubiose (ALBRACHT-SCHULTE et al., 2021). Durante o processo de fermentação, as bactérias intestinais utilizam-se preferencialmente de peptídeos ao invés de aminoácidos livres (LOUIS; FLINT, 2017). Wang et al. (2019) observaram a modulação da microbiota intestinal de cães com enteropatia inflamatória crônica, por meio da inibição do crescimento de bactérias patogênicas e produtoras de LPS. Vinte e nove cães com enteropatia crônica foram selecionados e tratados inicialmente com uma dieta com 100% proteína hidrolisada comercial. O impacto da dieta na doença foi monitorado utilizando o *Canine Chronic Enteropathy Clinical Activity Index* (ALLENSPACH et al., 2007). 69% (20/29) dos animais apresentaram remissão completa da doença. Para os quais, os animais apresentaram redução na pontuação média da doença de 4,1 (IC 95% = 4,8–3,3) para 1,3 (IC 95% = 1,8–0,7) após duas semanas de consumo do alimento. Além disso, a dieta coadjuvante foi capaz de reduzir a disbiose associada à enteropatia crônica. Ao final do experimento, os animais responsivos à dieta apresentaram uma microbiota com menor similaridade com o dia 0 (em relação a eles mesmos) e maior similaridade com cães saudáveis no dia 42 (WANG et al., 2019).

Os peptídeos dietéticos são moléculas multifuncionais e podem ser empregados no tratamento de diversas doenças, entre elas, a hipertensão arterial (TSAFACK; LI; TSOPMO, 2022). Daliri et al. (2020) constataram a conexão entre peptídeos dietéticos, microbiota e hipertensão arterial ao avaliarem o efeito da proteína fermentada de soja (50, 100 mg/kg de PC) em modelos SHR. Os autores observaram



que o consumo da proteína fermentada de soja reduziu significativamente a PAS e PAD, e inibiu a atividade sérica da ECA. Além disso, verificaram o aumento da riqueza e uniformidade da microbiota intestinal, redução do índice de disbiose (*Firmicutes/Bacteroidetes*) e diminuição dos níveis de *Streptococcaceae* e *Erysipelotrichales*. Desta maneira, atenta-se a redução da hipertensão arterial associada à redução na disbiose da microbiota intestinal. Porém, os hidrolisados proteicos e peptídeos dietéticos podem não ter resultado significativo na inibição da ECA e de outros componentes do SRAA (TSAFACK; LI; TSOPMO, 2022). No entanto, demonstram seus efeitos anti-hipertensivos por meio da diminuição do estresse oxidativo e inflamação, por meio da modulação e recomposição do equilíbrio da microbiota intestinal em modelos SHR (AGARKOVA et al. 2019).

Quadro 3 - Principais estudos que avaliaram os efeitos das fontes proteicas hidrolisadas e dos peptídeos proteicos na modulação da microbiota intestinal e na pressão arterial.

<b>Autor</b>	<b>Fonte proteica</b>	<b>Modelo animal</b>	<b>Efeito relacionado à microbiota intestinal</b>	<b>Impacto nos parâmetros/marcadores de hipertensão</b>
LIN et al. (2018)	Hidrolisado de proteína de Clorela (5–20% de clorela)	SHR propenso a AVC	Aumento na abundância de <i>Firmicutes</i> e <i>Lactobacillus</i>	Diminuição da PAS, colesterol sérico e inflamação
AGARKOVA et al. (2019)	Hidrolisado de proteína de soro de leite (2,5%)	SHR	<i>Bifidobacterium spp.</i> (3,7 vezes)	Diminuição da PAS (-18 mmHg) e PAD (-12 mmHg); aumento da angiotensina I e diminuição da angiotensina II; diminuição do estresse oxidativo
CHEN et al. (2020a)	Peptídeos de kefir (200 mg/kg PC) induzidos por sal	SHR	Aumento da riqueza de <i>Allobaculum</i> , <i>Bifidobacterium</i> e <i>Lactobacillus spp.</i>	Redução da inflamação e do estresse oxidativo
DALIRI et al. (2020)	Proteína fermentada de soja (50, 100 mg/kg PC)	SHR	Aumento da riqueza e uniformidade microbiana; restauração da relação <i>Firmicutes/Bacteroidetes</i> ; aumento de propionato; diminuição de <i>Streptococcaceae</i> e <i>Erysipelotrichales</i>	Redução da PAS (-27,1 mmHg) e PAD (-38,6 mmHg); diminuição da atividade sérica da ECA em 40% e do estresse oxidativo
HAN et al. (2020)	Oligopeptídeos da carne de atum	Camundongo	Manutenção da integridade intestinal; aumento dos ácidos propiônico e butírico e reversão da disbiose da intestinal	Prevenção do estresse oxidativo e da inflamação
GAO et a. (2021)	<i>Chlamys farreri</i> (100 mg/kg PC)	SHR	Aumento da diversidade da microbiota; aumento da produção de butirato e <i>Ruminococcaceae sp.</i>	Redução da PAS (-71 mmHg) e PAD (-44 mmHg); aumento da vasodilatação e redução da inflamação

## Continuação

GUO et al. (2021)	Proteína de quinoa (100-400 mg/kg de PC), administração oral	SHR	Aumento da abundância de <i>Turicibacter</i> e <i>Allobaculum</i> ; aumento da alfa diversidade	Diminuição da PAS (-32 mmHg) e da PAD (-27 mmHg)
SONG et al. (2021)	Hidrolisado de proteína Ruditapes (100 mg/kg de peso corporal)	SHR	Aumento da diversidade da microbiota; diminuição da relação <i>Firmicutes/Bacteroidetes</i>	Redução da PAS e PAD; e dos danos renais
XIE et al. (2022)	VGINYW (5 mg/kg PC) e hidrolisado de $\alpha$ -lactalbumin (5 e 100 mg/kg PC)	SHR	Promoveu crescimento de bactérias produtoras de AGCC; restauração a relação <i>Firmicutes/Bacteroidetes</i> ; aumento da abundância de <i>Verrucomicrobia</i>	Redução da PAS (-21 mm Hg); diminuição da atividade sérica da ECA em 44% e dos níveis de angiotensina II
ZANG et al. (2022)	Elastina hidrolisada de atum (50 a 500 mg/kg de PC) SHR/Izm ICR	Camundongos AIA	Modulação da microbiota intestinal e do perfil de metabólito dos AGCCs; aumento de <i>Firmicutes</i> e <i>Bacteroidetes</i> , aumento de ácido acético, ácido butírico e ácido valérico nas fezes	Redução do dano endotelial e aumento da vasodilatação

Fonte: Príncipe (2024)

Legenda: AIA: artrite induzida por adjuvante; AGCC: ácidos graxos de cadeia curta; AVC: acidente vascular cerebral; ECA: enzima conversora de angiotensina; PA: pressão arterial; PAD: pressão arterial diastólica; PAS: pressão arterial sistólica; PC: peso corporal; SHR: rato espontaneamente hipertenso.

## 2.6 REFERÊNCIAS

ADUA, E. Decoding the mechanism of hypertension through multiomics profiling. **Journal of Human Hypertension**, v. 37, n. 4, p. 253-264, 2023.

ACIERNO, M. J. et al. ACVIM consensus statement: Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v. 32, n. 6, p. 1803-1822, 2018.

AGARKOVA, E. Y.; KRUCHININ, A. G.; GLAZUNOVA, O. A.; FEDOROVA, T. V. Whey protein hydrolysate and pumpkin pectin as nutraceutical and prebiotic components in a functional mousse with antihypertensive and bifidogenic properties. **Nutrients**, v. 11, n. 12, p. 2930, 2019.

ALBRACHT-SCHULTE, K et al. Systematic review of beef protein effects on gut microbiota: implications for health. **Advances in Nutrition**, v. 12, n. 1, p. 102-114, 2021.

AMAR, J.; CHAMONTIN, B.; GENES, N.; CANTET, C.; SALVADOR, M.; CAMBOU, J.P. et al. Why is hypertension so frequently uncontrolled in secondary prevention? **Journal of hypertension**, v. 21, n. 6, p. 1199-1205, 2003.

ARIHARA, K.; NAKASHIMA, Y.; MUKAI, T., ISHIKAWA, S.; ITOH, M. Peptide inhibitors for angiotensin I converting enzyme from enzymatic hydrolysates of porcine skeletal muscle proteins. **Meat Science**, v. 57, p. 319–32. 2001.

ASHAOLU, T. J. Soy bioactive peptides and the gut microbiota modulation. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 104, p. 9009-9017, 2020.

ATAWIA, R.T.; BUNCH, K.L.; TOQUE, H.A.; CALDWELL, R.B.; CALDWELL, R.W. Mechanisms of obesity-induced metabolic and vascular dysfunctions. **Frontiers in bioscience (Landmark edition)**. v. 24, p. 890. 2019.

BANA, B.; CABREIRO, F. The microbiome and aging. **Annual review of genetics**, v. 53, p. 239-261, 2019.

BANEUX, P.J.R.; MARTIN, M.E.; ALLEN, M.J.; HALLMAN, T.M. Issues related to institutional animal care and use committees and clinical trials using privately owned animals. **ILAR Journal**, v. 55, n. 1, p. 200-209, 2014.

BARBOS, EDUARDO et al. Guidelines on the management of arterial hypertension and related comorbidities in Latin America. **Journal of Hypertension**, 2017.

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

BARROSO, W. K. S. et al. Diretrizes brasileiras de hipertensão arterial–2020. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 116, p. 516-658, 2021.

BECATTINI, S.; TAUR, Y.; PAMER, E. G. Antibiotic-induced changes in the intestinal microbiota and disease. **Trends in molecular medicine**, v. 22, n. 6, p. 458-478, 2016.

BECHAUX, J.; GATELLIER, P.; LE PAGE, J-F.; DRILLET, Y.; SANTE-LHOUELIER, V. A comprehensive review of bioactive peptides obtained from animal byproducts and their applications. **Food & Function**, v.10, n. 10, p. 6244–6266. 2019.

BENDINELLI, M.; PISTELLO, M.; LOMBARDI, S.; POLI, A.; GARZELLI, C.; MATTEUCCI, D.; CECCHERINI-NELLI, L.; MALVALDI, G.; TOZZINI, F. Feline immunodeficiency virus: an interesting model for AIDS studies and an important cat pathogen. **Clinical microbiology reviews**, v. 8, n. 1, p. 87-112, 1995.

BHAT, Z.F.; KUMAR, S.; BHAT, H.F. Antihypertensive peptides of animal origin: A review. **Critical reviews in food science and nutrition**. v. 57, n 3, p. 566-578. 2017.

BIJSMANS, E.S.; DOIG, M.; JEPSON, R.E.; SYME, H.M.; ELLIOTT, J.; PELLIGAND, L. Factors influencing the relationship between the dose of amlodipine required for

blood pressure control and change in blood pressure in hypertensive cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 30, n. 5, p. 1630-1636. 2016.

BIJSMANS, E.S.; JEPSON, R.E.; CHANG, Y.M.; SYME, H.M.; ELLIOTT, J. Changes in systolic blood pressure over time in healthy cats and cats with chronic kidney disease. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 29, n. 3, p. 855-861, 2015.

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.

BODEY, A.R.; SANSOM, J. Epidemiological study of blood pressure in domestic cats. **Journal of Small Animal Practice**. v. 39, p. 567-573. 1998.

BOUTER, K. E. C.; BAKKER, G. J.; LEVIN, E.; HARTSTRA, A. V.; KOOTTE, R. S et al. Differential metabolic effects of oral butyrate treatment in lean versus metabolic syndrome subjects. **Clinical and translational gastroenterology**, v. 9, n. 5, 2018.

BRANDELLI, A.; SALA, L.; KALIL, S.J. Microbial enzymes for bioconversion of poultry waste into added-value products. **Food Research International**, v. 73, p.3–12. 2015.

BRITO-CASILLAS, Y.; MELIÁN, C.; WÄGNER, A.M. Study of the pathogenesis and treatment of diabetes mellitus through animal models. **Endocrinología y Nutrición (English Edition)**, v. 63, n. 7, p. 345-353, 2016.

CAMPBELL, D.J. Critical review of prorenin and (pro)renin receptor research. **Hypertension**, v. 51, p. 1259. 2008.

CANNON, C.M. Cats, cancer and comparative oncology. **Veterinary sciences**, v. 2, n. 3, p. 111-126, 2015.

CARMODY, R. N.; BISANZ, J. E.; BOWEN, B. P.; MAURICE, C. F et al. Cooking shapes the structure and function of the gut microbiome. **Nature microbiology**, v. 4, n. 12, p. 2052-2063, 2019.

CHAKRABARTI, S.; SYME, H.M.; BROWN, C.A.; ELLIOTT, J. Histomorphometry of feline chronic kidney disease and correlation with markers of renal dysfunction. **Veterinary Pathology**. v. 50, n. 1, p. 147-155. 2013.

CHEN, Y.H.; CHEN, H.L.; FAN, H.C.; TUNG, Y.T.; KUO, C.W.; TU, M.Y.; CHEN, C.M. Anti-inflammatory, antioxidant, and antifibrotic effects of kefir peptides on salt-induced renal vascular damage and dysfunction in aged stroke-prone spontaneously hypertensive rats. **Antioxidants**, v. 9, n. 9, p. 790, 2020.

CHENG, F-Y.; WAN, T-C.; LIU, Y-T.; LAI, K-M.; LIN, L-C.; SAKATA, R. Attenuating development of cardiovascular hypertrophy with hydrolysate of chicken leg bone protein in spontaneously hypertensive rats. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 21, n. 5, p. 732-737, 2008.

CHEN, Y-H.; LIU, Y-H.; YANG, Y-H.; FENG, H-H.; CHANG, C-T.; CHEN, C-C. Antihypertensive effect of an enzymatic hydrolysate of chicken essence residues. **Food Science and Technology Research**, v. 8, n. 2, p. 144-147, 2002.

CHETBOUL, V.; LEFEBVRE, H.P.; PINHAS, C.; CLERC, B.; BOUSSOUF, M.; POUCHELON, J.L. Spontaneous feline hypertension: clinical and echocardiographic abnormalities, and survival rate. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. v. 17, p. 89-95. 2003.

CHETBOUL, V.; REYNOLDS, B.S.; TREIOU-SECHI, E.; NGUYEN, P.; CONCORDET, D.; SAMPEDRANO, C.C.; TESTAULT, I.; ELLIOT, J.; ABADIE, J.; BIOUSSE, V.; LEFEBVRE, H.P. Cardiovascular effects of dietary salt intake in aged healthy cats: a 2-year prospective randomized, blinded, and controlled study. **PLoS One** 9. v. 9, n. 6, p. e97862. 2014.

CHOBANIAN, A.V.; BAKRIS, G.L.; BLACK, H.R. et al. National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee. The seventh report of the Joint National

Committee on the prevention, detection, evaluation and treatment of high blood pressure. **Hypertension**, v. 42, p. 1206–1252, 2003.

CHOBANIAN, A.V. Guidelines for the management of hypertension. **Medical Clinics**, v. 101, n. 1, p. 219-227, 2017.

CONROY, M.; CHANG, Y.M.; BRODBELT, D.; ELLIOTT, J. Survival after diagnosis of hypertension in cats attending primary care practice in the United Kingdom. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 32, n. 6, p. 1846–1855, 2018.

DALIRI, E. B-M.; OFUSO, F. K.; CHELLIAH, R.; LEE, B. H.; AN, H et al. Influence of fermented soy protein consumption on hypertension and gut microbial modulation in spontaneous hypertensive rats. **Bioscience of microbiota, food and health**, v. 39, n. 4, p. 199-208, 2020.

DE LA CUESTA-ZULUAGA, J.; MUELLET, N. T.; ÁLVAREZ-QUINTERO, R.; VALÁSQUEZ-MEJÍA, E. P.; SIERRA, J. A et al. Higher fecal short-chain fatty acid levels are associated with gut microbiome dysbiosis, obesity, hypertension and cardiometabolic disease risk factors. **Nutrients**, v. 11, n. 1, p. 51, 2018.

DENAYER, T.; STÖHR, T.; VAN ROY, M. Animal models in translational medicine: Validation and prediction. **New Horizons in Translational Medicine**, v. 2, n. 1, p. 5-11, 2014.

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.

DOS SANTOS AGUILAR, J. G.; DE SOUZA, A. K. S.; DE CASTRO, R. J. S. Enzymatic hydrolysis of chicken viscera to obtain added-value protein hydrolysates with antioxidant and antihypertensive properties. **International Journal of Peptide Research and Therapeutics**, v. 26, p. 717-725, 2020.



ELDER, J.; LIN, Y.C.; FINK, E.; GRANT, C. Feline Immunodeficiency Virus (FIV) as A Model for Study of Lentivirus Infections: Parallels with HIV. **Current HIV Research**, v. 8, n. 1, p. 73–80. 2010. doi:10.2174/157016210790416389

ELLIOT, J.; BARBER, P.J.; SYME, H.M.; RAWLINGS, J.M.; MARKWELL, P.J. Feline hypertension: clinical findings and response to antihypertensive treatment in 30 cases. **Journal of Small Animal Practice**. v. 42, n. 3, p. 122–129. 2001.

ELLIOTT, J.; FLETCHER, M.; SOUTTAR, K.; CARIESE, S.; SYME, H.M. Effect of concomitant amlodipine and benazepril therapy in the management of feline hypertension (abstract). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 18, n. 5, p. 788. 2004.

ESCUDERO, E.; SENTANDREU, M.A.; ARIHARA, K.; TOLDRÁ, F. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides generated from in vitro gastrointestinal digestion of pork meat. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 5, p. 2895-2901, 2010.

FREEMAN, L.M.; RUSH, J.E.; STERN, J.A.; HUGGINS, G.S.; MARON, M.S. Feline hypertrophic cardiomyopathy: a spontaneous large animal model of human HCM. **Cardiology research**, v. 8, n. 4, p. 139, 2017.

FUJITA, H.I.; YOKOYAMA, K.E.; YOSHIKAWA, M. Classification and antihypertensive activity of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins. **Journal of food science**, v. 65, n. 4, p. 564-569, 2000.

GAO, J.; LIU, Q.; ZHAO, L.; YU, J.; WANG, S.; CAO, T.; GAO, X.; WEI, Y. Identification and antihypertension study of novel angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides from the skirt of *Chlamys farreri* fermented with *Bacillus natto*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 69, n. 1, p. 146-158, 2020.

GEDDES, R.F. Hypertension: why is it critical ?. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, v. 50, n. 5, p. 1037-1052, 2020.

GIL-ORTUÑO, C.; MARCOS, P.S.; MOLINA, M.S.; ROCAMORA, E.N.; BLANES, J.R.G.; DEL PALACIO, M.J.F. Genetics of feline hypertrophic cardiomyopathy. **Clinical Genetics**, v. 98, n. 3, p. 203-214, 2020.

GUO, H.; HAO, Y.; FAN, X.; RICHEL, A.; EVERAERT, N.; YANG, X.; REN, G. Administration with quinoa protein reduces the blood pressure in spontaneously hypertensive rats and modifies the fecal microbiota. **Nutrients**, v. 13, n. 7, p. 2446, 2021.

HALL, J.E.; DO CARMO, J.M.; DA SILVA, A.A.; WANG, Z.; HALL, M.E. et al. Obesity-induced hypertension: interaction of neurohumoral and renal mechanisms. **Circulation research**. v. 116, n. 6, p. 991-1006, 2015.

HAN, J.; WANG, X.; TANG, S.; LU, C.; WAN, H.; ZHOU, J.; LI, Y.; MING, T.; WANG, Z.J.; SU, X. Protective effects of tuna meat oligopeptides (TMOP) supplementation on hyperuricemia and associated renal inflammation mediated by gut microbiota. **The FASEB Journal**, v. 34, n. 4, p. 5061-5076, 2020.

HANDL, S. et al. Faecal microbiota in lean and obese dogs. **Federation of European Microbiological Societies Microbiology Ecology**, v. 84, p. 332–343, 2013.

HATAKENAKA, T.; KATO, T.; OKAMOTO, K. In Vitro and In Silico Studies on Angiotensin I-Converting Enzyme Inhibitory Peptides Found in Hydrophobic Domains of Porcine Elastin. **Molecules**, v. 28, n. 8, p. 3337, 2023.

HEIJTZ, R. D. Fecal, neonatal, and infant microbiome: Perturbations and subsequent effects on brain development and behavior. **Seminars in Fecal and Neonatal Medicine**, v. 21, p. 410-417, 2016.

HENSON, M.S.; O'BRIEN, T.D. Feline models of type 2 diabetes mellitus. **ILAR Journal**, v. 47, n. 3, p. 234-242, 2006.

HERNÁNDEZ-LEDESMA, B.; AMIGO, L.; RAMOS, M.; RECIO, I. Angiotensin converting enzyme inhibitory activity in commercial fermented products. Formation of peptides under simulated gastrointestinal digestion. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 52, n. 6, p. 1504-1510, 2004.

HOENIG, M.; HALL, G.; FERGUNSON, D.; JORDAN, K.; HENSON, M.; JOHNSON, K.; O'BRIEN, T. A feline model of experimentally induced islet amyloidosis. **American Journal of Pathology**. v. 157, p. 2143–2150. 2000.

HUHTINEN, M.; DERRÉ, G.; RENOLDI, H.J.; RINKINEM, M.; ADLER, K.; ASPEGRÉN, J.; ZEMIRLINE, C.; ELLIOTT, J. Randomized placebo-controlled clinical trial of a chewable formulation of amlodipine for the treatment of hypertension in client-owned cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 29, n. 3, p. 786-793. 2015.

HUART, J.; LEENDERS, J.; TAMINIAU, B.; DESCY, J.; SAINT-REMY, A et al. Gut microbiota and fecal levels of short-chain fatty acids differ upon 24-hour blood pressure levels in men. **Hypertension**, v. 74, n. 4, p. 1005-1013, 2019.

JACKSON M. A.; VERDI, S.; MAXAN M.; SHIN, C. M.; ZIERER J.; BOWYER R. C. E.; et al. Gut microbiota associations with common diseases and prescription medications in a population-based cohort. **Nature communications**, v. 9, n. 1, p. 2655, 2018.

JAMDAR, S. N.; RAJALAKSHMI, V.; SHARMA, Arun. Antioxidant and ace inhibitory properties of poultry viscera protein hydrolysate and its peptide fractions. **Journal of Food Biochemistry**, v. 36, n. 4, p. 494-501, 2012.

JEPSON, R.E.; ELLIOTT, J.; BRODBELT, D.; SYME, H.M. Effect of control of systolic blood pressure on survival in cats with systemic hypertension. **Journal Veterinary Internal Medicine**, v. 21, n. 3, p. 402-409. 2007.

JEPSON, R.E.; SYME, H.M.; ELLIOTT, J. Plasma renin activity and aldosterone concentrations in hypertensive cats with and without azotemia and in response to

treatment with amlodipine besylate. **Journal Veterinary Internal Medicine**, v. 28, n. 1, p. 144-153. 2014

JOSHUA, J.; CASWELL, J.; O'SULLIVAN, M.L.; WOOG, G.; FONFARA, S. Feline myocardial transcriptome in health and in hypertrophic cardiomyopathy—A translational animal model for human disease. **Plos one**, v. 18, n. 3, p. e0283244, 2023.

KAWASAKI, T.; SEKI, E.; OSAJIMA, K.; YOSHIDA, M.; ASADA, K.; MASUI, T.; OSAJIMA, Y. Antihypertensive effect of valyl-tyrosine, a short chain peptide derived from sardine muscle hydrolysate, on mild hypertensive subjects. **Journal of Human Hypertension**, v. 14, p. 519–523, 2000.

KHAYATAN, D.; HUSSAIN, A.; TEBYANIYAN, H. Exploring animal models in oral cancer research and clinical intervention: A critical review. **Veterinary Medicine and Science**, v. 9, n. 4, p. 1833-1847. 2023.

KIRK, C.A.; JEWELL, D.E.; LOWRY, S.R. Effects of sodium chloride on selected parameters in cats. **Veterinary Therapeutics**. v. 7, p. 333–346. 2006.

KNIES, M.; KOOISTRA, H.S.; TESKE, E. Prevalence of persistent hypertension and situational hypertension in a population of elderly cats in The Netherlands. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 25, n. 6, p. 1098612X231172629. 2023.

KOL, A.; ARZI, B.; ATHANASIOU, K.A.; FARMER, D.L.; NOLTA, J.A.; REBHUN, R.B.; CHEIN, X.; GRIFFITHS, L.G.; VERSTRAETE, F.J.M.; MURPHY, C.J.; BORJESSON, D.L. Companion animals: Translational scientist's new best friends. **Science translational medicine**, v. 7, n. 308, p. 308ps21-308ps21, 2015.

KOOPMAN, R.; CROMBACH, N.; GIJSEN, A.P.; WALRAND, S.; FAUGUANT, J.; KIES, A.K.; LEMOSQUET, S.; SARIS, W.H.; BOIRIE, Y.; VAN LOON, L.J. et al. Ingestion of a protein hydrolysate is accompanied by an accelerated in vivo digestion

and absorption rate when compared with its intact protein. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 90, n. 2, p. 106–115. 2009.

KOVACS, A.; BEN-JACOB, N.; TAYEM, H.; HALPERIN, E.; IRAQI, F. A.; GOPHNA, U. Genotype is a stronger determinant than sex of the mouse gut microbiota. **Microbial ecology**, v. 61, p. 423-428, 2011.

KUMAR, P.; GOGULAMUDI, V. R.; PERIASAMY, R.; RAGHAVARAJU, G et al. Inhibition of HDAC enhances STAT acetylation, blocks NF- $\kappa$ B, and suppresses the renal inflammation and fibrosis in Npr1 haplotype male mice. **American Journal of Physiology-Renal Physiology**, v. 313, n. 3, p. F781-F795, 2017.

LACKLAND, D. T.; WEBER, M. A. Global burden of cardiovascular disease and stroke: hypertension at the core. **Canadian Journal of Cardiology**, v. 31, n. 5, p. 569–571. 2015.

LAIRMORE, M.D. e KHANNA, C. Naturally occurring diseases in animals: contributions to translational medicine. **ILAR Journal**. v. 55, n. 1, p. 1–3. 2014.

LAKATTA, E. G.; LEVY, D. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part II: the aging heart in health: links to heart disease. **Circulation**, v. 107, n. 2, p. 346-354, 2003.

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

LESSER, M.; FOX, P. R.; BONDE, B. R. Assessment of hypertension in 40 cats with left ventricular hypertrophy by Doppler-shift sphygmomanometry. **Journal of Small Animal Practice**. v. 33, p. 55-58. 1992.

LEWINGTON, S.; CLARKE, R.; QIZILBASH, N.; PETO, R.; COLLINS, R. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual

data for one million adults in 61 prospective studies. **The Lancet**, v. 360, n. 9349, p. 1903-1913, 2002.

LI, D.; WANG, P.; WANG, P.; HU, X.; CHEN, F. The gut microbiota: A treasure for human health. **Biotechnology Advances**, v. 34, n. 7, p. 1210-1224, 2016.

LI, H-B.; YANG, T.; RACHARDS, E. M.; PEPINE, C. J.; RAIZADA, M. K. Maternal treatment with captopril persistently alters gut-brain communication and attenuates hypertension of male offspring. **Hypertension**, v. 75, n. 5, p. 1315-1324, 2020.

LI, J.; ZHAO, F.; WANG, Y.; CHEN, J.; TAO, J et al. Gut microbiota dysbiosis contributes to the development of hypertension. **Microbiome**, v. 5, p. 1-19, 2017.

LI, G-H.; QU, M-R.; WAN, J-Z.; YOU, J-M. Antihypertensive effect of rice protein hydrolysate with in vitro angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity in spontaneously hypertensive rats. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v. 16, n. S1, p. 275-280, 2007.

LIN, Y. H.; CHEN, G. W.; YEH, C.; SONG, H.; TSAI, J. S. Purification and identification of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides and the antihypertensive effect of *Chlorella sorokiniana* protein hydrolysates. **Nutrients**, v. 10, n. 10, p. 1397, 2018.

LOUIS, P.; FLINT, H. J. Formation of propionate and butyrate by the human colonic microbiota. **Environmental microbiology**, v. 19, n. 1, p. 29-41, 2017.

MAGGIO, F.; DEFRANCESCO, T.C.; ATKINS, C.E.; PIZZIRANI, S.; GILGER, B.C.; DAVIDSON, M.G. Ocular lesions associated with systemic hypertension in cats: 69 cases (1985-1998). **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v. 217, p. 695–702. 2000.

MAHMOOD, S.; SHAH, K.U.; KHAN, T.M.; NAWAZ, S.; RASHID, H.; BAGAR, S.W.A.; KAMRAN, S. Non-pharmacological management of hypertension: in the light of current research. **Irish Journal of Medical Science (1971-)**, v. 188, p. 437-452, 2018.

MAJUMDER, K.; WU, J. Angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides from simulated in vitro gastrointestinal digestion of cooked eggs. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 57, n. 2, p. 471-477, 2009.

MAMOTO, J.; SANOU, M.; ABBOTT, J.; COLEMAN, J. Feline Immunodeficiency Virus Model for Designing HIV/AIDS Vaccines. **Current HIV Research**, v. 8, n. 1, p. 14–25. 2010.

MANE, S.; JAMDAR, S. N. Purification and identification of Ace-inhibitory peptides from poultry viscera protein hydrolysate. **Journal of Food Biochemistry**, v. 41, n. 2, p. e12275, 2017.

MARTINEZ-GURYN, K.; HUBERT, N.; FRAZIER, K.; URLASS, S.; MUSCH, M. W.; OJEDA, P et al. Small intestine microbiota regulate host digestive and absorptive adaptive responses to dietary lipids. **Cell Host & Microbe**, v. 23, n. 4, p. 458-469, 2018.

MARTÍNEZ-MAQUEDA, D.; MIRALLES, B.; RECIO, I.; HERNÁNDEZ-LEDESMA, B. Antihypertensive peptides from food proteins: a review. **Food and Function**, v. 3, p. 350-361. 2012.

MASSON, G. S.; NAIR, A. R.; DANGE, R. B.; SILVA-SOARES, P. P.; MICHELINI, L. C et al. Toll-like receptor 4 promotes autonomic dysfunction, inflammation and microglia activation in the hypothalamic paraventricular nucleus: role of endoplasmic reticulum stress. **PLoS One**, v. 10, n. 3, p. e0122850, 2015.

MATSUFUJI, H.; MATSUI, T.; SEKI, E.; OSAJIMA, K.; NAKASHIMA, M.; OSAJIMA, Y. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides in an alkaline protease hydrolyzate derived from sardine muscle. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, v. 58, n. 12, p. 2244-2245, 1994.

MATSUMURA, Y.; OKUI, T.; ONO, H.; KISO, Y.; TANAKA, T. Antihypertensive effects of chicken extract against deoxycorticosterone acetate-salt induced hypertension in rats. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 24, p. 1181–1184. 2001.

MAS-CAPDEVILA, A.; IGLESIAS-CARRES, L.; AROLA-ARNAL, A.; SUAREZ, M.; MUGUERZA, B.; BRAVO, F.I. Longterm administration of protein hydrolysate from chicken feet induces antihypertensive effect and confers vasoprotective pattern in diet-induced hypertensive rats. **Journal of Functional Foods**, v. 55, p. 28–35. 2019.

MCENJERY, C.M.; WILKINSON, I.B.; AVOLIO, A.P. Age, hypertension and arterial function. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**. v. 34, n. 7, p. 665-671. 2007.

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

MOONEY, A.P.; MAWBY, D.I.; PRICE, J.M.; WHITTEMORE, J.C. Effects of various factors on Doppler flow ultrasonic radial and coccygeal artery systolic blood pressure measurements in privately-owned, conscious dogs. **PeerJ**. v. 5, e3101. 2017.

MUNTNER, P.; HARDY, S.T.; FINE, L.J.; JAEGER, B.C.; WOZNIAK, G.; LEVITAN, E.B.; COLANTONIO, L.D. Trends in blood pressure control among US adults with hypertension, 1999-2000 to 2017-2018. **Jama**, v. 324, n. 12, p. 1190-1200, 2020.

NAGASE, M.; YASHIDA, S.; SHIBATA, S.; NAGASE, T.; GOTODA, T.; ANDO, K.; FUJITA, T. Enhanced aldosterone signaling in the early nephropathy of rats with metabolic syndrome: possible contribution of fat-derived factors. **Journal of the American Society of Nephrology**. v. 17, n. 12, p. 3438-3446. 2006.

NAKASHIMA, Y.; ARIHARA, K.; SASAKI, A.; ISHIKAWA, S.; ITOH, M. Antihypertensive activities of peptides derived from porcine skeletal muscle myosin in spontaneously hypertensive rats. **Journal of Food Science**, v. 67, p. 434–437. 2002.



NASCIMENTO, C.; FERREIRA, F. Tumor microenvironment of human breast cancer, and feline mammary carcinoma as a potential study model. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer**, v. 1876, n. 1, p. 188587, 2021.

NELSON, R.W.; REUSCH, C.E. Animal models of disease: classification and etiology of diabetes in dogs and cats. **Journal of endocrinology**, v. 222, n. 3, p. T1-T9, 2014.

NEREMBERG, K.A.; ZARNKE, K.B.; LEUNG, A.A.; et al. Hypertension Canada's 2018 guidelines for diagnosis, risk assessment, prevention, and treatment of hypertension in adults and children. **Canadian Journal of Cardiology**. v. 34, p. 506-525, 2018.

NGUYEN, P.; REYNOLDS, B.; ZENTEK, J.; PABLACK, N.; LERAY, V. Sodium in feline nutrition. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 101, n. 3, p. 403-420, 2017.

NINOMIYA, T. et al. Blood Pressure Lowering Treatment Trialists' Collaboration. Blood pressure lowering and major cardiovascular events in people with and without chronic kidney disease: meta-analysis of randomised controlled trials. **BMJ**, v. 347, p. f5680, 2013.

NIU, M.T.; STEIN, D.S.; SCHNITTMAN, S.M. Primary human immunodeficiency virus type 1 infection: review of pathogenesis and early treatment intervention in humans and animal retrovirus infections. **Journal of Infectious Diseases**. 168:1490-1501. 1993.

NOBAKHT, N.; KAMGAR, M.; RASTOGI, A.; SCHRIER, R. W. Limitations of angiotensin inhibition. *Nature Reviews Nephrology*, v. 7, n. 6, p. 356–359, 2011.

NORTH, B. J.; SINCLAIR, D. A. The intersection between aging and cardiovascular disease. **Circulation Research**, v. 110, n. 8, p. 1097-1108, 2012.

O'DONNELL, J.A.; ZHENG, T.; MERIC, G.; MARQUES, F.Z. The gut microbiome and hypertension. **Nature Reviews Nephrology**, v. 19, n. 3, p. 153-167, 2023.

ONUH, J.O.; GIRGIH, A.T.; MALOMO, S.A.; ALUKO, R.E.; ALIANI, M. Kinetics of in vitro renin and angiotensin converting enzyme inhibition by chicken skin protein hydrolysates and their blood pressure lowering effects in spontaneously hypertensive rats. **Journal of Functional Foods**, v. 14, p. 133–143. 2015.

ONUH, J.O.; GIRGIH, A.T.; NWACHUKWU, I.; IEVARI-SHARIATI, S.; RAJ, P.; NETTICADAN, T.; ALUKO, R.E.; ALIANI, M. A metabolomics approach for investigating urinary and plasma changes in spontaneously hypertensive rats (SHR) fed with chicken skin protein hydrolysates diets. **Journal of Functional Foods**, v. 22, p. 20-33, 2016.

OLSEN, M.H.; ANGELL, S.Y.; ASMA, S.; BOUTOUYRIE, P. et al. A call to action and a lifecourse strategy to address the global burden of raised blood pressure on current and future generations: the Lancet Commission on hypertension. **The Lancet**, v. 388, n. 10060, p. 2665-2712, 2016.

PANASEVICH, M. R. et al. Modulation of the faecal microbiome of healthy adult dogs by inclusion of potato fibre in the diet. **The British Journal of Nutrition**, v. 113, p. 125-133, 2015.

PAREKH, N.; PAGE, A.; ALI, K.; DAVIES, K.; RAJKUMAR, C. A practical approach to the pharmacological management of hypertension in older people. **Therapeutic advances in drug safety**, v. 8, n. 4, p. 117-132, 2017.

RASTELLI, M.; CANI, P. D.; KNAUF, C. The gut microbiome influences host endocrine functions. **Endocrine reviews**, v. 40, n. 5, p. 1271-1284, 2019.

RICHARDS, E. M.; LI, J.; STEVENS, B. R.; PEPINE, C. J.; RAIZADA, M. K. Gut microbiome and neuroinflammation in hypertension. **Circulation Research**, v. 130, n. 3, p. 401-417, 2022.

ROBERFROID, M. B. et al. Prebiotic effects: metabolic and health benefits. **The British Journal of Nutrition**, v. 104, p. S1-63, 2010.

ROBLES-VERA, I.; TORAL, M.; VISITACIÓN, N.; SÁNCHEZ, M et al. Changes to the gut microbiota induced by losartan contributes to its antihypertensive effects. **British journal of pharmacology**, v. 177, n. 9, p. 2006-2023, 2020.

ROIG, E.; PEREZ-VILLA, F.; MORALES, M.; JIMÉNEZ, W.; ORÚS, J.; HERAS, M.; SANZ, G. Clinical implications of increased plasma angiotensin II despite ACE inhibitor therapy in patients with congestive heart failure. **European Heart Journal**. v. 21, p. 53–57. 2000.

ROOKS, M. G.; GARRETT, W. S. Gut microbiota, metabolites and host immunity. **Nature reviews immunology**, v. 16, n. 6, p. 341-352, 2016.

RYKL, J.; THIEMANN, J.; KURZAWSKI, S.; POHL, T.; GOBOM, J.; ZIDEK, W.; SCHLUTER, H. Renal cathepsin G and angiotensin II generation. **Journal of Hypertension**, v. 24, p. 1797–1807. 2006.

SAFAR, MICHEL. Ageing and its effects on the cardiovascular system. **Drugs**, v. 39, p. 1-8. 1990.

SAIGA, A.; IWAI, K.; HAYAKAWA, T. TAKAHATA, Y.; KITAMURA, S.; NISHIMURA, T.; MORIMATSU, F. Angiotensin I-converting enzyme-inhibitory peptides obtained from chicken collagen hydrolysate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 9586-9591. 2008.

SAIGA, A.; OKUMURA, T.; MAKIHARA, T.; KATSUTA, S.; SHIMIZU, T.; YAMADA, R.; NISHIMURA, T. Angiotensin I-converting enzymes inhibitory peptides in a hydrolyzed chicken breast muscle extract. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 1740–1745. 2003.

SANTOS, R.A.S.; SAMAPAIO, W.O.; ALZAMORA, A.C.; MOTTA-SANTOS, D.; ALENINA, N.; BADER, M.; CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J. The ACE2/angiotensin-(1–7)/MAS axis of the renin-angiotensin system: focus on angiotensin-(1–7). **Physiological Reviews**, v. 98, n. 1, p. 505-553. 2017.

SANGSAWAD, P.; ROYTRAKUL, S.; YONGSAWATDIGUL, J. Angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory peptides derived from the simulated in vitro gastrointestinal digestion of cooked chicken breast. **Journal of Functional Foods**, v. 29, p. 77–83. 2017.

SCHROPE, D.P. Prevalence of congenital heart disease in 76,301 mixed-breed dogs and 57,025 mixed-breed cats. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 17, p. 192– 202. 2015.

SCHUIJT, T. J et al. The gut microbiota plays a protective role in the host defence against pneumococcal pneumonia. **Gut**, p. 1-9, 2015.

SHELTON, G.D; ENGVALL, E.V.A. Canine and feline models of human inherited muscle diseases. **Neuromuscular Disorders**. v. 15, n. 2, p. 127-138. 2005.

SIMPSON, K.M.; DE RISIO, L.; THEOBALD, A.; GAROSI, L.; LOWRIE, M. Feline ischaemic myelopathy with a predilection for the cranial cervical spinal cord in older cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v. 16, p. 1001-1006. 2014.

SMITH, K. Feline muscular dystrophy: parallels between cats and people. **Veterinary Record**. v.168, p. 507-508. 2011.

SOOD, S.; MITTAL, N.; SINGH, T.G.; DEVI, S. Pathogenesis of obesity-associated cardiovascular diseases: Key role of biomolecules. **Health Sciences Review**, v. 7, p. 100098, 2023.

SONG, Y.; YU, J.; SONG, J.; WANG, S.; CAO, T.; LIU, Z.; GAO, X.; WEI, Y. The antihypertensive effect and mechanisms of bioactive peptides from *Ruditapes*

philippinarum fermented with *Bacillus natto* in spontaneously hypertensive rats. **Journal of Functional Foods**, v. 79, p. 104411, 2021.

STRUTHERS, A.D. Aldosterone escape during angiotensin-converting enzyme inhibitor therapy in chronic heart failure. **Journal of Cardiac Failure**, v. 2, p. 47-54. 1996.

SYME, M.; BARBER, P.J.; MARKWELL, P.J.; ELLIOT, J. Prevalence of systolic hypertension in cats with chronic renal failure at initial evaluation. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v. 220, p. 1799–1804. 2002.

SYME HM, MARKWELL PJ, PFEIFFER D, ELLIOTT J. Survival of cats with naturally occurring chronic renal failure is related to severity of proteinuria. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v. 20, n. 3, p. 528-535. 2006.

TANG, W.H.W.; KITAI, T.; HAZEN, S. L. Gut microbiota in cardiovascular health and disease. **Circulation research**, v. 120, n. 7, p. 1183-1196, 2017.

TANG, W.H.W.; VAGELOS, R.H.; YEE, Y.G.; BENEDICT, C.R.; WILLSON, K.; LISS, C.L.; LABELLE, P.; FOWLER, M.B. Neurohormonal and clinical responses to high-versus low-dose enalapril therapy in chronic heart failure. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 39, p. 70–78. 2002.

TERASHIMA, M.; BABA, T.; IKEMOTO, N.; KATAYAMA, M.; MORIMOTO, T.; MATSUMURA, S. Novel angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides derived from boneless chicken leg meat. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 7432-7436. 2010.

TORAL, M.; ROBLES-VERA, I.; VISITACION, N.; ROMERO, M et al. Critical role of the interaction gut microbiota–sympathetic nervous system in the regulation of blood pressure. **Frontiers in Physiology**, v. 10, p. 231, 2019.

TSAFACK, P. B.; LI, C.; TSOPMO, A. Food Peptides, Gut Microbiota Modulation, and Antihypertensive Effects. **Molecules**, v. 27, n. 24, p. 8806, 2022.

VALLES-COLOMER, M.; FALONY, G.; DARZI, Y.; TIGCHELAAR, E. F.; WANG, J.; TITO, R. Y.; et al. The neuroactive potential of the human gut microbiota in quality of life and depression. **Nature microbiology**, v. 4, n. 4, p. 623-632, 2019.

VAN KATS, J.P.; DANSER, A.H.; VAN MEEGEN, J.; VERDOUW, P.D.; SCHALEKAMP, M.A. Angiotensin production by the heart: a quantitative study in pigs with the use of radiolabeled angiotensin infusions. **Circulation**, v. 98, p. 73–81, 1998.

VERDECCHIA, P.; ANGELI, F.; GENTILE, G.; REBOLDI, G. More versus less intensive blood pressure–lowering strategy: cumulative evidence and trial sequential analysis. **Hypertension**, v. 68, n. 3, p. 642-653, 2016.

VERMA, N.; RASTOGI, S.; CHIA, Y-C.; SIDDIQUE, S.; TURANA, Y.; CHENG, H.; SOGNURU, G.P.; TAY, J.C.; TEO, B.W.; WANG, T-D.; FAI, K.K. Non-pharmacological management of hypertension. **The Journal of Clinical Hypertension**, v. 23, n. 7, p. 1275-1283, 2021.

VERHAAR, B. J. H.; PRODAN, A.; NIEUWDORP, M.; MULLER, M. Gut microbiota in hypertension and atherosclerosis: a review. **Nutrients**, v. 12, n. 10, p. 2982, 2020.

WANG, S.; MARTINS, R.; SULLIVAN, M. C.; FRIEDMAN, E. S.; MISIC, A, M et al. Diet-induced remission in chronic enteropathy is associated with altered microbial community structure and synthesis of secondary bile acids. **Microbiome**, v. 7, n. 1, p. 1-20, 2019.

WEBER, M.A.; SCHIFFRIN, E.L.; WHITE, W.B. et al. Clinical practice guidelines for the management of hypertension in the community: a statement by the American Society of Hypertension and the International Society of Hypertension. **The Journal of Clinical Hypertens**, v.16, n. 1, p. 14-26, 2014.

WHITESIDE, S. A. et al. The microbiome of the urinary tract – a role beyond infection. **Nature Reviews Urology**, v.12, p. 81-90, 2015.

WHITHEMORE, J.C.; NYSTROM, M.R.; MAWBY, D.I. Effects of various factors on Doppler ultrasonographic measurements of radial and coccygeal arterial blood pressure in privately owned, conscious cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 250, n. 7, p. 763-769. 2017.

WOLNY, A.; CLOZEL, J.P.; REIN, J.; MORY, P.; VOGT, P.; TURINO, M.; KIOWSKI, W.; FISCHLI, W. Functional and biochemical analysis of angiotensin II-forming pathways in the human heart. **Circulation Research**, v. 80, p. 219–227. 1997.

WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. Guideline for the pharmacological treatment of hypertension in adults. **World Health Organization**, 2021.

XIE, D.; SHEN, Y.; SU, E.; DU, L.; XIE, J.; WEI, D. The effects of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide VGINYW and the hydrolysate of  $\alpha$ -lactalbumin on blood pressure, oxidative stress and gut microbiota of spontaneously hypertensive rats. **Food & Function**, v. 13, n. 5, p. 2743-2755, 2022.

XIONG, Y.; XIONG, Y.; ZHU, P.; WANG, Y.; YANG.; ZHOU, R.; SHU, Y.; ZHOU, H.; LI, Q. The role of gut microbiota in hypertension pathogenesis and the efficacy of antihypertensive drugs. **Current hypertension reports**, v. 23, p. 1-14, 2021.

YANG, T.; AQUINO, V.; LOBATON, G. O.; LI, H et al. Sustained captopril-induced reduction in blood pressure is associated with alterations in gut-brain axis in the spontaneously hypertensive rat. **Journal of the American Heart Association**, v. 8, n. 4, p. e010721, 2019.

YATSUNENKO, T.; REY, F. E.; MANARY, M. J.; TREHAN, I et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. **Nature**, v. 486, n. 7402, p. 222-227, 2012.

YOSHII, H.; TACHI, N.; OHBA, R.; SAKAMURA, O.; TAKEYAMA, H.; ITANI, T. Antihypertensive effect of ACE inhibitory oligopeptides from chicken egg yolks. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 128, n. 1, p. 27-33, 2001.

ZIMMERMANN, M.; KOGADEEVA, M. Z.; WEGMANN, R.; GOODMAN, A. L. Mapping human microbiome drug metabolism by gut bacteria and their genes. **Nature**, v. 570, n. 7762, p. 462-467, 2019

ZHANG, Y.; KOUGUCHI, T.; SHIMIZU, M.; OHMORI, T.; TAKAHATA, Y.; MORIMATSU, F. Chicken collagen hydrolysate protects rats from hypertension and cardiovascular damage. **Journal of Medicinal Food**, v. 13, n. 2, p. 399–405. 2010.

ZHANG, Z.; WAN, H.; HAN, J.; SUN, X.; YU, R.; LIU, B.; LU, C.; ZHOU, J.; SU, X. Ameliorative effect of tuna elastin peptides on AIA mice by regulating the composition of intestinal microorganisms and SCFAs. **Journal of Functional Foods**, v. 92, p. 105076, 2022.

ZUO, T.; NG, SIEW, C. N. G. The gut microbiota in the pathogenesis and therapeutics of inflammatory bowel disease. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 2247, 2018.



## **CAPÍTULO 3**

**Avaliação dos efeitos da proteína de frango hidrolisada sobre fatores cardíacos e microbiota retal em felinos idosos e obesos**

### **3. AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA PROTEÍNA DE FRANGO HIDROLISADA SOBRE VARIÁVEIS PRESSÓRICAS E MICROBIOTA RETAL EM GATOS IDOSOS E OBESOS**

#### **3.1 RESUMO**

O efeito nocivo dos níveis elevados da pressão arterial sistólica (PAS) está relacionado a injúrias teciduais em órgãos adjacentes, como cérebro, coração, olhos e rins. Desta forma, o tratamento da hipertensão arterial sistêmica (HAS) tem por objetivo a manutenção dos valores de pressão arterial (PA). Com o propósito de controlar a PAS e reduzir os desafios enfrentados pelo tratamento medicamentoso, peptídeos bioativos vêm sendo estudados no âmbito terapêutico da hipertensão. Dentre eles, destaca-se os peptídeos dietéticos da proteína de aves, que possuem potencial de inibir a atividade da enzima conversora de angiotensina (ECA), além de influenciar para composição de uma microbiota intestinal benéfica e anti-hipertensiva. O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos da inclusão de 12,00% de farinha de vísceras de frango hidrolisada enzimaticamente (FVHE-c) na dieta de gatos idosos e obesos, em variáveis pressóricas e microbiota retal. Foram selecionados 16 gatos, machos e fêmeas, SRD, idosos e obesos, sem outras comorbidades. Duas dietas foram formuladas: Dieta controle [(DC), com inclusão de 30,80% de farinha de vísceras de frango processada de forma convencional (FVA-c)] e dieta experimental: [(DE), com inclusão de com inclusão de 12,00% de FVHE-c]. Os animais foram divididos em dois grupos: Grupo controle [(GC), alimentados com DC] e grupo experimental [(GE), alimentados com DT]. Todos os animais foram alimentados por 30 dias (T0) com uma dieta de padronização e depois por 45 dias (T45) com uma dieta controle (DC) ou experimental (DE). Foram determinados os valores da PAS, concentrações séricas de aldosterona (ALD), teste da atividade da enzima conversora de angiotensina I (ECA I) e microbiota retal. Todos os resultados foram avaliados com base na investigação dos efeitos individuais e associados à dieta em teste. Os dados obtidos foram analisados por meio do *software* computacional *Statistical Analysis System* (SAS, versão 9.4) e valores de  $P < 0,05$  foram considerados significativos. As correlações entre microbiota e demais variáveis foram realizadas com o procedimento PROC CORR. Não foram observadas diferenças nos valores clínicos de PAS, concentrações séricas de ALD e no teste de atividade da ECA I. Foi observado efeito

principal de tratamento (T0 x T45) para oito filos (Actinobacteria, Bacteroidetes, Campylobacterota, Cyanobacteria, Desulfobacterota, Firmicutes, Fusobacteria e Proteobacteria), 30 famílias e 12 gêneros principais para gatos. A inclusão de 12,00% de FVHE-c não foi eficiente em reduzir aos valores da PAS clínica, concentrações séricas de ALD e da atividade da ECA I. A microbiota retal de gatos obesos e idosos não diferiu mediante ao consumo da FVA-c ou FVHE-c. Porém, a inclusão foi efetiva em modular a microbiota retal desses animais.

**Palavras-chave:** felinos, pressão arterial, enzima conversora de angiotensina, microbioma, nutrição, peptídeos.

### 3.2 INTRODUÇÃO

A hipertensão arterial é frequentemente diagnosticada em gatos idosos e/ou com comorbidades, como doença renal crônica, hipertireoidismo e cardiomiopatia dilatada (GEDDES, 2020). Independente da causa, pacientes hipertensos apresentam risco de lesões teciduais a órgãos adjacentes (ACIERNO et al., 2018). Estes danos ocorrem em virtude da maior resistência vascular sistêmica, aumento no fluxo sanguíneo arteriolar e perda dos mecanismos regulatórios (BARROSO et al., 2022). Desta maneira, o tratamento tem por objetivo não somente controlar os valores pressóricos, mas evitar tais injúrias teciduais em olhos, cérebro, rins e coração (ACIERNO et al., 2018). Para felinos, a terapia medicamentosa anti-hipertensiva baseia-se no uso do besilato de amlodipina, um bloqueador dos canais de cálcio (GEDDES et al., 2020). Porém, assim como observado nos seres humanos, gatos hipertensos estão sujeitos ao aumento da dose do medicamento e introdução de outros fármacos anti-hipertensivos, sem que haja perspectiva de aumento no tempo de sobrevivência do paciente (JEPSON et al., 2007; GEDDES, 2020). Isto se deve ao aumento da ativação do SRAA sistêmico ou intrarrenal que confere resistência ao tratamento medicamentoso e permite a manutenção dos níveis elevados da PA (JEPSON et al., 2014).

Desta forma, novas alternativas não medicamentosas são necessárias para controlar o SRAA. E assim, os peptídeos surgem como uma alternativa para o controle dos níveis da PA (LEE; HUR, 2017). Estas moléculas desempenham diversas funções no organismo, uma vez que se interligam a receptores do organismo e são capazes de inibir a atividade da ECA (MARTÍNEZ-MAQUEDA et al., 2012). Além disso, estes peptídeos possuem impacto sobre a microbiota intestinal e influenciam no estado de eubiose (ALBRACHT-SCHULTE et al., 2021). Atenta-se para a redução da hipertensão arterial associada à redução na disbiose da microbiota intestinal (DALIRI et al., 2020). Em paralelo ao efeito inibitório da ECA, estas moléculas seriam capazes de modular e reequilibrar a microbiota intestinal e, assim, reduziriam o estresse oxidativo e inflamação do organismo e desempenhariam efeito anti-hipertensivo (AGARKOVA et al., 2019).

### 3.3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.3.1. Local

O estudo foi desenvolvido nas dependências do Centro de Pesquisa em Nutrologia de Cães e Gatos (CEPEN Pet), do Departamento de Nutrição e Produção Animal – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ/USP), localizado no Campus Fernando Costa, em Pirassununga, São Paulo.

#### 3.3.2. Animais e dietas experimentais

Este estudo foi realizado após a aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ), sob o número de protocolo 8609280422. Foram utilizados 16 gatos, machos e fêmeas, sem raça definida, castrados, com idade entre 9 e 12 anos, em escore de condição corporal (ECC) entre 8 e 9 (LAFLAMME, 1997), clinicamente saudáveis, desverminados e vacinados, sem comorbidades associadas.

A higiene dos animais foi avaliada previamente por meio de exames físico, hemograma e bioquímicos para avaliação das enzimas hepáticas, ureia e creatinina. As amostras de sangue para realização de hemograma foram armazenadas em tubos BD Vacutainer® com EDTA e as análises foram realizadas por meio de equipamento hematológico automático BC2800Vet (Mindray, China), método *May-Grunwald-Giemsa* modificado e refratometria (Refratômetro portátil – Quimis, Brasil) para obtenção da proteína plasmática total. Ademais, para os exames bioquímicos, as amostras de sangue foram armazenadas em tubos BD Vacutainer® com ativador de coágulo e, na sequência, a determinação realizada com uso de espectrofotômetro automático BS120 (Mindray, China) e kits comerciais Labtest. Foram incluídos no estudo somente animais cujos resultados destes parâmetros se encontraram dentro da normalidade, considerando o intervalo de referência para a espécie. Foram descartadas comorbidades que poderiam resultar em obesidade para que assim, 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 gatos utilizados foram provindos de tutores, os quais foram selecionados por meio das redes

sociais. Durante todo o período experimental, os gatos foram mantidos em seus domicílios e manejados por seus tutores.

Para confecção das dietas experimentais foram utilizadas duas farinhas comerciais fornecidas pela Grandfood Indústria e Comércio Ltda. Premierpet®, sendo uma delas hidrolisada por método enzimático (FVHE-c) e outra processada de maneira convencional (FVA-c). Ambas as farinhas foram processadas por meio do uso de matérias-primas semelhantes, porém, em distintas condições industriais. Desta forma, foram formuladas duas rações isonutritivas (Tabela 1) com base nas recomendações nutricionais da FEDIAF (2021) para gatos adultos, sendo elas:

- Dieta Controle (DC): com inclusão de 30,80% de FVA-c;
- Dieta Experimental (DE): com inclusão de 12,00% de FVHE-c.

A necessidade energética de manutenção (NEM) de gatos obesos foi determinada pela equação:  $130 \times (PC)^{0,4}$  (NRC, 2006). Com o resultado deste cálculo foi possível determinar a quantidade de alimento a ser fornecida diariamente, ao dividi-lo pela energia metabolizável das dietas de padronização, controle e teste. A dieta foi oferecida três vezes ao dia pelos tutores, mediante pote medida fornecido para o estudo com quantidade de pesada e devidamente marcada no recipiente medidor por 30 dias durante a padronização e 44 dias durante o período experimental. Em casos em que o animal não ingeriu no mínimo 70% da quantidade fornecida do alimento, o mesmo foi retirado do estudo, conforme informações repassadas pelos tutores.

Tabela 1 - Composição em ingredientes (%) e composição química (%) dos alimentos experimentais

Ingredientes	Dietas	
	Controle (FVA-c)	Experimental (FVHE-c)
Farinha de vísceras convencional (FVA-c)	30,80	17,07
Farinha de vísceras hidrolisada (FVHE-c)	-	12,00
Glúten de milho (60% proteína)	14,00	14,00
Quirera de arroz	36,50	36,86
Polpa de beterraba	5,00	5,00
Palatabilizante em pó	1,00	1,00
Óleo de vísceras de frango	9,18	10,68
Óleo de peixe	0,50	0,50
Cloreto de potássio	0,85	0,83
Cloreto de sódio (sal comum)	0,30	0,30

Aditivo Acidificante	0,70	0,70
Taurina	0,12	0,12
Premix de minerais e vitaminas <sup>†</sup>	0,76	0,65
DL Metionina 99%	0,21	0,21
Antioxidante sintético <sup>‡</sup>	0,08	0,08

#### Composição química analisada (na MS)

Proteína bruta, %	33,00	33,00
Extrato etéreo em hidrólise ácida %	15,00	15,00
Extrativos não-nitrogenados	34,03	34,31
Matéria mineral, %	5,83	4,79
FIBRA bruta %	1,40	1,40
Cálcio	1,09	0,75
Fósforo	0,91	0,67
Energia bruta, kcal/kg	4.203	4.203

<sup>†</sup>Composição do Premix Mineral Vitamínico: Vitamina A: 38000UI/kg, Vitamina B1: 38,27mg/kg, Vitamina B12: 4800mcg/kg, Vitamina B2: 19,63mg/kg, Vitamina B6: 27,87mg/kg, Vitamina D3: 171000UI/kg, Vitamina E: 535,250mg/kg, Vitamina K: 2,38mg/kg, Ácido Pantotênico: 49,290mg/kg, Ácido Fólico: 2,480mg/kg, B.H.T.: 5000mg/kg, Biotina: 1,52mg/kg, Cobre: 14,84mg/kg, Colina: 5,157g/kg, Ferro: 168,87mg/kg, Iodo: 1,87mg/kg, Manganês: 17,41mg/kg, Niacina: 109,50mg/kg, Selênio: 0,5mg/kg, Zinco: 167,45mg/kg. <sup>‡</sup>Composição do Antioxidante: BHT: 100g/kg, Ácido cítrico: 35g/kg, BHA:10g/kg

Fonte: Príncipe (2023)

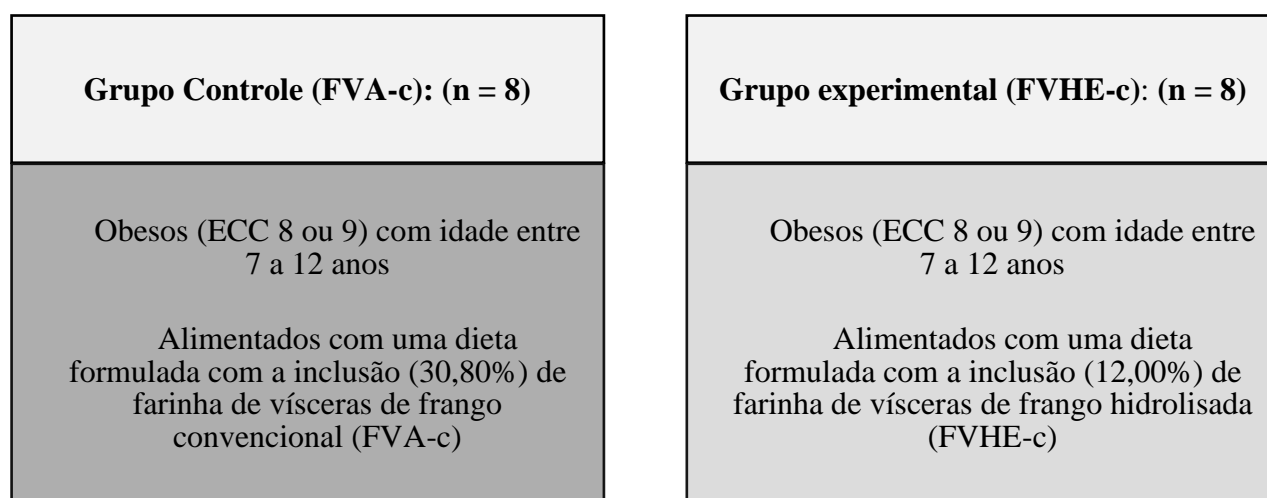
A quantidade de alimento foi reajustada a cada quinze dias, após pesagem dos animais e avaliação do ECC considerando a escala de 9 pontos descrita por Laflamme (1997) e, e score de massa muscular (EMM) de acordo com a escala de 4 pontos descrita por Michel et al. (2011). Em casos de ganho ou perda de peso suficientes para aumentar ou diminuir pontos na escala de ECC, a quantidade de alimento fornecida foi reajustada para que o animal se mantivesse em ECC obeso (8 ou 9).

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, ou seja, os animais foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos experimentais (Figura 1), os quais passaram por tratamentos distintos que ocorreram simultaneamente. Os tratamentos foram:

- Grupo Controle (GC): Alimentação com uma dieta formulada com a inclusão FVA-c;
- Grupo Experimental (GE): Alimentação com uma dieta formulada com a inclusão de FVHE-c.

Após o período inicial de padronização, uma nova colheita de sangue foi realizada, entretanto desta vez, para a realização das análises iniciais do estudo (T0) das concentrações séricas do hormônio aldosterona, mensuração da pressão arterial e microbiota fecal foram realizadas. Em seguida, iniciou-se o experimento, o qual teve duração de 44 dias, sendo seguido de um dia (T45) para repetição das colheitas (Figura 2).

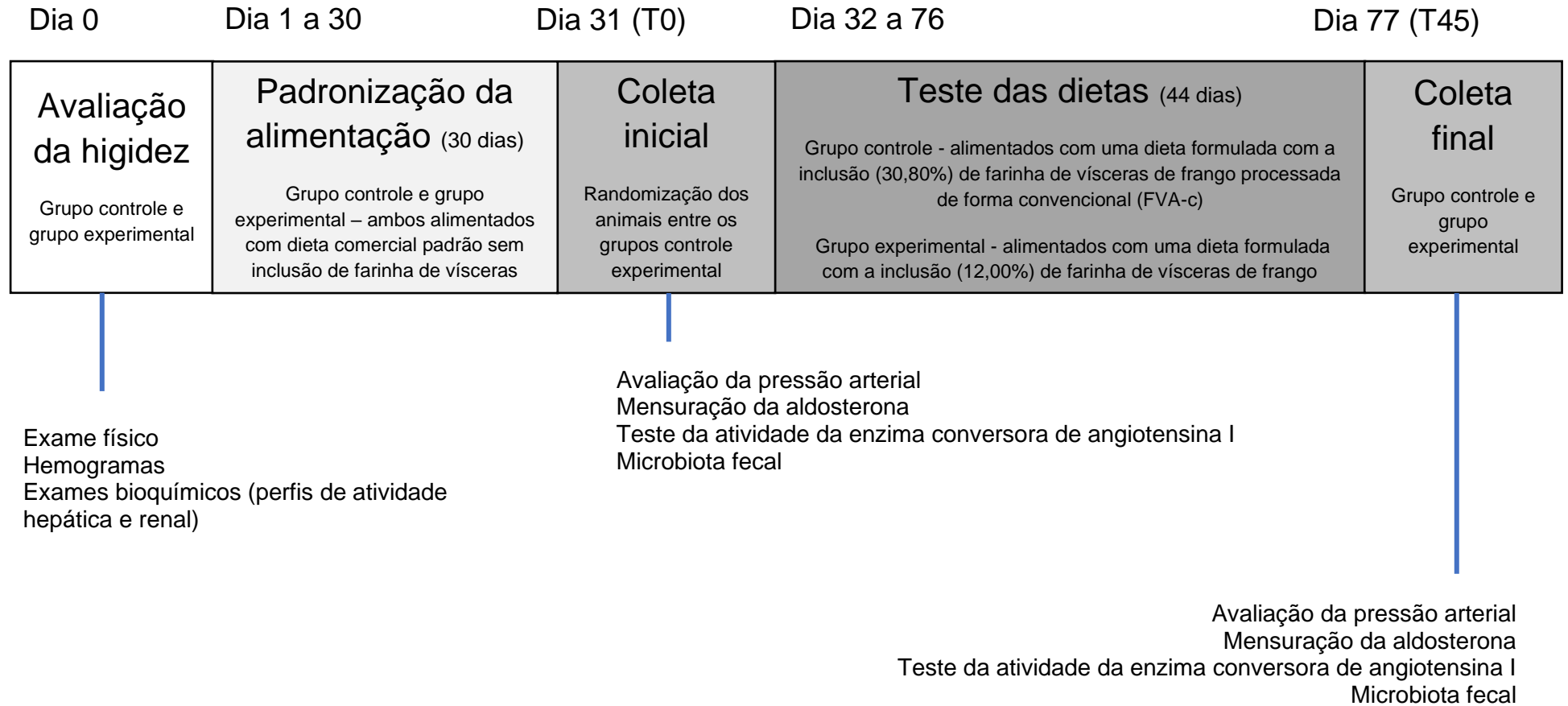
Figura 1. Grupos experimentais composto por animais idosos (entre 7 a 12 anos) e obesos (ECC= 8 e 9/9).



Fonte: Príncipe (2024)



Figura 2. Etapas experimentais



Fonte: Príncipe (2024)

### 3.3.5. Mensuração da pressão arterial

A mensuração da pressão arterial dos gatos foi realizada pelo método doppler vascular. O animal foi posicionado em decúbito lateral direito e o manguito, adequado ao porte do paciente, foi colocado no membro anterior esquerdo na porção médio-distal de rádio e ulna. Realizou-se a tricotomia da região palmar metacarpal acima do coxim onde o pulso pode ser palpado. Utilizou-se gel na região para que seja inserido o transdutor. Com o doppler vascular portátil, foi possível identificar os sinais de pulso na região. Assim que o som permaneceu estável, o manguito foi inflado pelo esfigmomanômetro até que o pulso seja interrompido (aproximadamente 200mmHg) e, em seguida, desinflado lentamente. A pressão arterial sistólica (PAS) foi determinada no momento em que o sinal do pulso se tornar audível novamente (CABRAL et al., 2010).

### 3.3.6 Mensuração da aldosterona

Para as avaliações inicial e final da aldosterona foi coletado 2mL de sangue para análise, por punção da veia jugular ou cefálica, o sangue coletado foi colocado em tubos de 5mL (BD Vacutainer, São Paulo, SP, Brasil), com gel ativador de coágulo. Para análise de aldosterona, as amostras ficaram em repouso por 2 horas em temperatura ambiente para perfeita coagulação antes da centrifugação por 15 minutos a 1.000xg (ou 3.00 rpm) a 2~8°C. O soro sobrenadante foi transferido para tubos plásticos rotulados e armazenado a -80°C, até a análise. A mensuração da aldosterona foi realizada com o kit *Aldosterone ELISA Kit* fornecido pelo Laboratório Especializado em Análises Científicas (LEAC) em São Paulo, SP, devidamente validado para a espécie. As determinações foram realizadas no mesmo laboratório.

### 3.3.7 Teste da atividade da enzima conversora de angiotensina I (ECA I)

Para as avaliações inicial e final da atividade da enzima conversora de angiotensina I (ECA), foi coletado 2mL de sangue por punção da veia jugular ou cefálica, o sangue coletado foi colocado em tubos de 5mL (BD Vacutainer, São Paulo, SP, Brasil), com gel ativador de coágulo. As amostras foram centrifugadas por 20 minutos a 1000xg (ou 3.000 rpm) a 4°C em até 30 minutos após a coleta; o soro

sobrenadante foi transferido para tubos plásticos rotulados e armazenado a  $-80^{\circ}\text{C}$ , até a análise.

A atividade sérica da ECA foi mensurada pelo método fluorimétrico reportado por Yang e Neff (1972), com algumas modificações. Em síntese, amostras de soro em triplicata (10 $\mu\text{L}$ ) foram incubadas por 30min a  $37^{\circ}\text{C}$  com 490 $\mu\text{L}$  de ECA e solução 5mM Hipuril-histidil-leucina tamponado. Então, 1,2mL de 0.34 N NaOH foi adicionado para interromper a reação. 100 $\mu\text{L}$  de 2% o-phtaldialdeído em metanol foi adicionado à solução e incubado por 10 minutos. A reação foi interrompida para adição de 200 $\mu\text{L}$  de 3 N HCl. Os tubos foram centrifugados a 3000rpm por 10 min. O sobrenadante foi lido por espectrofotômetro (Shimadzu, RF-1501, Kyoto, JP) usando comprimento de onda de excitação de 365nm e 495nm de emissão. A atividade da ECA I foi expressa em unidade de atividade enzimática por litro de soro (U/l). Essas determinações foram realizadas no Laboratório Especializado em Análises Científicas (LEAC) em São Paulo, SP.

### 3.3.8 Análise de microbiota

Para as análises de microbiota, foram coletadas amostras via *swab* retal estéril com meio de cultura *stuart*. Posteriormente, o *swab* foi armazenado e congelado em freezer  $-80^{\circ}\text{C}$ , segundo metodologia adaptada de Kierler et al (2016). As amostras foram enviadas ao Laboratório de Oncologia Comparada e Translacional (LOCT/ZMV) da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (FZEA/USP), localizado em Pirassununga, São Paulo.

A extração de DNA genômico das bactérias foi realizada usando o kit PureLink™ Microbiome DNA Purification (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, EUA) seguindo as instruções do fabricante. A qualidade do DNA extraído foi avaliada em espectrofotômetro Nanodrop One/One (Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, EUA) e eletroforese em gel de agarose.

Os dados da sequência do DNA foram gerados usando a plataforma de sequenciamento Illumina iSeq com leituras paired-end de  $2 \times 150$  pb. A preparação da biblioteca foi realizada de acordo com as recomendações da Illumina envolvendo duas PCRs, duas etapas de purificação, dois géis de agarose, quantificação, normalização, multiplexação e desnaturação da biblioteca. A primeira PCR foi realizada para amplificação da região V4 de  $\sim 291$ pb entre 515pb (5'-

GTGYCAGCMGCCGCGGTAA-3') e 806pb (5'-GGACTACNVGGGTWTCTAAT-3'). As beads MagBio HighPrep PCR foram utilizadas para purificação, e os fragmentos gerados foram avaliados por eletroforese em gel de agarose. A segunda PCR foi realizada com o kit Nextera XT V2 para indexação das amostras, seguida de purificação, verificação do tamanho da biblioteca (pb) pela tecnologia Agilent Bioanalyzer e quantificação usando um método baseado em fluorometria (Qubit dsDNA HS Assay – Life Technologies). Os fragmentos foram reunidos em proporções equimolares para realizar o sequenciamento, e um controle heterogêneo, fago Phix, foi combinado ao pool das amostras.

Após a obtenção dos dados, as leituras das sequências foram pré-processadas usando dbcAmplicons versão 0.9.0 para remover primers, adaptadores e leituras de baixa qualidade. Em seguida, as leituras diretas e reversa não mescladas foram importadas para o software R, e Amplicon Sequencing Variants (ASVs) foram determinadas seguindo o pipeline de análise DADA2. As sequências agrupadas de prevalência e abundância total foram comparadas usando o banco de dados de referência Silva rRNA (Quast et al., 2012). Para fins de análise, a abundância relativa dos ASVs foi calculada dividindo as contagens de cada táxon pelo número total de contagens para uma determinada amostra. A diversidade alfa foi obtida e medida como Chao1, Simpson, Shannon. A diversidade beta foi realizada utilizando Análise de Coordenadas Principais (PCoA) na matriz de distância com dissimilaridade de Bray-Curtis na distância Unifrac ponderada. As análises da diversidade da microbiota foram realizadas utilizando o pacote Phyloseq Bioconductor (McMurdie e Holmes, 2013), pacote Vegan R, pacote Phangorn R e pacote Decipher Bioconductor (Wright, 2016).

### 3.3.9 Análise estatística

Todos os resultados encontrados por este estudo foram avaliados com base na investigação dos efeitos individuais e associados à dieta em teste. Para avaliação das variáveis quantitativas, foi considerado um modelo linear misto geral que contemplou os efeitos fixos de tratamento (DC e DE), tempo (T0 e T45), interação tratamento x tempo, além dos efeitos aleatórios de animal e resíduo. Nestas análises foram adotadas a estrutura de medidas repetidas nas mesmas unidades experimentais (os mesmos animais foram avaliados em dois momentos diferentes).

As estruturas de covariância entre as medidas repetidas foram avaliadas pelo critério de informação de Akaike (AKAIKE,1974). As pressuposições dos modelos de análise de variância (normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias) foram realizadas simultaneamente por meio de análises de resíduos condicionais *studentizados*. As análises foram realizadas por meio dos procedimentos PROC MIXED e GLIMMIX do programa *Statistical Analysis System*, versão 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA). As correlações entre microbiota e demais variáveis foram realizadas com o procedimento PROC CORR e valores de  $P < 0,05$  foram considerados significativos.

### 3.4 RESULTADOS

Ao longo da execução do experimento, todos os animais permaneceram sadios e não foram relatados episódios de manifestações clínicas que comprometessem a participação desses no estudo. Ao final do projeto, oito animais compuseram cada um dos dois grupos experimentais. Os animais mantiveram o PC e ECC durante o período experimental (Tabela 2). Portanto, não foi necessária a exclusão de nenhum animal neste estudo. Em relação à determinação da mensuração de pressão arterial, os valores clínicos apontaram que não houve efeito de interação para os valores de PAS, concentrações séricas de ALD e no teste de atividade da ECA I (Tabela 3).

Tabela 2. Principais variáveis: idade, peso, ECC, EMM, CA

Variáveis		Período			P		
		T0	T45	EPM	TRAT	PER	TRAT*PER
Idade	Controle	8,43	8,43	0,69	0,4135	1,00000	1,00000
	Teste	7,89	7,89	0,61			
Peso	Controle	5,8	5,96	0,29	0,351	0,61480	0,94970
	Teste	6,08	6,2	0,26			
ECC	Controle	8,71	8,71	0,19	0,1493	1,00000	1,00000
	Teste	8,44	8,44	0,17			
EMM	Controle	2,71	2,17	0,19	0,7891	1,00000	1,00000
	Teste	2,67	2,67	0,17			
CA	Controle	61,96	61,96	1,26	0,0756	1,00000	1,00000
	Teste	64,15	64,15	1,11			

**Fonte:** Príncipe (2024)

Legenda: ECC = escore de condição corporal; EMM = escore de massa muscular; EPM = erro padrão da média; CA = consumo de alimento; TRAT = tratamento; PER = tempo; TRAT\*PER: interação tratamento período

Tabela 3. Resultados das variáveis pressóricas (PAS, ALD e ECA I)

Variáveis		Período			P		
		T0	T45	EPM	TRAT	PER	TRAT*PER
PAS	Controle	135,00	137,14	5,27	0,4130	0,9621	0,7042
	Teste	132,78	131,11	4,64			
ALD	Controle	963,4	1129,83	289,15	0,1469	0,8753	0,6546
	Teste	1493,41	1493,31	255			
ECA I	Controle	26,85	25,8	2,86	0,1906	0,9099	0,7843
	Teste	22,5	22,94	2,52			

Fonte: Príncipe (2024)

Legenda: TRAT = tratamento; PER = tempo; TRAT\*PER: interação tratamento tempo; PAS = pressão arterial sistêmica; ALD = aldosterona e ECA I = enzima conversora de angiotensina I

Dentre os resultados obtidos por meio do sequenciamento da microbiota fecal, as 32 amostras (oito amostras do GC no T0, oito amostras do GC no T45, oito amostras do GE no T0 e oito amostras no GE no T45) apresentaram mais de 10.000 leituras sequenciadas. A análise classificou 1.414 ASVs para o nível de reino; 1.365 para filo; 1.344 para classe; 1.312 para ordem; 1.237 para família, 977 para gênero, e 4 para espécie (Figura 3).

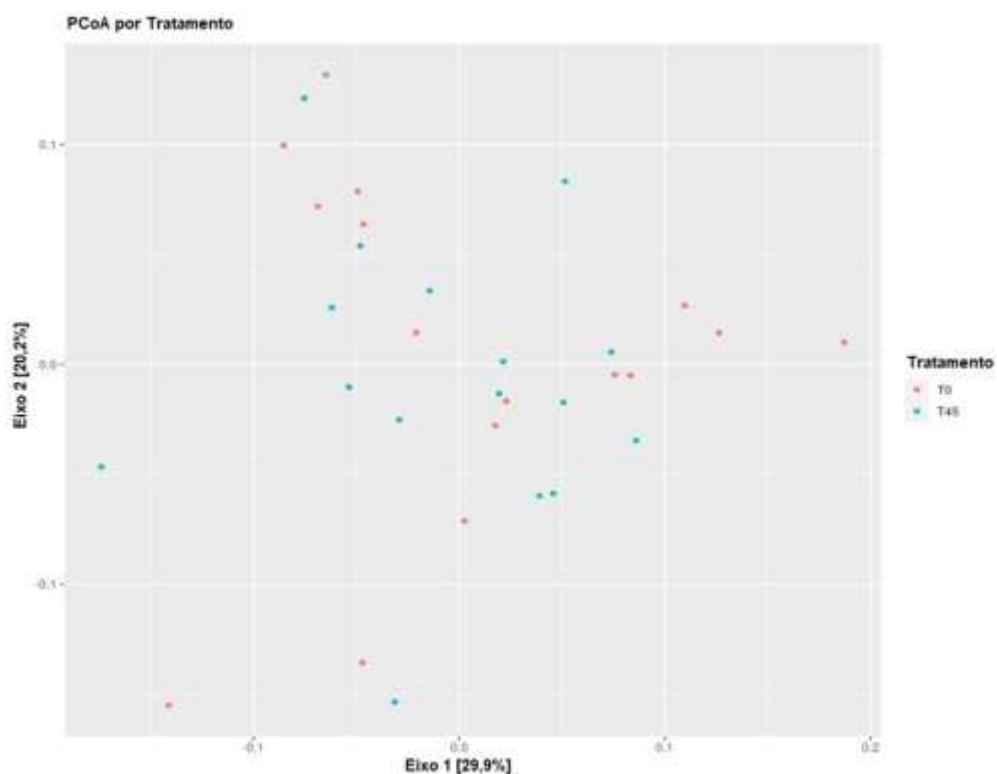
Figura 3. *Amplicon sequence variants* (ASVs) identificadas por nível taxonômico em cada tratamento



Fonte: Príncipe (2024)

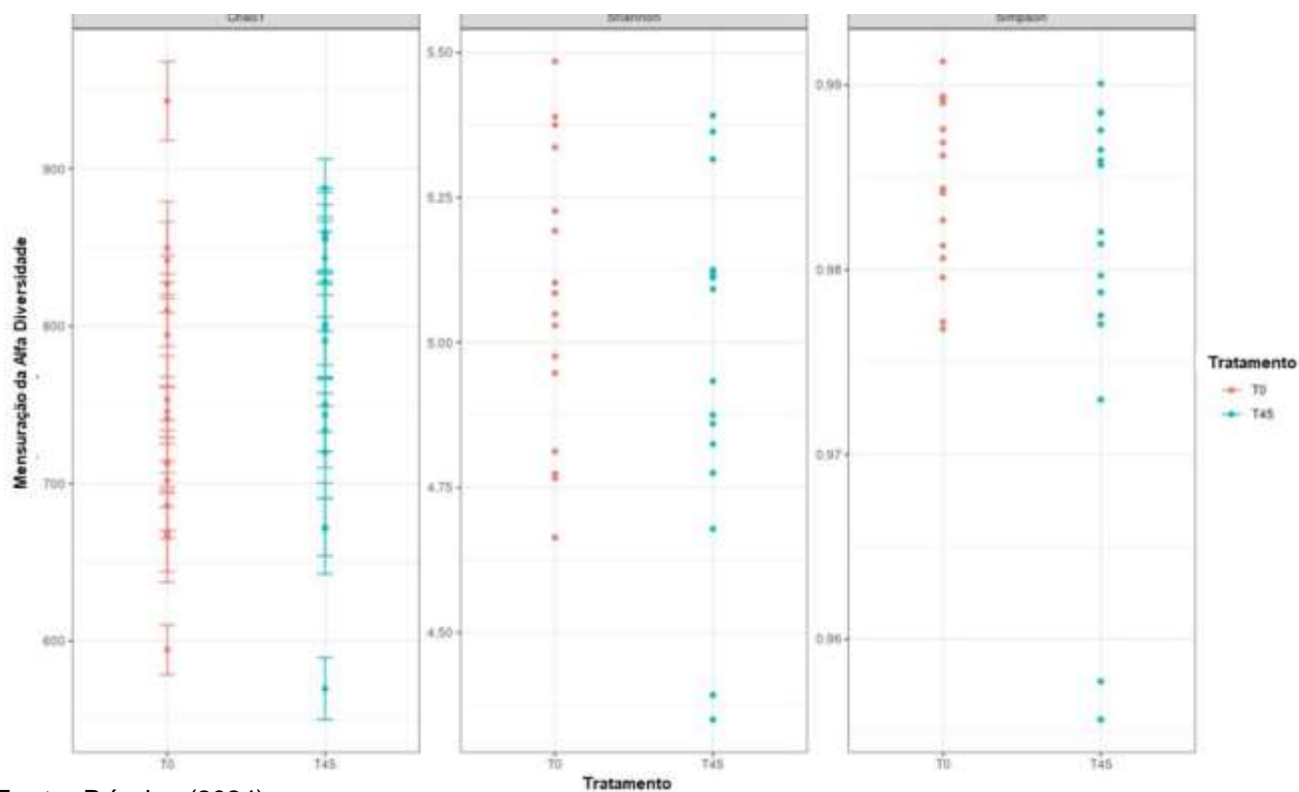
A partir dos índices de diversidade alfa avaliados neste estudo, foram encontradas alta diversidade da microbiota por meio dos índices de Shannon ( $5,02 \pm 0,28$ ) e Simpson ( $0,98 \pm 0,01$ ), e boa abundância através do índice de Chao1 ( $764,94 \pm 85,95$ ) para as amostras individuais para ambos os grupos (KIM et al., 2017) (Figura 4). A diversidade beta foi avaliada pelo gráfico de escala métrica multidimensional (MDS) mostrando a distância UniFrac ponderada, com intuito de determinar as diferenças na composição e estrutura da comunidade microbiana. A Figura 5 demonstra que a microbiota não foi influenciada pelo tratamento. A análise taxonômica mostrou que as comunidades bacterianas foram dominadas por *Actinobacteriota*, *Bacteroidota*, *Campylobacterota*, *Cyanobacteria*, *Deferibacterota*, *Desulfobacterota*, *Firmicutes*, *Fusobacteriota*, *Proteobacteria*, *Spirochaetota* a nível de Filo (Figura 6).

Figura 4. Gráfico da escala métrica multidimensional (MDS) da comunidade bacteriana para tratamentos. A diversidade beta foi calculada usando distâncias UniFrac ponderadas



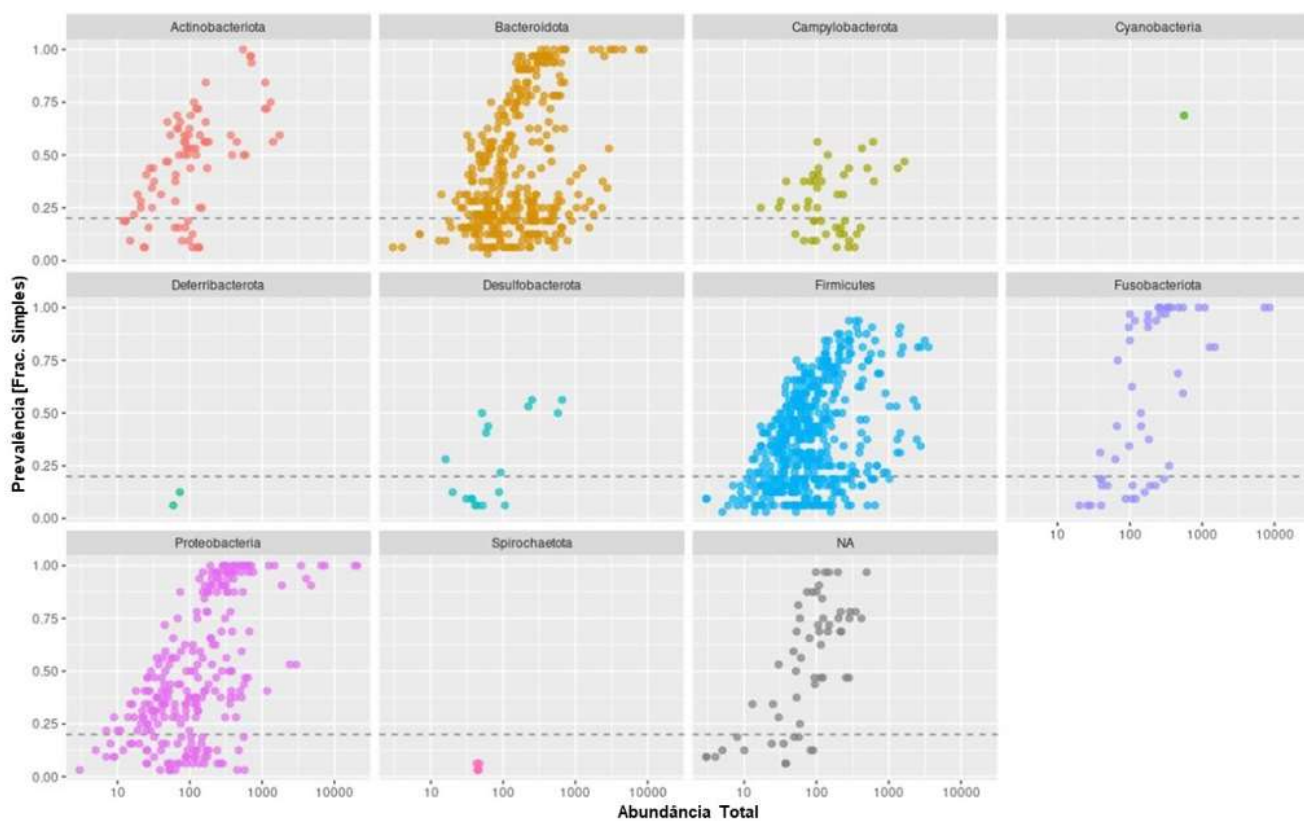
Fonte: Príncipe (2024)

Figura 6. Análises de diversidade Alpha. Shannon-Weiner, Simpson, e Chao1 foram realizados para avaliar a diversidade alfa na comunidade microbiana



Fonte: Príncipe (2024)

Figura 5. Principais filos identificados na amostra



Fonte: Príncipe (2024)



As comparações dos táxons entre os efeitos de tempo (T0 x T45) e de tratamento (GC x GE) foram realizadas quando os táxons referentes foram representados e todos os grupos, de modo que oito filos, 30 famílias e 76 gêneros tiveram valores válidos para análise estatística.

Não foi observado efeito principal de tratamento (entre os grupos GC x GE) para nenhum dos táxons estudados. Houve efeito principal de tempo (T0 x T45) para os filos Actinobacteria, Bacteroidetes, Campylobacterota, Cyanobacteria, Desulfobacterota, Firmicutes, Fusobacteria e Proteobacteria (Tabela 3).

Tabela 4. Estimativas de médias e erros padrão das abundâncias relativas dos filos observados no estudo

Filos		Dias do estudo		P	TRAT	PER	TRAT*PER
		T0	T45				
		Média	Média				
Actinobacteriota	Controle	5,68±1,15 <sup>A</sup>	4,1±0,84 <sup>B</sup>	0,204	<0,0001	<0,0001	
	Teste	3,15±0,58 <sup>B</sup>	3,57±0,65 <sup>A</sup>				
Bacteroidota	Controle	25,15±2,09 <sup>B</sup>	26,77±2,18 <sup>A</sup>	0,0398	<0,0001	0,0272	
	Teste	32,27±2,14 <sup>B</sup>	33,54±2,19 <sup>A</sup>				
Campylobacterota	Controle	2,44±1,64 <sup>B</sup>	2,88±1,93 <sup>A</sup>	0,0912	<0,0001	<0,0001	
	Teste	0,7±0,43 <sup>A</sup>	0,36±0,22 <sup>B</sup>				
Firmicutes	Controle	30,84±3,08 <sup>A</sup>	20,62±2,36 <sup>B</sup>	0,1967	<0,0001	<0,0001	
	Teste	24,56±2,36 <sup>A</sup>	17,43±1,83 <sup>B</sup>				
Fusobacteriota	Controle	6,71±0,97 <sup>B</sup>	8,46±1,2 <sup>A</sup>	0,1907	<0,0001	<0,0001	
	Teste	6,00±0,77 <sup>A</sup>	5,58±0,72 <sup>B</sup>				
Proteobacteria	Controle	24,20±2,12 <sup>B</sup>	32,69±2,54 <sup>A</sup>	0,7248	<0,0001	0,001	
	Teste	25,66±1,94 <sup>B</sup>	33,41±2,26 <sup>A</sup>				

Fonte: Príncipe (2024)

Legenda: T0 = dia zero; T45 = dia 45; TRAT = tratamento; PER = tempo; TRAT\*PER = interação tratamento x tempo

<sup>A-B</sup> Médias seguidas de letras diferentes nas linhas se diferenciam em 5% no teste de Tukey-Kramer ajustado pelo Proc Mixed

Em relação as famílias, foi observado efeito principal de tratamento (T0 x T45) para os grupos bacterianos pertencentes as famílias: *Actinomycetaceae*, *Aerovoracaceae*, *Atopobiaceae*, *Bacteroidaceae*, *Bifidobacteriaceae*, *Butyricicoccaceae*, *Campylobacteraceae*, *Clostridiaceae*, *Coriobacteriaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Enterococcaceae*, *Erysipelotrichaceae*, *Family XI*, *Fusobacteriaceae*, *Helicobacteraceae*, *Lachnospiraceae*, *Marinifilaceae*, *Mitochondria*, *Oscillospiraceae*, *Pasteurellaceae*, *Peptococcaceae*, *Porphyromodaceae*, *Prevotellaceae*, *Rikenellaceae*, *Selenomodaceae*,

*Staphylococcaceae*, *Succinivibrionaceae*, *Sutterellaceae*, *Tannerellaceae* e *Veillonellaceae* (Tabela 4). Não foi observado efeito principal de consumo da dieta (entre os grupos GC x GE) e efeito de interação (tratamento x tempo;  $P < 0,0001$ ) para as famílias encontradas.

Tabela 4. Estimativas de médias e erros padrão das abundâncias relativas das famílias observadas no estudo

Famílias		Dias de estudo																																																																																																																																																										
		T0		T45		P																																																																																																																																																						
		Média	Média	TRA T	PER	TRAT*PE R																																																																																																																																																						
<b><i>Actinomycetaceae</i></b>	Controle	3,274±0,7724 <sup>A</sup>	1,993±0,4768 <sup>B</sup>	7,71	96,63	341,95	<0,0001																																																																																																																																																					
	Teste	0,9739±0,2083 <sup>B</sup>	1,136±0,2423 <sup>A</sup>					<b><i>Aerovoracaceae</i></b>	Controle	0,47±0,2905 <sup>A</sup>	0,3185±0,19572 <sup>B</sup>	0,24	400,51	16,25	0,0014	Teste	0,3464±0,1904 <sup>A</sup>	0,1927±0,1061 <sup>B</sup>	<b><i>Atopobiaceae</i></b>	Controle	0,0749±0,542 <sup>A</sup>	0,0079±0,0059 <sup>B</sup>	0,21	104,38	52,71	<0,0001	Teste	0,0456±0,0289 <sup>A</sup>	0,0312±0,0197 <sup>B</sup>	<b><i>Bacteroidaceae</i></b>	Controle	15,36±2,806 <sup>A</sup>	14,79±2,721 <sup>B</sup>	0,00	18,55	117,79	0,0007	Teste	14,19±2,318 <sup>B</sup>	15,48±2,49 <sup>A</sup>	<b><i>Bifidobacteriaceae</i></b>	Controle	0,0446±0,0197 <sup>A</sup>	0,0199±0,088 <sup>B</sup>	1,11	10,70	12,70	0,0136	Teste	0,0581±0,0289 <sup>A</sup>	0,0603±0,297 <sup>A</sup>	<b><i>Butyricocccaceae</i></b>	Controle	0,2242±0,0761 <sup>A</sup>	0,0891±0,307 <sup>B</sup>	0,10	51,90	74,71	<0,0001	Teste	0,1179±0,0358 <sup>A</sup>	0,1282±0,0388 <sup>A</sup>	<b><i>Campylobacteraceae</i></b>	Controle	0,9311±0,6923 <sup>B</sup>	1,099±0,8158 <sup>A</sup>	3,89	58,03	184,98	<0,0001	Teste	0,2007±0,1249 <sup>A</sup>	0,1108±0,691 <sup>B</sup>	<b><i>Clostridiaceae</i></b>	Controle	0,025±0,0161 <sup>A</sup>	0,0364±0,0234 <sup>A</sup>	0,40	23,83	40,60	0,0164	Teste	0,0667±0,0464 <sup>A</sup>	0,0041±0,0032 <sup>B</sup>	<b><i>Coriobacteriaceae</i></b>	Controle	1,555±0,3638 <sup>A</sup>	1,499±0,3508 <sup>A</sup>	0,22	25,34	48,36	0,0002	Teste	1,176±0,2439 <sup>B</sup>	1,478±0,3053 <sup>A</sup>	<b><i>Enterobacteriaceae</i></b>	Controle	14,21±2,232 <sup>B</sup>	21,97±3,138 <sup>A</sup>	0,04	5608,76	62,27	<0,0001	Teste	15,48±2,112 <sup>B</sup>	21,96±2,766 <sup>A</sup>	<b><i>Enterococcaceae</i></b>	Controle	0,0186±0,0175 <sup>A</sup>	0,0223±0,0209 <sup>A</sup>	0,00	26,98	42,11	0,0065	Teste	0,0459±0,0334 <sup>A</sup>	0,009±0,0066 <sup>B</sup>	<b><i>Erysipelotrichaceae</i></b>	Controle	0,166±0,0693 <sup>A</sup>	0,0404±0,0171 <sup>B</sup>	0,00	199,48	51,54	0,0542	Teste	0,1018±0,0377 <sup>A</sup>	0,0642±0,0239 <sup>B</sup>	<b>Family XI</b>	Controle	12,28±3,635 <sup>A</sup>	9,002±2,764 <sup>B</sup>	3,7	3471,43	361,24	<0,0001	Teste	6,499±1,809 <sup>A</sup>	3,409±0,9803 <sup>B</sup>	<b><i>Fusobacteriaceae</i></b>	Controle	6,709±0,9702 <sup>B</sup>	8,463±1,200 <sup>A</sup>	1,89	82,63	294,45	<0,0001	Teste	5,998±0,7711 <sup>A</sup>	5,577±0,7200 <sup>B</sup>	<b><i>Helicobacteraceae</i></b>	Controle	0,3015±0,2966 <sup>B</sup>	0,3571±0,3511 <sup>A</sup>	0,00	130,32
<b><i>Aerovoracaceae</i></b>	Controle	0,47±0,2905 <sup>A</sup>	0,3185±0,19572 <sup>B</sup>	0,24	400,51	16,25	0,0014																																																																																																																																																					
	Teste	0,3464±0,1904 <sup>A</sup>	0,1927±0,1061 <sup>B</sup>					<b><i>Atopobiaceae</i></b>	Controle	0,0749±0,542 <sup>A</sup>	0,0079±0,0059 <sup>B</sup>	0,21	104,38	52,71	<0,0001	Teste	0,0456±0,0289 <sup>A</sup>	0,0312±0,0197 <sup>B</sup>	<b><i>Bacteroidaceae</i></b>	Controle	15,36±2,806 <sup>A</sup>	14,79±2,721 <sup>B</sup>	0,00	18,55	117,79	0,0007	Teste	14,19±2,318 <sup>B</sup>	15,48±2,49 <sup>A</sup>	<b><i>Bifidobacteriaceae</i></b>	Controle	0,0446±0,0197 <sup>A</sup>	0,0199±0,088 <sup>B</sup>	1,11	10,70	12,70	0,0136	Teste	0,0581±0,0289 <sup>A</sup>	0,0603±0,297 <sup>A</sup>	<b><i>Butyricocccaceae</i></b>	Controle	0,2242±0,0761 <sup>A</sup>	0,0891±0,307 <sup>B</sup>	0,10	51,90	74,71	<0,0001	Teste	0,1179±0,0358 <sup>A</sup>	0,1282±0,0388 <sup>A</sup>	<b><i>Campylobacteraceae</i></b>	Controle	0,9311±0,6923 <sup>B</sup>	1,099±0,8158 <sup>A</sup>	3,89	58,03	184,98	<0,0001	Teste	0,2007±0,1249 <sup>A</sup>	0,1108±0,691 <sup>B</sup>	<b><i>Clostridiaceae</i></b>	Controle	0,025±0,0161 <sup>A</sup>	0,0364±0,0234 <sup>A</sup>	0,40	23,83	40,60	0,0164	Teste	0,0667±0,0464 <sup>A</sup>	0,0041±0,0032 <sup>B</sup>	<b><i>Coriobacteriaceae</i></b>	Controle	1,555±0,3638 <sup>A</sup>	1,499±0,3508 <sup>A</sup>	0,22	25,34	48,36	0,0002	Teste	1,176±0,2439 <sup>B</sup>	1,478±0,3053 <sup>A</sup>	<b><i>Enterobacteriaceae</i></b>	Controle	14,21±2,232 <sup>B</sup>	21,97±3,138 <sup>A</sup>	0,04	5608,76	62,27	<0,0001	Teste	15,48±2,112 <sup>B</sup>	21,96±2,766 <sup>A</sup>	<b><i>Enterococcaceae</i></b>	Controle	0,0186±0,0175 <sup>A</sup>	0,0223±0,0209 <sup>A</sup>	0,00	26,98	42,11	0,0065	Teste	0,0459±0,0334 <sup>A</sup>	0,009±0,0066 <sup>B</sup>	<b><i>Erysipelotrichaceae</i></b>	Controle	0,166±0,0693 <sup>A</sup>	0,0404±0,0171 <sup>B</sup>	0,00	199,48	51,54	0,0542	Teste	0,1018±0,0377 <sup>A</sup>	0,0642±0,0239 <sup>B</sup>	<b>Family XI</b>	Controle	12,28±3,635 <sup>A</sup>	9,002±2,764 <sup>B</sup>	3,7	3471,43	361,24	<0,0001	Teste	6,499±1,809 <sup>A</sup>	3,409±0,9803 <sup>B</sup>	<b><i>Fusobacteriaceae</i></b>	Controle	6,709±0,9702 <sup>B</sup>	8,463±1,200 <sup>A</sup>	1,89	82,63	294,45	<0,0001	Teste	5,998±0,7711 <sup>A</sup>	5,577±0,7200 <sup>B</sup>	<b><i>Helicobacteraceae</i></b>	Controle	0,3015±0,2966 <sup>B</sup>	0,3571±0,3511 <sup>A</sup>	0,00	130,32	367,42	<0,0001	Teste	0,4786±0,5104 <sup>A</sup>	0,2455±0,2625 <sup>B</sup>						
<b><i>Atopobiaceae</i></b>	Controle	0,0749±0,542 <sup>A</sup>	0,0079±0,0059 <sup>B</sup>	0,21	104,38	52,71	<0,0001																																																																																																																																																					
	Teste	0,0456±0,0289 <sup>A</sup>	0,0312±0,0197 <sup>B</sup>					<b><i>Bacteroidaceae</i></b>	Controle	15,36±2,806 <sup>A</sup>	14,79±2,721 <sup>B</sup>	0,00	18,55	117,79	0,0007	Teste	14,19±2,318 <sup>B</sup>	15,48±2,49 <sup>A</sup>	<b><i>Bifidobacteriaceae</i></b>	Controle	0,0446±0,0197 <sup>A</sup>	0,0199±0,088 <sup>B</sup>	1,11	10,70	12,70	0,0136	Teste	0,0581±0,0289 <sup>A</sup>	0,0603±0,297 <sup>A</sup>	<b><i>Butyricocccaceae</i></b>	Controle	0,2242±0,0761 <sup>A</sup>	0,0891±0,307 <sup>B</sup>	0,10	51,90	74,71	<0,0001	Teste	0,1179±0,0358 <sup>A</sup>	0,1282±0,0388 <sup>A</sup>	<b><i>Campylobacteraceae</i></b>	Controle	0,9311±0,6923 <sup>B</sup>	1,099±0,8158 <sup>A</sup>	3,89	58,03	184,98	<0,0001	Teste	0,2007±0,1249 <sup>A</sup>	0,1108±0,691 <sup>B</sup>	<b><i>Clostridiaceae</i></b>	Controle	0,025±0,0161 <sup>A</sup>	0,0364±0,0234 <sup>A</sup>	0,40	23,83	40,60	0,0164	Teste	0,0667±0,0464 <sup>A</sup>	0,0041±0,0032 <sup>B</sup>	<b><i>Coriobacteriaceae</i></b>	Controle	1,555±0,3638 <sup>A</sup>	1,499±0,3508 <sup>A</sup>	0,22	25,34	48,36	0,0002	Teste	1,176±0,2439 <sup>B</sup>	1,478±0,3053 <sup>A</sup>	<b><i>Enterobacteriaceae</i></b>	Controle	14,21±2,232 <sup>B</sup>	21,97±3,138 <sup>A</sup>	0,04	5608,76	62,27	<0,0001	Teste	15,48±2,112 <sup>B</sup>	21,96±2,766 <sup>A</sup>	<b><i>Enterococcaceae</i></b>	Controle	0,0186±0,0175 <sup>A</sup>	0,0223±0,0209 <sup>A</sup>	0,00	26,98	42,11	0,0065	Teste	0,0459±0,0334 <sup>A</sup>	0,009±0,0066 <sup>B</sup>	<b><i>Erysipelotrichaceae</i></b>	Controle	0,166±0,0693 <sup>A</sup>	0,0404±0,0171 <sup>B</sup>	0,00	199,48	51,54	0,0542	Teste	0,1018±0,0377 <sup>A</sup>	0,0642±0,0239 <sup>B</sup>	<b>Family XI</b>	Controle	12,28±3,635 <sup>A</sup>	9,002±2,764 <sup>B</sup>	3,7	3471,43	361,24	<0,0001	Teste	6,499±1,809 <sup>A</sup>	3,409±0,9803 <sup>B</sup>	<b><i>Fusobacteriaceae</i></b>	Controle	6,709±0,9702 <sup>B</sup>	8,463±1,200 <sup>A</sup>	1,89	82,63	294,45	<0,0001	Teste	5,998±0,7711 <sup>A</sup>	5,577±0,7200 <sup>B</sup>	<b><i>Helicobacteraceae</i></b>	Controle	0,3015±0,2966 <sup>B</sup>	0,3571±0,3511 <sup>A</sup>	0,00	130,32	367,42	<0,0001	Teste	0,4786±0,5104 <sup>A</sup>	0,2455±0,2625 <sup>B</sup>																	
<b><i>Bacteroidaceae</i></b>	Controle	15,36±2,806 <sup>A</sup>	14,79±2,721 <sup>B</sup>	0,00	18,55	117,79	0,0007																																																																																																																																																					
	Teste	14,19±2,318 <sup>B</sup>	15,48±2,49 <sup>A</sup>					<b><i>Bifidobacteriaceae</i></b>	Controle	0,0446±0,0197 <sup>A</sup>	0,0199±0,088 <sup>B</sup>	1,11	10,70	12,70	0,0136	Teste	0,0581±0,0289 <sup>A</sup>	0,0603±0,297 <sup>A</sup>	<b><i>Butyricocccaceae</i></b>	Controle	0,2242±0,0761 <sup>A</sup>	0,0891±0,307 <sup>B</sup>	0,10	51,90	74,71	<0,0001	Teste	0,1179±0,0358 <sup>A</sup>	0,1282±0,0388 <sup>A</sup>	<b><i>Campylobacteraceae</i></b>	Controle	0,9311±0,6923 <sup>B</sup>	1,099±0,8158 <sup>A</sup>	3,89	58,03	184,98	<0,0001	Teste	0,2007±0,1249 <sup>A</sup>	0,1108±0,691 <sup>B</sup>	<b><i>Clostridiaceae</i></b>	Controle	0,025±0,0161 <sup>A</sup>	0,0364±0,0234 <sup>A</sup>	0,40	23,83	40,60	0,0164	Teste	0,0667±0,0464 <sup>A</sup>	0,0041±0,0032 <sup>B</sup>	<b><i>Coriobacteriaceae</i></b>	Controle	1,555±0,3638 <sup>A</sup>	1,499±0,3508 <sup>A</sup>	0,22	25,34	48,36	0,0002	Teste	1,176±0,2439 <sup>B</sup>	1,478±0,3053 <sup>A</sup>	<b><i>Enterobacteriaceae</i></b>	Controle	14,21±2,232 <sup>B</sup>	21,97±3,138 <sup>A</sup>	0,04	5608,76	62,27	<0,0001	Teste	15,48±2,112 <sup>B</sup>	21,96±2,766 <sup>A</sup>	<b><i>Enterococcaceae</i></b>	Controle	0,0186±0,0175 <sup>A</sup>	0,0223±0,0209 <sup>A</sup>	0,00	26,98	42,11	0,0065	Teste	0,0459±0,0334 <sup>A</sup>	0,009±0,0066 <sup>B</sup>	<b><i>Erysipelotrichaceae</i></b>	Controle	0,166±0,0693 <sup>A</sup>	0,0404±0,0171 <sup>B</sup>	0,00	199,48	51,54	0,0542	Teste	0,1018±0,0377 <sup>A</sup>	0,0642±0,0239 <sup>B</sup>	<b>Family XI</b>	Controle	12,28±3,635 <sup>A</sup>	9,002±2,764 <sup>B</sup>	3,7	3471,43	361,24	<0,0001	Teste	6,499±1,809 <sup>A</sup>	3,409±0,9803 <sup>B</sup>	<b><i>Fusobacteriaceae</i></b>	Controle	6,709±0,9702 <sup>B</sup>	8,463±1,200 <sup>A</sup>	1,89	82,63	294,45	<0,0001	Teste	5,998±0,7711 <sup>A</sup>	5,577±0,7200 <sup>B</sup>	<b><i>Helicobacteraceae</i></b>	Controle	0,3015±0,2966 <sup>B</sup>	0,3571±0,3511 <sup>A</sup>	0,00	130,32	367,42	<0,0001	Teste	0,4786±0,5104 <sup>A</sup>	0,2455±0,2625 <sup>B</sup>																												
<b><i>Bifidobacteriaceae</i></b>	Controle	0,0446±0,0197 <sup>A</sup>	0,0199±0,088 <sup>B</sup>	1,11	10,70	12,70	0,0136																																																																																																																																																					
	Teste	0,0581±0,0289 <sup>A</sup>	0,0603±0,297 <sup>A</sup>					<b><i>Butyricocccaceae</i></b>	Controle	0,2242±0,0761 <sup>A</sup>	0,0891±0,307 <sup>B</sup>	0,10	51,90	74,71	<0,0001	Teste	0,1179±0,0358 <sup>A</sup>	0,1282±0,0388 <sup>A</sup>	<b><i>Campylobacteraceae</i></b>	Controle	0,9311±0,6923 <sup>B</sup>	1,099±0,8158 <sup>A</sup>	3,89	58,03	184,98	<0,0001	Teste	0,2007±0,1249 <sup>A</sup>	0,1108±0,691 <sup>B</sup>	<b><i>Clostridiaceae</i></b>	Controle	0,025±0,0161 <sup>A</sup>	0,0364±0,0234 <sup>A</sup>	0,40	23,83	40,60	0,0164	Teste	0,0667±0,0464 <sup>A</sup>	0,0041±0,0032 <sup>B</sup>	<b><i>Coriobacteriaceae</i></b>	Controle	1,555±0,3638 <sup>A</sup>	1,499±0,3508 <sup>A</sup>	0,22	25,34	48,36	0,0002	Teste	1,176±0,2439 <sup>B</sup>	1,478±0,3053 <sup>A</sup>	<b><i>Enterobacteriaceae</i></b>	Controle	14,21±2,232 <sup>B</sup>	21,97±3,138 <sup>A</sup>	0,04	5608,76	62,27	<0,0001	Teste	15,48±2,112 <sup>B</sup>	21,96±2,766 <sup>A</sup>	<b><i>Enterococcaceae</i></b>	Controle	0,0186±0,0175 <sup>A</sup>	0,0223±0,0209 <sup>A</sup>	0,00	26,98	42,11	0,0065	Teste	0,0459±0,0334 <sup>A</sup>	0,009±0,0066 <sup>B</sup>	<b><i>Erysipelotrichaceae</i></b>	Controle	0,166±0,0693 <sup>A</sup>	0,0404±0,0171 <sup>B</sup>	0,00	199,48	51,54	0,0542	Teste	0,1018±0,0377 <sup>A</sup>	0,0642±0,0239 <sup>B</sup>	<b>Family XI</b>	Controle	12,28±3,635 <sup>A</sup>	9,002±2,764 <sup>B</sup>	3,7	3471,43	361,24	<0,0001	Teste	6,499±1,809 <sup>A</sup>	3,409±0,9803 <sup>B</sup>	<b><i>Fusobacteriaceae</i></b>	Controle	6,709±0,9702 <sup>B</sup>	8,463±1,200 <sup>A</sup>	1,89	82,63	294,45	<0,0001	Teste	5,998±0,7711 <sup>A</sup>	5,577±0,7200 <sup>B</sup>	<b><i>Helicobacteraceae</i></b>	Controle	0,3015±0,2966 <sup>B</sup>	0,3571±0,3511 <sup>A</sup>	0,00	130,32	367,42	<0,0001	Teste	0,4786±0,5104 <sup>A</sup>	0,2455±0,2625 <sup>B</sup>																																							
<b><i>Butyricocccaceae</i></b>	Controle	0,2242±0,0761 <sup>A</sup>	0,0891±0,307 <sup>B</sup>	0,10	51,90	74,71	<0,0001																																																																																																																																																					
	Teste	0,1179±0,0358 <sup>A</sup>	0,1282±0,0388 <sup>A</sup>					<b><i>Campylobacteraceae</i></b>	Controle	0,9311±0,6923 <sup>B</sup>	1,099±0,8158 <sup>A</sup>	3,89	58,03	184,98	<0,0001	Teste	0,2007±0,1249 <sup>A</sup>	0,1108±0,691 <sup>B</sup>	<b><i>Clostridiaceae</i></b>	Controle	0,025±0,0161 <sup>A</sup>	0,0364±0,0234 <sup>A</sup>	0,40	23,83	40,60	0,0164	Teste	0,0667±0,0464 <sup>A</sup>	0,0041±0,0032 <sup>B</sup>	<b><i>Coriobacteriaceae</i></b>	Controle	1,555±0,3638 <sup>A</sup>	1,499±0,3508 <sup>A</sup>	0,22	25,34	48,36	0,0002	Teste	1,176±0,2439 <sup>B</sup>	1,478±0,3053 <sup>A</sup>	<b><i>Enterobacteriaceae</i></b>	Controle	14,21±2,232 <sup>B</sup>	21,97±3,138 <sup>A</sup>	0,04	5608,76	62,27	<0,0001	Teste	15,48±2,112 <sup>B</sup>	21,96±2,766 <sup>A</sup>	<b><i>Enterococcaceae</i></b>	Controle	0,0186±0,0175 <sup>A</sup>	0,0223±0,0209 <sup>A</sup>	0,00	26,98	42,11	0,0065	Teste	0,0459±0,0334 <sup>A</sup>	0,009±0,0066 <sup>B</sup>	<b><i>Erysipelotrichaceae</i></b>	Controle	0,166±0,0693 <sup>A</sup>	0,0404±0,0171 <sup>B</sup>	0,00	199,48	51,54	0,0542	Teste	0,1018±0,0377 <sup>A</sup>	0,0642±0,0239 <sup>B</sup>	<b>Family XI</b>	Controle	12,28±3,635 <sup>A</sup>	9,002±2,764 <sup>B</sup>	3,7	3471,43	361,24	<0,0001	Teste	6,499±1,809 <sup>A</sup>	3,409±0,9803 <sup>B</sup>	<b><i>Fusobacteriaceae</i></b>	Controle	6,709±0,9702 <sup>B</sup>	8,463±1,200 <sup>A</sup>	1,89	82,63	294,45	<0,0001	Teste	5,998±0,7711 <sup>A</sup>	5,577±0,7200 <sup>B</sup>	<b><i>Helicobacteraceae</i></b>	Controle	0,3015±0,2966 <sup>B</sup>	0,3571±0,3511 <sup>A</sup>	0,00	130,32	367,42	<0,0001	Teste	0,4786±0,5104 <sup>A</sup>	0,2455±0,2625 <sup>B</sup>																																																		
<b><i>Campylobacteraceae</i></b>	Controle	0,9311±0,6923 <sup>B</sup>	1,099±0,8158 <sup>A</sup>	3,89	58,03	184,98	<0,0001																																																																																																																																																					
	Teste	0,2007±0,1249 <sup>A</sup>	0,1108±0,691 <sup>B</sup>					<b><i>Clostridiaceae</i></b>	Controle	0,025±0,0161 <sup>A</sup>	0,0364±0,0234 <sup>A</sup>	0,40	23,83	40,60	0,0164	Teste	0,0667±0,0464 <sup>A</sup>	0,0041±0,0032 <sup>B</sup>	<b><i>Coriobacteriaceae</i></b>	Controle	1,555±0,3638 <sup>A</sup>	1,499±0,3508 <sup>A</sup>	0,22	25,34	48,36	0,0002	Teste	1,176±0,2439 <sup>B</sup>	1,478±0,3053 <sup>A</sup>	<b><i>Enterobacteriaceae</i></b>	Controle	14,21±2,232 <sup>B</sup>	21,97±3,138 <sup>A</sup>	0,04	5608,76	62,27	<0,0001	Teste	15,48±2,112 <sup>B</sup>	21,96±2,766 <sup>A</sup>	<b><i>Enterococcaceae</i></b>	Controle	0,0186±0,0175 <sup>A</sup>	0,0223±0,0209 <sup>A</sup>	0,00	26,98	42,11	0,0065	Teste	0,0459±0,0334 <sup>A</sup>	0,009±0,0066 <sup>B</sup>	<b><i>Erysipelotrichaceae</i></b>	Controle	0,166±0,0693 <sup>A</sup>	0,0404±0,0171 <sup>B</sup>	0,00	199,48	51,54	0,0542	Teste	0,1018±0,0377 <sup>A</sup>	0,0642±0,0239 <sup>B</sup>	<b>Family XI</b>	Controle	12,28±3,635 <sup>A</sup>	9,002±2,764 <sup>B</sup>	3,7	3471,43	361,24	<0,0001	Teste	6,499±1,809 <sup>A</sup>	3,409±0,9803 <sup>B</sup>	<b><i>Fusobacteriaceae</i></b>	Controle	6,709±0,9702 <sup>B</sup>	8,463±1,200 <sup>A</sup>	1,89	82,63	294,45	<0,0001	Teste	5,998±0,7711 <sup>A</sup>	5,577±0,7200 <sup>B</sup>	<b><i>Helicobacteraceae</i></b>	Controle	0,3015±0,2966 <sup>B</sup>	0,3571±0,3511 <sup>A</sup>	0,00	130,32	367,42	<0,0001	Teste	0,4786±0,5104 <sup>A</sup>	0,2455±0,2625 <sup>B</sup>																																																													
<b><i>Clostridiaceae</i></b>	Controle	0,025±0,0161 <sup>A</sup>	0,0364±0,0234 <sup>A</sup>	0,40	23,83	40,60	0,0164																																																																																																																																																					
	Teste	0,0667±0,0464 <sup>A</sup>	0,0041±0,0032 <sup>B</sup>					<b><i>Coriobacteriaceae</i></b>	Controle	1,555±0,3638 <sup>A</sup>	1,499±0,3508 <sup>A</sup>	0,22	25,34	48,36	0,0002	Teste	1,176±0,2439 <sup>B</sup>	1,478±0,3053 <sup>A</sup>	<b><i>Enterobacteriaceae</i></b>	Controle	14,21±2,232 <sup>B</sup>	21,97±3,138 <sup>A</sup>	0,04	5608,76	62,27	<0,0001	Teste	15,48±2,112 <sup>B</sup>	21,96±2,766 <sup>A</sup>	<b><i>Enterococcaceae</i></b>	Controle	0,0186±0,0175 <sup>A</sup>	0,0223±0,0209 <sup>A</sup>	0,00	26,98	42,11	0,0065	Teste	0,0459±0,0334 <sup>A</sup>	0,009±0,0066 <sup>B</sup>	<b><i>Erysipelotrichaceae</i></b>	Controle	0,166±0,0693 <sup>A</sup>	0,0404±0,0171 <sup>B</sup>	0,00	199,48	51,54	0,0542	Teste	0,1018±0,0377 <sup>A</sup>	0,0642±0,0239 <sup>B</sup>	<b>Family XI</b>	Controle	12,28±3,635 <sup>A</sup>	9,002±2,764 <sup>B</sup>	3,7	3471,43	361,24	<0,0001	Teste	6,499±1,809 <sup>A</sup>	3,409±0,9803 <sup>B</sup>	<b><i>Fusobacteriaceae</i></b>	Controle	6,709±0,9702 <sup>B</sup>	8,463±1,200 <sup>A</sup>	1,89	82,63	294,45	<0,0001	Teste	5,998±0,7711 <sup>A</sup>	5,577±0,7200 <sup>B</sup>	<b><i>Helicobacteraceae</i></b>	Controle	0,3015±0,2966 <sup>B</sup>	0,3571±0,3511 <sup>A</sup>	0,00	130,32	367,42	<0,0001	Teste	0,4786±0,5104 <sup>A</sup>	0,2455±0,2625 <sup>B</sup>																																																																								
<b><i>Coriobacteriaceae</i></b>	Controle	1,555±0,3638 <sup>A</sup>	1,499±0,3508 <sup>A</sup>	0,22	25,34	48,36	0,0002																																																																																																																																																					
	Teste	1,176±0,2439 <sup>B</sup>	1,478±0,3053 <sup>A</sup>					<b><i>Enterobacteriaceae</i></b>	Controle	14,21±2,232 <sup>B</sup>	21,97±3,138 <sup>A</sup>	0,04	5608,76	62,27	<0,0001	Teste	15,48±2,112 <sup>B</sup>	21,96±2,766 <sup>A</sup>	<b><i>Enterococcaceae</i></b>	Controle	0,0186±0,0175 <sup>A</sup>	0,0223±0,0209 <sup>A</sup>	0,00	26,98	42,11	0,0065	Teste	0,0459±0,0334 <sup>A</sup>	0,009±0,0066 <sup>B</sup>	<b><i>Erysipelotrichaceae</i></b>	Controle	0,166±0,0693 <sup>A</sup>	0,0404±0,0171 <sup>B</sup>	0,00	199,48	51,54	0,0542	Teste	0,1018±0,0377 <sup>A</sup>	0,0642±0,0239 <sup>B</sup>	<b>Family XI</b>	Controle	12,28±3,635 <sup>A</sup>	9,002±2,764 <sup>B</sup>	3,7	3471,43	361,24	<0,0001	Teste	6,499±1,809 <sup>A</sup>	3,409±0,9803 <sup>B</sup>	<b><i>Fusobacteriaceae</i></b>	Controle	6,709±0,9702 <sup>B</sup>	8,463±1,200 <sup>A</sup>	1,89	82,63	294,45	<0,0001	Teste	5,998±0,7711 <sup>A</sup>	5,577±0,7200 <sup>B</sup>	<b><i>Helicobacteraceae</i></b>	Controle	0,3015±0,2966 <sup>B</sup>	0,3571±0,3511 <sup>A</sup>	0,00	130,32	367,42	<0,0001	Teste	0,4786±0,5104 <sup>A</sup>	0,2455±0,2625 <sup>B</sup>																																																																																			
<b><i>Enterobacteriaceae</i></b>	Controle	14,21±2,232 <sup>B</sup>	21,97±3,138 <sup>A</sup>	0,04	5608,76	62,27	<0,0001																																																																																																																																																					
	Teste	15,48±2,112 <sup>B</sup>	21,96±2,766 <sup>A</sup>					<b><i>Enterococcaceae</i></b>	Controle	0,0186±0,0175 <sup>A</sup>	0,0223±0,0209 <sup>A</sup>	0,00	26,98	42,11	0,0065	Teste	0,0459±0,0334 <sup>A</sup>	0,009±0,0066 <sup>B</sup>	<b><i>Erysipelotrichaceae</i></b>	Controle	0,166±0,0693 <sup>A</sup>	0,0404±0,0171 <sup>B</sup>	0,00	199,48	51,54	0,0542	Teste	0,1018±0,0377 <sup>A</sup>	0,0642±0,0239 <sup>B</sup>	<b>Family XI</b>	Controle	12,28±3,635 <sup>A</sup>	9,002±2,764 <sup>B</sup>	3,7	3471,43	361,24	<0,0001	Teste	6,499±1,809 <sup>A</sup>	3,409±0,9803 <sup>B</sup>	<b><i>Fusobacteriaceae</i></b>	Controle	6,709±0,9702 <sup>B</sup>	8,463±1,200 <sup>A</sup>	1,89	82,63	294,45	<0,0001	Teste	5,998±0,7711 <sup>A</sup>	5,577±0,7200 <sup>B</sup>	<b><i>Helicobacteraceae</i></b>	Controle	0,3015±0,2966 <sup>B</sup>	0,3571±0,3511 <sup>A</sup>	0,00	130,32	367,42	<0,0001	Teste	0,4786±0,5104 <sup>A</sup>	0,2455±0,2625 <sup>B</sup>																																																																																														
<b><i>Enterococcaceae</i></b>	Controle	0,0186±0,0175 <sup>A</sup>	0,0223±0,0209 <sup>A</sup>	0,00	26,98	42,11	0,0065																																																																																																																																																					
	Teste	0,0459±0,0334 <sup>A</sup>	0,009±0,0066 <sup>B</sup>					<b><i>Erysipelotrichaceae</i></b>	Controle	0,166±0,0693 <sup>A</sup>	0,0404±0,0171 <sup>B</sup>	0,00	199,48	51,54	0,0542	Teste	0,1018±0,0377 <sup>A</sup>	0,0642±0,0239 <sup>B</sup>	<b>Family XI</b>	Controle	12,28±3,635 <sup>A</sup>	9,002±2,764 <sup>B</sup>	3,7	3471,43	361,24	<0,0001	Teste	6,499±1,809 <sup>A</sup>	3,409±0,9803 <sup>B</sup>	<b><i>Fusobacteriaceae</i></b>	Controle	6,709±0,9702 <sup>B</sup>	8,463±1,200 <sup>A</sup>	1,89	82,63	294,45	<0,0001	Teste	5,998±0,7711 <sup>A</sup>	5,577±0,7200 <sup>B</sup>	<b><i>Helicobacteraceae</i></b>	Controle	0,3015±0,2966 <sup>B</sup>	0,3571±0,3511 <sup>A</sup>	0,00	130,32	367,42	<0,0001	Teste	0,4786±0,5104 <sup>A</sup>	0,2455±0,2625 <sup>B</sup>																																																																																																									
<b><i>Erysipelotrichaceae</i></b>	Controle	0,166±0,0693 <sup>A</sup>	0,0404±0,0171 <sup>B</sup>	0,00	199,48	51,54	0,0542																																																																																																																																																					
	Teste	0,1018±0,0377 <sup>A</sup>	0,0642±0,0239 <sup>B</sup>					<b>Family XI</b>	Controle	12,28±3,635 <sup>A</sup>	9,002±2,764 <sup>B</sup>	3,7	3471,43	361,24	<0,0001	Teste	6,499±1,809 <sup>A</sup>	3,409±0,9803 <sup>B</sup>	<b><i>Fusobacteriaceae</i></b>	Controle	6,709±0,9702 <sup>B</sup>	8,463±1,200 <sup>A</sup>	1,89	82,63	294,45	<0,0001	Teste	5,998±0,7711 <sup>A</sup>	5,577±0,7200 <sup>B</sup>	<b><i>Helicobacteraceae</i></b>	Controle	0,3015±0,2966 <sup>B</sup>	0,3571±0,3511 <sup>A</sup>	0,00	130,32	367,42	<0,0001	Teste	0,4786±0,5104 <sup>A</sup>	0,2455±0,2625 <sup>B</sup>																																																																																																																				
<b>Family XI</b>	Controle	12,28±3,635 <sup>A</sup>	9,002±2,764 <sup>B</sup>	3,7	3471,43	361,24	<0,0001																																																																																																																																																					
	Teste	6,499±1,809 <sup>A</sup>	3,409±0,9803 <sup>B</sup>					<b><i>Fusobacteriaceae</i></b>	Controle	6,709±0,9702 <sup>B</sup>	8,463±1,200 <sup>A</sup>	1,89	82,63	294,45	<0,0001	Teste	5,998±0,7711 <sup>A</sup>	5,577±0,7200 <sup>B</sup>	<b><i>Helicobacteraceae</i></b>	Controle	0,3015±0,2966 <sup>B</sup>	0,3571±0,3511 <sup>A</sup>	0,00	130,32	367,42	<0,0001	Teste	0,4786±0,5104 <sup>A</sup>	0,2455±0,2625 <sup>B</sup>																																																																																																																															
<b><i>Fusobacteriaceae</i></b>	Controle	6,709±0,9702 <sup>B</sup>	8,463±1,200 <sup>A</sup>	1,89	82,63	294,45	<0,0001																																																																																																																																																					
	Teste	5,998±0,7711 <sup>A</sup>	5,577±0,7200 <sup>B</sup>					<b><i>Helicobacteraceae</i></b>	Controle	0,3015±0,2966 <sup>B</sup>	0,3571±0,3511 <sup>A</sup>	0,00	130,32	367,42	<0,0001	Teste	0,4786±0,5104 <sup>A</sup>	0,2455±0,2625 <sup>B</sup>																																																																																																																																										
<b><i>Helicobacteraceae</i></b>	Controle	0,3015±0,2966 <sup>B</sup>	0,3571±0,3511 <sup>A</sup>	0,00	130,32	367,42	<0,0001																																																																																																																																																					
	Teste	0,4786±0,5104 <sup>A</sup>	0,2455±0,2625 <sup>B</sup>																																																																																																																																																									

<b>Lachnospiraceae</b>	Controle	3,782±1,000 <sup>A</sup>	2,164±0,5821 <sup>B</sup>	0,20	860,43	213,37	<0,0001
	Teste	3,682±0,8595 <sup>A</sup>	3,056±0,7181 <sup>B</sup>				
<b>Marinifilaceae</b>	Controle	0,381±0,2784 <sup>B</sup>	0,5705±0,4161 <sup>A</sup>	1,63	575,2	147,38	<0,0001
	Teste	0,0698±0,0483 <sup>B</sup>	0,2402±0,1656 <sup>A</sup>				
<b>Mitochondria</b>	Controle	4,612±0,4425 <sup>A</sup>	4,276±0,4116 <sup>B</sup>	3,57	14,14	7,05	0,0021
	Teste	3,507±0,3010 <sup>A</sup>	3,461±0,2968 <sup>A</sup>				
<b>Oscillospiraceae</b>	Controle	0,2803±0,0941 <sup>B</sup>	0,5296±0,1766 <sup>A</sup>	0,28	94,01	98,08	<0,0001
	Teste	0,4887±0,1437 <sup>A</sup>	0,4855±0,1426 <sup>A</sup>				
<b>Pasteurellaceae</b>	Controle	0,1762±0,2178 <sup>B</sup>	0,3776±0,4657 <sup>A</sup>	0,00	2293,4 2	6,13	<0,0001
	Teste	0,1593±0,1842 <sup>B</sup>	0,3708±0,478 <sup>A</sup>				
<b>Peptococcaceae</b>	Controle	0,0794±0,336 <sup>A</sup>	0,0641±0,032 <sup>A</sup>	0,44	30,24	64,6	0,0002
	Teste	0,0266±0,0107 <sup>B</sup>	0,0832±0,327 <sup>A</sup>				
<b>Porphyromodaceae</b>	Controle	1,015±1,112 <sup>B</sup>	1,486±1,621 <sup>A</sup>	0,17	189,25	738,46	<0,0001
	Teste	2,366±2,255 <sup>A</sup>	2,091±1,998 <sup>B</sup>				
<b>Prevotellaceae</b>	Controle	0,5452±0,3854 <sup>A</sup>	0,1518±0,1078 <sup>B</sup>	0,00	316,57	788,15	<0,0001
	Teste	0,2501±0,1567 <sup>B</sup>	0,3331±0,2085 <sup>A</sup>				
<b>Rikenellaceae</b>	Controle	0,1942±0,1233 <sup>B</sup>	0,3913±0,2476 <sup>A</sup>	1,48	136,25	56,73	<0,0001
	Teste	0,0908±0,518 <sup>A</sup>	0,1056±0,0602 <sup>A</sup>				
<b>Selenomodaceae</b>	Controle	0,665±0,3000 <sup>A</sup>	0,2991±0,1356 <sup>B</sup>	0,00	334,96	78,51	<0,0001
	Teste	0,5113±0,2041 <sup>A</sup>	0,3873±0,1549 <sup>B</sup>				
<b>Staphylococcaceae</b>	Controle	0,0165±0,0118 <sup>A</sup>	0,0123±0,0089 <sup>A</sup>	0,76	25,35	51,13	0,004
	Teste	0,0027±0,0017 <sup>B</sup>	0,0146±0,0088 <sup>A</sup>				
<b>Succinivibriaceae</b>	Controle	0,324±0,2349 <sup>A</sup>	0,2418±0,1755 <sup>B</sup>	0,37	377,11	62,79	<0,0001
	Teste	0,7226±0,4865 <sup>A</sup>	0,3609±0,2439 <sup>B</sup>				
<b>Sutterellaceae</b>	Controle	0,7232±0,2269 <sup>A</sup>	0,2593±0,0821 <sup>B</sup>	0,19	344,87	235,64	<0,0001
	Teste	0,5458±0,1514 <sup>A</sup>	0,4952±0,1374 <sup>B</sup>				
<b>Tannerellaceae</b>	Controle	0,2541±0,0607 <sup>B</sup>	0,3338±0,0792 <sup>A</sup>	0,71	5,00	21,83	0,0421
	Teste	0,3984±0,0732 <sup>A</sup>	0,3618±0,0755 <sup>A</sup>				
<b>Veillonellaceae</b>	Controle	0,9786±0,4813 <sup>A</sup>	0,7724±0,3807 <sup>B</sup>	1,20	1,91	136,03	0,1884
	Teste	0,3632±0,1587 <sup>B</sup>	0,4911±0,2142 <sup>A</sup>				

Fonte: Príncipe (2024)

Legenda: T0 = dia zero; T45 = dia 45; TRAT = tratamento; PER = tempo; TRAT\*PER = interação tratamento x tempo

<sup>A-B</sup> Médias seguidas de letras diferentes nas linhas se diferenciam em 5% no teste de Tukey-Kramer ajustado pelo Proc Mixed

A tabela 5 apresenta as médias das abundâncias relativas para os principais gêneros descrito na literatura para gatos. Pra qual foi avaliado o efeito nos grupos (GC x GE) e nos tempos (T0 x T45), e observado apenas efeito de tratamento (T0 x T45).

Tabela 5. Estimativas de médias e erros padrão das abundâncias relativas dos principais gêneros observados no estudo

Gênero		Dias de estudo		P		
		T0	T45	TRAT	PER	TRAT*PER
		Média	Média			
<i>Bacteroides</i>	Controle	15,360±2,806 <sup>A</sup>	14,790±2,721 <sup>B</sup>	0,9461	0,0007	<0,0001
	Teste	14,190±2,318 <sup>B</sup>	15,480±2,490 <sup>A</sup>			
<i>Bifidobacterium</i>	Controle	0,045±0,020 <sup>A</sup>	0,020±0,009 <sup>B</sup>	0,3269	0,0136	0,0090
	Teste	0,058±0,029 <sup>A</sup>	0,060±0,030 <sup>A</sup>			
<i>Blautia</i>	Controle	0,264±0,120 <sup>A</sup>	0,213±0,071 <sup>B</sup>	0,9024	<0,0001	0,3221
	Teste	0,400±0,116 <sup>A</sup>	0,216±0,063 <sup>B</sup>			
<i>Campylobacter</i>	Controle	0,931±0,692 <sup>B</sup>	1,099±0,816 <sup>A</sup>	0,0743	<0,0001	<0,0001
	Teste	0,201±0,125 <sup>A</sup>	0,111±0,069 <sup>B</sup>			
<i>Catenibacterium</i>	Controle	0,091±0,054 <sup>A</sup>	0,077±0,046 <sup>A</sup>	0,5813	0,5969	0,0750
	Teste	0,047±0,022 <sup>A</sup>	0,063±0,030 <sup>A</sup>			
<i>Clostridium sensu stricto 1</i>	Controle	0,030±0,023 <sup>A</sup>	0,044±0,034 <sup>A</sup>	0,4679	0,0190	0,0085
	Teste	0,059±0,041 <sup>A</sup>	0,004±0,003 <sup>B</sup>			
<i>Collinsella</i>	Controle	1,540±0,359 <sup>A</sup>	1,478±0,345 <sup>A</sup>	0,6456	0,0003	<0,0001
	Teste	1,166±0,241 <sup>B</sup>	1,456±0,300 <sup>A</sup>			
<i>Escherichia-Shigella</i>	Controle	0,797±0,583 <sup>A</sup>	0,639±0,468 <sup>B</sup>	0,4867	<0,0001	<0,0001
	Teste	1,853±1,171 <sup>A</sup>	1,098±0,699 <sup>B</sup>			
<i>Fusobacterium</i>	Controle	6,359±0,920 <sup>B</sup>	8,014±1,138 <sup>A</sup>	0,1400	<0,0001	<0,0001
	Teste	5,434±0,701 <sup>A</sup>	5,131±0,663 <sup>B</sup>			
<i>Helicobacter</i>	Controle	0,302±0,297 <sup>B</sup>	0,357±0,351 <sup>A</sup>	0,9765	<0,0001	<0,0001
	Teste	0,479±0,510 <sup>A</sup>	0,246±0,263 <sup>B</sup>			
<i>Roseburia</i>	Controle	1,088±0,449 <sup>A</sup>	0,402±0,167 <sup>B</sup>	0,7674	<0,0001	<0,0001
	Teste	0,500±0,183 <sup>B</sup>	0,627±0,229 <sup>A</sup>			
<i>Staphylococcus</i>	Controle	0,006±0,005 <sup>A</sup>	0,005±0,004 <sup>A</sup>	0,7715	0,2342	0,1762
	Teste	0,003±0,002 <sup>A</sup>	0,019±0,010 <sup>A</sup>			

Fonte: Príncipe (2024)

Legenda: T0 = dia zero; T45 = dia 45; TRAT = tratamento; PER = tempo; TRAT\*PER = interação tratamento x tempo  
<sup>A-B</sup> Médias seguidas de letras diferentes nas linhas se diferenciam em 5% no teste de Tukey-Kramer ajustado pelo Proc Mixed

### 3.5 DISCUSSÃO

A farinha de vísceras de frango é bastante disseminada na indústria *pet food*, em decorrência de seu excelente perfil aminoacídico (FABER et al., 2010), baixo impacto ambiental e custo reduzido (MEEKER; MEISINGER, 2015). Neste sentido, a hidrólise enzimática destaca-se por melhorar as características físico-químicas desta matéria prima, dentre elas, a bioatividade das moléculas sintetizadas (MASCAPDEVILA et al., 2019; LEE; HUR, 2017). Dentre os benefícios, a proteína de frango hidrolisada dispõe de peptídeos com o potencial de inibir a atividade da ECA (JAMDAR, SHARMA, 2012; MANE; JAMDAR, 2017; DOS SANTOS AGUIAR; DE SOUZA; DE CASTRO, 2020). Contudo, este é o primeiro estudo que buscou avaliar

os efeitos da proteína de frango hidrolisada por processo enzimático sobre variáveis pressóricas de pressão arterial sistólica, concentração sérica de ALD e atividade da ECA I e microbiota intestinal de gatos idosos e obesos.

Para isolar o efeito dos resultados da inclusão da FVHE-c os animais mantiveram-se obesos durante todo o período experimental. Para isso, foram realizadas consultas de acompanhamento a cada quinze dias para avaliar a necessidade energética para manutenção, PC e ECC dos animais. Por se tratar de um estudo clínico, os animais permaneceram em seus domicílios, aos cuidados dos tutores, durante todo o experimento. Observou-se que ambos os grupos apresentaram homogeneidade em relação a idade, PC, ECC, EMM e consumo alimentar. O presente estudo apresenta a limitação de ter avaliado o ECC e EMM dos animais apenas pelo método descrito por Laflamme et al. (1997) e Michael et al. (2011) Por se tratar de felinos domiciliados, a avaliação da microbiota retal foi realizada por meio do uso de *swabs* estéreis para coleta, validada por Kieler et al. (2016).

No nosso estudo, não houve diferença entre os grupos em relação aos valores da PA. A pressão média dos animais do estudo foi de  $133,80 \pm 13,40$  mmHg. Isto se deve ao fato de os animais serem saudáveis e normotensos. De acordo com a avaliação clínica no momento do exame, os gatos foram classificados com um nível moderado de estresse. O nível de estresse pode ser justificado por fatores como transporte, ambiente e coletas que não fazem parte da sua rotina diária. É importante ressaltar que estudo anterior realizado com gatos de abrigo demonstrou que animais que apresentaram o comportamento descrito como “nervoso, excitado ou agressivo” durante a medição da PA, apresentaram mediana de 131,6 mmHg (PAYNE; BRODBELT; LUIS FUENTES, 2017). Em outro estudo, realizado com gatos domiciliados, os autores classificaram 33% (n = 61) dos gatos como “moderadamente nervosos”, 16,8% (n = 31) como “muito nervosos” e 2,7% (n = 5) como “agressivos” durante a mensuração da PA. Também foi observada correlação significativa entre PAS e níveis de estresse ( $\rho = 0,31$ ,  $P < 0,001$ ) e influência significativa do estresse sobre os valores da PAS ( $P = 0,001$ ). Para os quais, gatos que foram considerados “ausentes de estresse” tiveram PAS significativamente mais baixa do que gatos considerados “moderadamente nervosos” ( $P = 0,003$ ), “muito nervosos” ( $P = 0,001$ ) ou “agressivos” ( $P = 0,004$ ) (KNIES et al., 2023).

Três categorias de hipertensão arterial sistêmica (HAS) são descritas para felinos, dentre elas, a hipertensão situacional (ACIERNO et al., 2018; GEDDES et al., 2020). Na qual, alterações no sistema nervoso autônomo, decorrente do estresse ambiental, acarretam no aumento da PAS (GEDDES et al., 2020). Desta forma, o maior nível de estresse durante a mensuração da PA está associado ao aumento da PAS.

As concentrações séricas de ALD foram analisadas, com a intenção de comparar os níveis médios dos grupos experimentais e examinar possíveis efeitos anti-hipertensivos da FVHE-c. A ALD é um hormônio responsável pela manutenção da dinâmica de sódio e potássio do organismo, e, portanto, atua sobre o controle do volume extracelular (ATLAS, 2007). A vasoconstrição causada pela ação da ANG II estimula a liberação de ALD, que aumenta o volume sanguíneo, e resulta no aumento da pressão arterial sistêmica (MENTZ et al. 2013). Todo esse processo é desencadeado pela ação da ECA (CAMPBELL et al., 2008). Foi levantada a hipótese de que as concentrações séricas de ALD diminuiriam em gatos alimentados com FVHE-c devido à inibição da ação da ECA. Porém, as concentrações séricas de ALD não diferiram entre os tratamentos e tempos.

No tratamento farmacológico para HA felina, observou-se que mesmo sob uso de medicamento iECA, as concentrações séricas de ALD dos gatos hipertensos não diminuiriam (STEELE; HENIK; STEPIEN, 2002). Estudos anteriores demonstraram que não houve diferença na concentração sérica de ALD entre gatos normotensos e hipertensos (WILLIAMS; ELLIOTT; SYME, 2013; WARD et al., 2022). Jensen et al. (1997) observaram que não houve alteração das concentrações de ALD em felinos após tratamento com amlodipina. Apesar disso, o aumento da atuação do SRAA é um importante fator para ocorrência de HAS e doença renal crônica em seres humanos e felinos (JEPSON; SYME; ELLIOTT, 2014; HSU; TAIN, 2021). A ausência de significância nas concentrações séricas de ALD entre os grupos deste estudo pode refletir a ação das vias e mecanismos alternativos para manutenção dos níveis de ALD no sangue para gatos.

Assim como para gatos com hipertireoidismo, DRC e HA idiopática, mecanismos alternativos como maior sensibilidade às catecolaminas, aumento do débito cardíaco, alteração dos barorreceptores, concentração sérica anormal de sódio e fatores genéticos podem estar envolvidos na manutenção dos níveis séricos de ALD

(JENSEN et al., 1997; LEVY et al., 2009; REUSCH; SCHELLENBERG; WENGER, 2010; JEPSON; SYME; ELLIOTT, 2014). Além disso, há a possibilidade da presença de uma via alternativa do SRAA, na qual a enzima ECA2 (homóloga à ECA) catalisa ANG I e ANG II em peptídeos de efeitos opostos (por exemplo: ANG1-7) responsáveis por causar vasodilatação, diurese, natriurese e atenuar a inflamação vascular (ESTEBAN et al., 2009; FERRARIO, 2011). Desta forma, as vias alternativas do SRAA atuam de forma contra regulatória e reduzem os efeitos negativos da ANG II e ALD. Por essa razão, as concentrações séricas dos biomarcadores e moléculas não determinam o resultado final sobre o SRAA. Este efeito fica à mercê da interação destes com seus respectivos receptores alvos.

Com o intuito de avaliar o potencial inibitório da FVHE-c sobre a ECA, foi realizado o teste de atividade da ECA I nos grupos experimentais e verificados os níveis médios. A ECA é responsável pela conversão de ANG I e ANG II e, portanto, controla as propriedades vasoconstritoras e retentoras de sódio da ANG II, que estão relacionadas com a PA (BROWN; VAUGJAN, 1998). Desta forma, agentes iECA são estudados para o controle da HAS em gatos (MILTENBURG et al., 2021; ADIN et al., 2023; MARRERO et al., 2024). Mediante aos efeitos anti-hipertensivos dos peptídeos dietéticos, foi pressuposta a diminuição da atividade da ECA I em gatos alimentados com FVHE-c. Porém, a atividade sérica da ECA I não diferiu entre os tratamentos e tempos.

Os gatos possuem maior atividade sérica de ECA ( $12,7 \pm 1,0$  mU/mL) em comparação aos cães ( $5,9 \pm 0,6$  mU/mL) (ARAMAKI; UECHI; TAKASE, 2003). Desta forma, a ativação de vias alternativas do SRAA faz com que não haja alterações nas concentrações séricas da ECA e de outros componentes (MARRERO et al., 2024). É importante ressaltar que todos os gatos deste estudo eram obesos sem outras comorbidades e normotensos. Segundo Adin et al. (2023), gatos hipertensos e doentes renais (n=5) demonstraram menor atividade de ECA sérica em comparação aos gatos normotensos saudáveis (n=9), em função do aumento sérico nas concentrações de angiotensina e atividade da ECA2. Outros estudos, conduzidos com gatos hipertensos e cardiopatas (WARD et al., 2022) e gatos saudáveis tratados com besilato de amlodipina (MARRERO et al., 2024), observaram o aumento nas concentrações séricas de ANG e seus análogos em comparação com gatos saudáveis. Porém, estes estudos não avaliaram a atividade da ECA.

Acredita-se que por meio do mecanismo de *feedback*, a ANG II pode regular os níveis da atividade da ECA, como também influenciar na expressão e atividade da via alternativa ECA2 (GOWRISANKAR; CLARK, 2016). Deste modo, agentes inibidores da ECA podem não ter eficácia em suprimir o sistema renina-angiotensina (BENEDICT et al., 1995). Além do mais, a ANG II sintetizada por vias alternativas, enzima geradora de angiotensina II sensível à quimostatina (CAGE) e/ou enzima conversora de angiotensina II (ECA II), é inerte a ação dos inibidores da ECA (URATA et al., 1990; KRAMKOWSKI; MOGIELNICKI; BUCZKO, 2006). No entanto, as concentrações séricas de ANG II não foram avaliadas no presente estudo. Ademais, assim como para as concentrações séricas de ALD, o organismo faz uso de mecanismos compensatórios e vias alternativas para as quais os componentes séricos do SRAA não se alteram em indivíduos saudáveis. Faz-se necessário estudos que avaliem a atividade de receptores alvos e biomarcadores no organismo.

Referente a análise de microbiota retal, no presente estudo, foram encontradas alta diversidade da microbiota e boa abundância para as amostras individuais dos animais de ambos os grupos. Porém, não foram observadas diferenças na diversidade beta, ou seja, não houve mudanças na composição ou estrutura microbiana entre os grupos experimentais (KERS; SACCENTI, 2022). Esse resultado sugere que os animais do estudo apresentavam microbiota homogênea. A alta diversidade e boa abundância observadas está de acordo com o descrito na literatura para gatos saudáveis (MINAMOTO et al., 2012). O TGI dos felinos é composto por uma complexa diversidade filogenética de organizações microbianas (RITCHIE; STEINER; SUCHODOLSKI, 2008). Além disso, acredita-se que os felinos possuem uma microbiota de maior diversidade, quando comparado aos cães (PILLA; SUCHODOLSKI, 2021). Desta forma, a maior riqueza, diversidade e abundância de espécies pode ser utilizada como indicador de microbiota saudável (LOZUPONE et al., 2012). Apesar dos animais deste estudo serem obesos, estudos anteriores observaram que não houve diferenciação quanto à diversidade da microbiota entre gatos saudáveis e obesos (PALLOTTO et al., 2018; TAL et al., 2020). Não há estudos que tenham observado diferença na diversidade alfa da microbiota de felinos em diferentes fases de vida (JIA et al., 2011).

Foram observados efeito principal de grupo e de interação para os táxons analisados. Foi observado efeito principal de tratamento para os filos Actinobacteria, Bacteroidetes, Campylobacterota, Firmicutes, Fusobacteria e Proteobacteria. De



acordo com o descrito na literatura científica, estes são filos bacterianos predominantes encontrados na microbiota normal do TGI dos felinos (SUCHODOLSKI, 2011; MINAMOTO et al., 2012; BARKO et al., 2018; TIZARD; JONES, 2018; PILLA, SUCHODOLSKI, 2021; NEALON et al., 2023). Tanto o GC quanto o GE demonstraram aumento na abundância relativa dos filos Bacteroidetes e Proteobacteria, e redução na abundância relativa de Firmicutes.

O filo Firmicutes representa o de maior abundância na composição da microbiota intestinal dos gatos (BARRY et al., 2012; GARCIA-MAZCORRO et al., 2017; NEALON et al., 2023). Em seguida, Bacteroidetes e Proteobacteria, são o segundo e/ou terceiro filos em maior abundância. Minamoto et al. (2012) observaram que amostras fecais de gatos saudáveis possuíam alta abundância relativa para o filo Bacteroidetes. Além disso, o gênero *Bacteroides* também foi observado em maior abundância na microbiota fecal de felinos (BARRY et al., 2010; TURN et al., 2012). Desta forma, acredita-se que o aumento de Bacteroidetes em relação à Firmicutes, observado no nosso estudo, está relacionado ao tipo de amostra utilizada para análise, por se tratar de amostras coletas via *swab* retal. Da mesma maneira, Proteobacteria possui alta diversidade de espécies na microbiota fecal de gatos saudáveis (HANDL et al., 2011; MOON et al., 2018). Observou-se o aumento da abundância relativa de Proteobacteria em gatos alimentados com dietas com maior teor de proteína (BERMINGHAM et al., 2013). Dentre as funções, as Proteobacteria estão relacionadas com o metabolismo de proteínas (MOON et al., 2018), o que justifica o aumento deste filo em espécies carnívoras, como os felinos.

O GE apresentou aumento da abundância relativa de Campylobacterota e Fusobacteria e redução para Actinobacteria. O filo Campylobacterota compreende muitas espécies consideradas patogênicas, porém é normalmente encontrado em baixa abundância na microbiota intestinal de gatos saudáveis (MARKS et al., 2011; QUEEN et al., 2012). Bojanić et al. (2017) observaram aumento da prevalência de *Campylobacter* spp. no enriquecimento de esfregaços retais de cães e gatos saudáveis. Tal achado pode estar relacionado com o método de análise utilizado neste estudo, uma vez que a amostra coletada para análise de microbiota foi o *swab* retal (KIELER et al., 2016). O filo Fusobacteria é um dos principais grupos bacterianos da microbiota de cães e gatos saudáveis (SUCHODOLSKI et al., 2008). Este foi observado na análise da composição da microbiota do TGI de outros animais carnívoros (SWANSON et al., 2011). Ou seja, em animais que consomem uma dieta

com altos teores de proteína. Desta forma, o aumento observado dentro dos animais do GE, pode estar relacionado com inclusão da FVHE-c na dieta. Uma vez que houve abundância reduzida de Actinobacteria, aumento de Fusobacteria e manutenção da prevalência equivalente de codominância entre os principais filos para felinos (HANDL et al., 2011). Sugere-se que a diminuição relativa observada ocorreu em decorrência do aumento dos outros grupos bacterianos, principalmente Fusobacteria e Proteobacteria.

No entanto, essas variações de efeito de tratamento dentro de cada grupo corroboram com outros achados da literatura. De acordo com estudo de revisão publicado por Lyu et al. (2020), a porcentagem na abundância relativa destes filos bacterianos varia muito entre os estudos publicados. Deng e Swanson (2015) observaram que fatores ambientais, estilo de vida e diferentes métodos de análises podem causar variações nas porcentagens destes grupos bacterianos. Desta maneira, os gatos deste estudo mantiveram uma microbiota saudável e em equilíbrio para espécie. A inclusão da FVHE-c (12,00%) na dieta GE não demonstrou efeito na modulação da microbiota em comparação ao GC. Observou-se efeito de interação entre tratamento e tempo para os filos: Actinobacteria, Campylobacterota, Cyanobacteria, Firmicutes e Fusobacteria.

Com base nos resultados obtidos, as principais famílias descritas na literatura científica, que compõe a microbiota saudável do TGI dos felinos são: *Bacteroidaceae*, *Bifidobacteriaceae*, *Campylobacteraceae*, *Coriobacteriaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Enterococcaceae*, *Erysipelotrichaceae*, *Fusobacteriaceae*, *Helicobacteraceae*, *Lachnospiraceae*, *Pasteurellaceae*, *Staphylococcaceae* e *Veillonellaceae* (LYU et al., 2020). Em relação as concentrações de bactérias da família *Bacteroidaceae*, observou-se aumento da abundância relativa no GE e redução para o GC. Este aumento pode estar relacionado com o aumento na abundância relativa do gênero *Bacteroides*. A mesma relação entre os grupos GE e GC foi observada quanto à concentração de bactérias do gênero *Bacteroides*. Minamoto et al. (2012) caracterizaram *Bacteroides* como um dos principais gêneros bacterianos isolados do TGI felino. Suchodolski et al. (2015) observaram diminuição na abundância da família *Bacteroidaceae* em gatos com diarreia aguda e crônica. O aumento demonstrado pelo GE pode representar efeito benéfico relacionado a dieta com FVHE-c. Para família *Bifidobacteriaceae* e o gênero *Bifidobacterium* não se observou alteração nas concentrações da abundância relativa para o GE. Constatou-se diminuição da

abundância relativa destes no GC. As bifidobactérias fazem parte da microbiota intestinal dos mamíferos (MILANI et al., 2017). Para os felinos, a diminuição da abundância relativa do gênero *Bifidobacterium* foi observada em pacientes com enteropatia crônica (INNESS et al., 2007).

O consumo da FVHE-c diminuiu a concentração de bactérias pertencentes a família *Campylobacteraceae* e do gênero *Campylobacter* no GE. Por outro lado, efeito oposto foi observado no GC, no qual as abundâncias aumentaram. O gênero *Campylobacter* representa enteropatógenos comuns da microbiota intestinal dos gatos saudáveis e doentes (QUEEN et al., 2012). No entanto, o aumento da sua abundância relativa é indicativo de disbiose em outras espécies (CONWAY et al., 2022). Não houve alteração na abundância relativa para a família *Coriobacteriaceae* e o gênero *Collinsella* no GC. Contudo, o GE apresentou maior abundância relativa para ambos. Jia et al. (2011) observaram maior abundância relativa de *Coriobacteriaceae* na microbiota intestinal de gatos idosos. Ademais, a abundância relativa de *Enterobacteriaceae* foi maior em ambos os grupos. Esta família é conhecida por ser composta por gêneros de bactérias patogênicas (VAN DEN ABEELE et al., 2020). Entretanto, os gêneros *Escherichia-Shigella* e *Clostridium sensu stricto 1*, pertencentes à família, não se alteraram no GC e diminuíram no GE. A inflamação crônica causada pela obesidade pode estar relacionada a este achado (KIELER et al., 2019), na medida em que felinos obesos apresentaram maior abundância relativa para *Enterobacteriaceae*, em relação a felinos em magros (KIELER et al., 2016). Além disso, Janeczko et al. (2008) observaram o aumento de *Enterobacteriaceae* em felinos com doença inflamatória intestinal.

As famílias *Erysipelotrichaceae* e *Lachnospiraceae* apresentaram diminuição em sua abundância relativa em T45 em ambos os grupos (GC e GE). Em relação aos gêneros, não houve variação para *Blautia* (família *Lachnospiraceae*) e *Catenibacterium* (família *Erysipelotrichaceae*). Observou-se aumento da abundância relativa do gênero *Roseburia* (família *Lachnospiraceae*) no GE, e diminuição no GC. Estas reduções são esperadas para os animais do estudo (obesos saudáveis). Ma et al. (2022) observaram redução da abundância relativa da família *Erysipelotrichaceae* em felinos obesos e em sobrepeso, comparados a gatos magros. A mesma diminuição para família *Erysipelotrichaceae* é descrita na literatura em humanos obesos (CHÁVEZ-CARBAJAL et al., 2019). Para cães e gatos, o aumento das concentrações de *Lachnospiraceae* foi associado a casos de diarreia hemorrágica crônica

(SUCHODOLSKI et al., 2015). O gênero *Roseburia* foi observado em maior abundância na microbiota fecal de cães obesos, quando comparados à cães magros (FORSTER et al., 2018). Porém, não há estudos que tenham relado este aumento em gatos.

O consumo da FVHE-c também diminuiu as concentrações das famílias *Fusobacteriaceae*, *Helicobacteraceae* e *Pasteurellaceae* no GE, em comparação com o GC. Seus respectivos gêneros, *Fusobacterium* (família *Fusobacteriaceae*) e *Helicobacter* (família *Helicobacteraceae*) apresentam o mesmo comportamento das famílias em relação ao GE e GC. O gênero *Fusobacterium* (família *Fusobacteriaceae*) está entre os principais gêneros bacterianos da microbiota intestinal dos felinos, com abundância média menor em relação aos cães (SUCHODOLKI et al., 2008; MINAMOTO et al., 2012). Diferente do observado em seres humanos, a presença de *Fusobacterium* não é nociva para o hospedeiro (SWANSON et al., 2011; ALESSANDRI et al., 2020). Acredita-se que a redução na abundância relativa desta família e gênero ocorreu em função do aumento na abundância dos codominantes (TUN et al., 2012). Além disso, o aumento da abundância relativa do gênero *Fusobacterium* foi associado a disbiose e linfoma intestinal em felinos (GARRAWAY et al., 2018; SUCHODOLSKI et al., 2021), o que corrobora com este estudo, em razão da higidez de todos os animais. O aumento da abundância relativa para família *Pasteurellaceae* foi relacionado à disbiose (SUCHODOLSKI et al., 2011; MINAMOTO et al., 2012). No qual, apenas o aumento da abundância relativa seria relacionado a doenças em cães e gatos (KROL et al., 2011). No entanto, o principal gênero relacionado a família *Pasteurellaceae*, gênero *Pasteurella*, não foi identificado na análise. Ademais, foi observada diminuição na abundância relativa da família *Helicobacteraceae*, que é caracterizada como parte da microbiota normal dos felinos (MA et al., 2022) e coloniza o intestino dos felinos com uma série de espécies do gênero *Helicobacter* (MINAMOTO et al., 2012). A redução na abundância relativa de *Helicobacter* foi relatada em casos de diarreia aguda e crônica (SUCHODOLSKI et al., 2015). Não se sabe ao certo, porém adota-se que a diminuição das famílias *Helicobacteraceae* e *Pasteurellaceae* ocorreram por aumento da abundância de famílias codominantes. O impacto desta variação na saúde dos gatos permanece desconhecido.

O GE apresentou aumento na abundância relativa para família *Staphylococcaceae*, mas não houve efeito nesta família nos animais do GC. Em seu

principal gênero, *Staphylococcus*, não houve diferença nos grupos GC e GE. Suchodolski et al. (2011) e Minamoto et al. (2012) observaram a presença de *Staphylococcus* na microbiota intestinal dos felinos saudáveis, principalmente no intestino grosso. Bactérias pertencentes à família *Staphylococcaceae* são conhecidas como enteropatógeno e podem estar envolvidas em uma série de doenças nos seres humanos (DI BIASE et al., 2021; MIZUTANI et al., 2021). Porém, Garcia-Mazcorro et al. (2017) observaram o aumento da abundância relativa de *Staphylococcaceae* após suplementação de prebiótico apenas em cães, sem ter efeito para gatos. Não há na literatura estudos que correlacionam a variação de *Staphylococcaceae* e/ou *Staphylococcus* como prejudicial à saúde dos cães e gatos. A família *Veillonellaceae* apresentou aumento da abundância relativa no GE e diminuição das concentrações para o GC. A mesma inclinação foi observada para outros gêneros não identificados desta família. A família *Veillonellaceae* está entre os táxons bacterianos mais relevantes do microbioma fecal de cães (PILLA et al., 2021) e felinos (MINAMOTO et al., 2012). O aumento pertencente ao grupo de bactérias da família *Veillonellaceae* e sua abundância relativa foi observado no emprego de prebióticos na dieta de cães e gatos (GARCIA-MAZCORRO et al., 2017). Acredita-se que o aumento relativo das bactérias dessas famílias está diretamente relacionado com o aumento de bactérias pertencentes aos gêneros que as compõem.

### 3.6 CONCLUSÕES

Nas condições de realização do presente estudo e baseado nos resultados obtidos, pode-se concluir que a inclusão de 12,00% de FVHE-c em dietas extrusadas não surtiu efeito sobre as variáveis pressóricas mensuradas para gatos idosos e obesos. Ademais, ambas as dietas foram efetivas em modular, de forma benéfica, a microbiota retal de gatos idosos e obesos. Mais estudos devem ser realizados, para avaliar a eficácia da FVHE-c em gatos hipertensos e seus efeitos a longo prazo sobre fatores pressóricos e microbiota de gatos.

### 3.7 REFERÊNCIAS

ACIERNO, M. J. et al. ACVIM consensus statement: Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 32, n. 6, p. 1803-1822, 2018.

ADIN, D. et al. Evaluation of Renin–Angiotensin–Aldosterone System Components and Enzymes in Systemically Hypertensive Cats Receiving Amlodipine. **Animals**, v. 13, n. 22, p. 3479, 2023.

AKAIKE, H. A new look at the statistical model identification. **IEEE Transactions on Automatic Control**, v.19, p. 716-723, 1974.

AL-GHAZLAT, S.A.; LANGSTON, C.E.; GRECO, D.S.; REINE, N.J.; MAY, S.N.; SHOFER, F.S. The prevalence of microalbuminuria and proteinuria in cats with diabetes mellitus. **Topics in Companion Animal Medicine**, v. 26, n. 3, p. 154–157, 2011.

ARAMAKI, Y.; UECHI, M.; TAKASE, Katsuaki. Angiotensin converting enzyme and chymase activity in the feline heart and serum. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 65, n. 10, p. 1115-1118, 2003.

ASH, R.A., HARVEY, A.M., TASKER, S. Primary hyperaldosteronism in the cat: a series of 13 cases. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 7, n. 3, p. 173–182, 2005.

ATLAS, S. A. The renin-angiotensin aldosterone system: pathophysiological role and pharmacologic inhibition. **Journal of managed care pharmacy**, v. 13, n. 8 Supp B, p. 9-20, 2007.

BARCO, P. C. et al. The gastrointestinal microbiome: a review. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 32, n. 1, p. 9-25, 2018.

BARRY, K. A. et al. Effects of dietary fiber on the feline gastrointestinal metagenome. **Journal of proteome research**, v. 11, n. 12, p. 5924-5933, 2012.

BENEDICT, C. R. et al. Effect of long-term enalapril therapy on neurohormones in patients with left ventricular dysfunction. **The American journal of cardiology**, v. 75, n. 16, p. 1151-1157, 1995.

BERMINGHAM, E. N. et al. Key bacterial families (Clostridiaceae, Erysipelotrichaceae and Bacteroidaceae) are related to the digestion of protein and energy in dogs. **PeerJ**, v. 5, p. e3019, 2017.

BOJANIĆ, K. et al. Isolation of *Campylobacter* spp. from client-owned dogs and cats, and retail raw meat pet food in the Manawatu, New Zealand. **Zoonoses and public health**, v. 64, n. 6, p. 438-449, 2017.

BROWN, N. J.; VAUGHAN, D. E. Angiotensin-converting enzyme inhibitors. **Circulation**, v. 97, n. 14, p. 1411-1420, 1998.

CABRAL, R.R.; CIASCA, B.D.; OLIVEIRA, V.M.C.; VAZ-CURADO, A.P.; LARSSON, M.H.M.A. Valores de pressão arterial em cães pelos métodos oscilométrico e Doppler vascular. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. 62:64-71. 2010.

CAMPBELL, D.J. Critical review of prorenin and (pro)renin receptor research. **Hypertension**, v. 51, p. 1259. 2008.

CHÁVEZ-CARBAJAL, A. et al. Gut microbiota and predicted metabolic pathways in a sample of Mexican women affected by obesity and obesity plus metabolic syndrome. **International journal of molecular sciences**, v. 20, n. 2, p. 438, 2019.

CHENG, F-Y.; WAN, T-C.; LIU, Y-T.; LAI, K-M.; LIN, L-C.; SAKATA, R. Attenuating development of cardiovascular hypertrophy with hydrolysate of chicken leg bone protein in spontaneously hypertensive rats. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 21, n. 5, p. 732-737, 2008.

CONROY, M.; CHANG, Y.M.; BRODBELT, D.; ELLIOTT, J. Survival after diagnosis of hypertension in cats attending primary care practice in the United Kingdom. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 32, n. 6, p. 1846–1855, 2018.

CONWAY, E. et al. Maternal and/or direct supplementation with a combination of a casein hydrolysate and yeast  $\beta$ -glucan on post-weaning performance and intestinal health in the pig. **Plos one**, v. 17, n. 7, p. e0265051, 2022.

DENG, P.; SWANSON, K. S. Gut microbiota of humans, dogs and cats: current knowledge and future opportunities and challenges. **British Journal of Nutrition**, v. 113, n. S1, p. S6-S17, 2015.

DI BIASE, A. R. et al. Gut microbiota signatures and clinical manifestations in celiac disease children at onset: A pilot study. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 36, n. 2, p. 446-454, 2021.

DOS SANTOS AGUILAR, J. G.; DE SOUZA, A. K. S.; DE CASTRO, R. J. S. Enzymatic hydrolysis of chicken viscera to obtain added-value protein hydrolysates with antioxidant and antihypertensive properties. **International Journal of Peptide Research and Therapeutics**, v. 26, p. 717-725, 2020.

ELLIOT, J.; BARBER, P.J.; SYME, H.M.; RAWLINGS, J.M.; MARKWELL, P.J. Feline hypertension: clinical findings and response to antihypertensive treatment in 30 cases. **Journal of Small Animal Practice**, v. 42, n. 3, p. 122–129. 2001.

ESTEBAN, V. et al. Angiotensin-(1–7) and the g protein-coupled receptor MAS are key players in renal inflammation. **PloS one**, v. 4, n. 4, p. e5406, 2009.

FABER, T. A. et al. Protein digestibility evaluations of meat and fish substrates using laboratory, avian, and ileally cannulated dog assays. **Journal of animal science**, v. 88, n. 4, p. 1421-1432, 2010.

FEDIAF (European Pet Food Industry). **Nutritional guidelines for complete and complementary pet food for cats and dogs**. 2020.



FERRARIO, C. M. ACE 2: More of Ang 1-7 or less Ang II?. **Current opinion in nephrology and hypertension**, v. 20, n. 1, p. 1, 2011.

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.

FUJITA, H.I.; YOKOYAMA, K.E.; YOSHIKAWA, M. Classification and antihypertensive activity of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins. **Journal of food science**, v. 65, n. 4, p. 564-569, 2000.

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.

GARRAWAY, K. et al. Relationship of the mucosal microbiota to gastrointestinal inflammation and small cell intestinal lymphoma in cats. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 32, n. 5, p. 1692-1702, 2018.

GEDDES, R. F. Hypertension: why is it critical?. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, v. 50, n. 5, p. 1037-1052, 2020.

GOWRISANKAR, Y. V.; CLARK, M. A. Angiotensin II regulation of angiotensin-converting enzymes in spontaneously hypertensive rat primary astrocyte cultures. **Journal of neurochemistry**, v. 138, n. 1, p. 74-85, 2016.

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, n. 2, p. 301-310, 2011.

HSU, C-N; TAIN, Y-L. Targeting the renin–angiotensin–aldosterone system to prevent hypertension and kidney disease of developmental origins. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 5, p. 2298, 2021.

INNESS, V. L. et al. Molecular characterisation of the gut microflora of healthy and inflammatory bowel disease cats using fluorescence in situ hybridisation with special reference to *Desulfovibrio* spp. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 91, n. 1-2, p. 48-53, 2007.

JAMDAR, S. N.; RAJALAKSHMI, V.; SHARMA, Arun. Antioxidant and ace inhibitory properties of poultry viscera protein hydrolysate and its peptide fractions. **Journal of Food Biochemistry**, v. 36, n. 4, p. 494-501, 2012.

JANECZKO, S. et al. The relationship of mucosal bacteria to duodenal histopathology, cytokine mRNA, and clinical disease activity in cats with inflammatory bowel disease. **Veterinary microbiology**, v. 128, n. 1-2, p. 178-193, 2008.

JENSEN, J. L et al. Plasma renin activity and angiotensin I and aldosterone concentrations in cats with hypertension associated with chronic renal disease. **American journal of veterinary research**, v. 58, n. 5, p. 535-540, 1997.

JEPSON, R.E.; SYME, H.M.; ELLIOTT, J. Plasma renin activity and aldosterone concentrations in hypertensive cats with and without azotemia and in response to treatment with amlodipine besylate. **Journal Veterinary Internal Medicine**, v. 28, n. 1, p. 144-153. 2014.

JEPSON, R. E.; ELLIOTT, J.; BRODBELT, D.; SYME, H. M. Effect of control of systolic blood pressure on survival in cats with systemic hypertension. **Journal Veterinary Internal Medicine**, v. 21, n. 3, p. 402-409. 2007.

JIA, J. et al. Investigation of the faecal microbiota of geriatric cats. **Letters in applied microbiology**, v. 53, n. 3, p. 288-293, 2011.

KIELER, I. N. et al. Diabetic cats have decreased gut microbial diversity and a lack of butyrate producing bacteria. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 4822, 2019.

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.

KIM, B-R et al. Deciphering diversity indices for a better understanding of microbial communities. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 27, n. 12, p. 2089-2093, 2017.

KNIES, M.; KOOISTRA, H.S.; TESKE, E. Prevalence of persistent hypertension and situational hypertension in a population of elderly cats in The Netherlands. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 25, n. 6, p. 1098612X231172629. 2023.

KRAMKOWSKI, K.; MOGIELNICKI, A.; BUCZKO, W. The physiological significance of the alternative. **J. Physiol. Pharmacol**, v. 57, p. 529-539, 2006.

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.

LAFLAMME, D. P. Development and validation of a body condition score system for dogs. **Canine Practice**. 22, 10-15, 1997.

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

LEVY, D. et al. Genome-wide association study of blood pressure and hypertension. **Nature genetics**, v. 41, n. 6, p. 677-687, 2009.

LI, G-H.; QU, M-R.; WAN, J-Z.; YOU, J-M. Antihypertensive effect of rice protein hydrolysate with in vitro angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity in spontaneously hypertensive rats. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v. 16, n. S1, p. 275-280, 2007.

LOZUPONE, C. A. et al. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. **Nature**, v. 489, n. 7415, p. 220-230, 2012.

LYU, Y. et al. Past, present, and future of gastrointestinal microbiota research in cats. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 1661, 2020.

MAGGIO, F.; DEFRANCESCO, T.C.; ATKINS, C.E.; PIZZIRANI, S.; GILGER, B.C.; DAVIDSON, M.G. Ocular lesions associated with systemic hypertension in cats: 69 cases (1985-1998). **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v. 217, p. 695–702. 2000.

MANE, S.; JAMDAR, S. N. Purification and identification of Ace-inhibitory peptides from poultry viscera protein hydrolysate. **Journal of Food Biochemistry**, v. 41, n. 2, p. e12275, 2017.

MARKS, S. L. et al. Enteropathogenic bacteria in dogs and cats: diagnosis, epidemiology, treatment, and control. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 25, n. 6, p. 1195-1208, 2011.

MARRERO, T. M. G. et al. Effect of amlodipine on the circulating renin-angiotensin-aldosterone system in healthy cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, p. 1-9, 2024.

MARTÍNEZ-MAQUEDA, D.; MIRALLES, B.; RECIO, I.; HERNÁNDEZ-LEDESMA, B. Antihypertensive peptides from food proteins: a review. **Food and Function**, v. 3, p. 350-361, 2012.

MAS-CAPDEVILA, A.; IGLESIAS-CARRES, L.; AROLA-ARNAL, A.; SUAREZ, M.; MUGUERZA, B.; BRAVO, F.I. Longterm administration of protein hydrolysate from chicken feet induces antihypertensive effect and confers vasoprotective pattern in diet-induced hypertensive rats. **Journal of Functional Foods**, v. 55, p. 28–35, 2019.

MASUOKA, H. et al. Transition of the intestinal microbiota of cats with age. **PLoS One**, v. 12, n. 8, p. e0181739, 2017.

MCMURDIE, P.J., HOLMES, S. Phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. **PLoS one**, v. 8, n. 4, p. e61217, 2013.

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

MENTZ, R. J. et al. The past, present and future of renin–angiotensin aldosterone system inhibition. **International journal of cardiology**, v. 167, n. 5, p. 1677-1687, 2013.

MICHEL, K. E. et al. Correlation of a feline muscle mass score with body composition determined by dual-energy x-ray absorptiometry. **The British Journal of Nutrition**, v. 106, p. 57-59, 2011.

MILANI, C. et al. Unveiling bifidobacterial biogeography across the mammalian branch of the tree of life. **The ISME journal**, v. 11, n. 12, p. 2834-2847, 2017.

MILTENBURG, T. Z.; DA SILVA, M. U.; BOSCH, G.; VASCONCELLOS, R. S. Effects of enzymatically hydrolysed poultry byproduct meal in extruded diets on serum angiotensin-converting enzyme activity and aldosterone in cats. **Archives of Animal Nutrition**, v. 75, n. 1, p. 64-77, 2021.

MINAMOTO, Y. et al. Feline gastrointestinal microbiota. **Animal Health Research Reviews**, v. 13, n. 1, p. 64-77, 2012.

MIZUTANI, T. et al. Gut microbiota signature of pathogen-dependent dysbiosis in viral gastroenteritis. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 13945, 2021.

MOON, C. D. et al. Metagenomic insights into the roles of Proteobacteria in the gastrointestinal microbiomes of healthy dogs and cats. **Microbiologyopen**, v. 7, n. 5, p. e00677, 2018.

NEALON, N. J. et al. Fecal identification markers impact the feline fecal microbiota. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 10, p. 1039931, 2023.

NRC (National Research Council). **Guidelines for the Humane Transportation of Research Animals**. Washington DC: National Academies Press. 2006.

ONUH, J.O.; GIRGIH, A.T.; NWACHUKWU, I.; IEVARI-SHARIATI, S.; RAJ, P.; NETTICADAN, T.; ALUKO, R.E.; ALIANI, M. A metabolomics approach for investigating urinary and plasma changes in spontaneously hypertensive rats (SHR) fed with chicken skin protein hydrolysates diets. **Journal of Functional Foods**, v. 22, p. 20-33, 2016.

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, n. 2, p. 181-190, 2018.

PAYNE, J. R.; BRODBELT, D. C.; LUIS FUENTES, V. Blood pressure measurements in 780 apparently healthy cats. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 31, n. 1, p. 15-21, 2017.

PILLA, R.; SUCHODOLSKI, J. S. The role of the canine gut microbiome and metabolome in health and gastrointestinal disease. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 6, p. 498, 2020.

QUAST, C., PRUESSE, E., YILMAZ, P., GERKEN, J., SCHWEER, T., YARZA, P., et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. **Nucleic Acids Research**, v. 41, n. D1, p. D590–D596, 2012.

REUSCH, C. E.; SCHELLENBERG, S.; WENGER, M. Endocrine hypertension in small animals. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, v. 40, n. 2, p. 335-352, 2010.

RITCHIE, L. E.; STEINER, J. M.; SUCHODOLSKI, J. S. Assessment of microbial diversity along the feline intestinal tract using 16S rRNA gene analysis. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 66, n. 3, p. 590-598, 2008.

STEELE, J. L.; HENIK, R. A.; STEPIEN, R. L. Effects of angiotensin-converting enzyme inhibition on plasma aldosterone concentration, plasma renin activity, and blood pressure in spontaneously hypertensive cats with chronic renal disease. **Vet Ther**, v. 3, n. 2, p. 157-166.

SUCHODOLSKI, J. S.; CAMACHO, J.; STEINER, J. M. Analysis of bacterial diversity in the canine duodenum, jejunum, ileum, and colon by comparative 16S rRNA gene analysis. **FEMS microbiology ecology**, v. 66, n. 3, p. 567-578, 2008.

SUCHODOLSKI, J. S. Companion animals symposium: microbes and gastrointestinal health of dogs and cats. **Journal of animal science**, v. 89, n. 5, p. 1520-1530, 2011.

SUCHODOLSKI, Jan S. et al. The fecal microbiome in cats with diarrhea. **PloS one**, v. 10, n. 5, p. e0127378, 2015.

SWANSON, K. S. et al. Phylogenetic and gene-centric metagenomics of the canine intestinal microbiome reveals similarities with humans and mice. **The ISME journal**, v. 5, n. 4, p. 639-649, 2011.

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, n. 1, p. 1-15, 2020.

TIZARD, I. R.; JONES, S. W. The microbiota regulates immunity and immunologic diseases in dogs and cats. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, v. 48, n. 2, p. 307-322, 2018.

TSAFACK, P. B.; LI, C.; TSOPMO, A. Food Peptides, Gut Microbiota Modulation, and Antihypertensive Effects. **Molecules**, v. 27, n. 24, p. 8806, 2022.

TUN, Hein Min et al. Gene-centric metagenomics analysis of feline intestinal microbiome using 454 junior pyrosequencing. **Journal of microbiological methods**, v. 88, n. 3, p. 369-376, 2012.

URATA, Hidenori et al. Angiotensin II-forming pathways in normal and failing human hearts. **Circulation research**, v. 66, n. 4, p. 883-890, 1990.

VALENTIN, S.Y.; CORTRIGHT, C.C.; NELSON, R.W.; PRESSLER, B.M.; ROSENBERG, D.; MOORE, G.E.; SCOTT-MONCRIEFF, J.C. Clinical findings, diagnostic test results, and treatment outcome in cats with spontaneous hyperadrenocorticism: 30 cases. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 28, n. 2, p. 481–487, 2014.

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. skaa173, 2020.

WARD, J. L. et al. Circulating renin-angiotensin-aldosterone system activity in cats with systemic hypertension or cardiomyopathy. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 36, n. 3, p. 897-909, 2022.

WILLIAMS, T. L.; ELLIOTT, J.; SYME, H. M. Renin-angiotensin-aldosterone system activity in hyperthyroid cats with and without concurrent hypertension. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 27, n. 3, p. 522-529, 2013.

WRIGHT, E.S. Using DECIPHER v2.0 to Analyze Big Biological Sequence Data in R. **R Journal**, v. 8, n. 1, p. 352–359, 2016.