

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 01/11/2024.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**LONG NON-CODING RNAS AND MESSENGER RNA ISOFORMS
ASSOCIATED WITH MUSCLE FATTY ACID PROFILE IN NELLORE
ANIMALS**

**Bruna Maria Salatta
Zootecnista**

2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**LONG NON-CODING RNAS AND MESSENGER RNA ISOFORMS ASSOCIATED
WITH MUSCLE FATTY ACID PROFILE IN NELLORE ANIMALS**

Bruna Maria Salatta

Orientadora: **Profa. Dra. Lucia Galvão de Albuquerque**

Coorientadora: **Dra. Larissa Fernanda Simielli Fonseca**

Coorientadora: **Dra. Maria Malane Magalhães Muniz**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de
Jaboticabal, como parte das exigências para a
obtenção do título de Doutor Genética e
Melhoramento Animal

2023

S1611 Salatta, Bruna Maria

Long non-coding RNAs and messenger RNA isoforms associated with muscle fatty acid profile in Nellore animals / Bruna Maria Salatta. -- Jaboticabal, 2023

139 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientadora: Lucia Galvão de Albuquerque

Coorientadora: Larissa Fernanda Simielli Fonseca

1. Fatty acids. 2. genic lncRNAs. 3. lncRNAs. 4. mRNA isoforms. 5. RNA-Seq. I. Título.

Impacto potencial desta pesquisa

O presente estudo identificou lncRNAs e isoformas de mRNAs relevantes, ampliando o entendimento dos processos biológicos relacionados ao perfil de ácidos graxos da carne. Foram descritas regiões genômicas importantes abrindo caminhos para pesquisas futuras com o objetivo de elucidar potenciais marcadores genéticos para perfil de ácidos graxos.

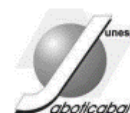
Potential impact of this research

The present study identified relevant lncRNAs and mRNA isoforms, expanding the understanding of biological processes related to meat fatty acid profile. Important genomic regions were described opening avenues for future research with the aim of elucidating potential genetic markers for fatty acid profiling.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: LNCRNAS AND MRNAS ISOFORMS ASSOCIATED WITH THE FATTY ACID COMPOSITION OF MUSCLE TISSUE IN NELORE BREED ANIMALS

AUTORA: BRUNA MARIA SALATTA

ORIENTADORA: LUCIA GALVÃO DE ALBUQUERQUE

COORIENTADORA: LARISSA FERNANDA SIMIELLI FONSECA

COORIENTADORA: MARIA MALANE MAGALHÃES MUNIZ

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Genética e Melhoramento Animal, pela Comissão Examinadora:

Pós-doutoranda LARISSA FERNANDA SIMIELLI FONSECA (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia / FCAV UNESP Jaboticabal



Documento assinado digitalmente
LARISSA FERNANDA SIMIELLI FONSECA
Data: 01/11/2023 17:24:27-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. DANIELLY BERALDO DOS SANTOS SILVA (Participação Virtual)
Universidade José do Rosário Vellano (UNIFENAS) / Alfenas/MG



Documento assinado digitalmente
DANIELLY BERALDO DOS SANTOS SILVA
Data: 07/11/2023 11:49:44-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Pós doutorando LÚCIO FLÁVIO MACÊDO MOTA (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia / FCAV UNESP Jaboticabal



Documento assinado digitalmente
LUCIO FLAVIO MACEDO MOTA
Data: 07/11/2023 16:42:00-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Pesquisadora Dra. MARIA EUGÊNIA ZERLOTTI MERCADANTE (Participação Virtual)
Instituto de Zootecnia / Sertãozinho/SP



Documento assinado digitalmente
MARIA EUGENIA ZERLOTTI MERCADANTE
Data: 07/11/2023 18:14:36-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. GREGÓRIO MIGUEL FERREIRA DE CAMARGO (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia / Universidade Federal da Bahia (UFBA) - Salvador/BA



Documento assinado digitalmente
GREGORIO MIGUEL FERREIRA DE CAMARGO
Data: 08/11/2023 10:37:32-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Jaboticabal, 01 de novembro de 2023

Dados curriculares

Bruna Maria Salatta nascida no dia 11 de janeiro de 1993, na cidade de Itápolis, São Paulo, filha de Donizeti Afonso Salatta e Diva Soares Salatta. Iniciou o curso de Zootecnia em março de 2012 na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, campus de Jaboticabal. Foi bolsista de iniciação científica (Pibic – CNPq) no período entre 2013 e 2016 sob orientação da professora Dra. Lucia Galvão de Albuquerque. Obteve o título de bacharel em Zootecnia em fevereiro de 2017. Em agosto de 2017, ingressou no curso de mestrado pelo programa Pós-graduação em Genética e Melhoramento Animal na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, campus de Jaboticabal, sob orientação da professora Dra. Lucia Galvão de Albuquerque e co-orientação da Dra. Larissa Fernanda Simielli Fonseca. Foi bolsista de CAPES pelo período de 02 de agosto de 2017, até 30 de julho de 2019. Em agosto de 2019 ingressou no curso de doutorado no mesmo programa de Pós-graduação, bolsista da mesma instituição de fomento e sob mesma orientação e co-orientação da Dra. Maria Malane Magalhães Muniz e Dra. Larissa Fernanda Simielli Fonseca.

*“A mais bela experiência que podemos ter é o mistério. É a emoção fundamental que está no
berço da verdadeira arte e da verdadeira ciência.”*

Albert Einstein

DEDICO

Para meus pais. Agradeço pela educação que me deram, pela disciplina que me ensinaram, pela dedicação nos cuidados, e por serem um verdadeiro pilar de esperança, sabedoria, respeito a Deus e amor em minha vida.

AGRADECIMENTOS

Meu Deus, quero Te agradecer por todos os dias cuidares de mim e por Teu amor conduzir meus passos. Obrigada por toda perseverança, sabedoria, paciência concedida e por colocar pessoas maravilhosas no meu caminho que me orientaram, ensinaram e contribuíram para essa tese se concretizasse.

Aos meus pais, que sempre primaram pela minha educação e são fonte de motivação. Obrigada Sr. Donizeti e Sra. Diva por acreditarem em mim quando nem eu mesma acreditava. Esse doutorado é prova do amor e apoio incondicional de vocês. Certamente não chegaria até aqui sem os pais dedicados e amorosos que tive.

A Caio Teixeira, pela ajuda científica e pela presença diária, me confortando e ajudando a superar as dificuldades com confiança, amor, incentivo. Obrigada por todo companheirismo ao longo desses anos.

Minha sincera gratidão à minha orientadora, Dra. Lucia Galvão de Albuquerque, por permitir fazer parte do seu grupo de pesquisa, ter acreditado em mim e nas minhas capacidades. Agradeço a orientação durante todos esses anos, as constantes demonstrações de sabedoria e exemplo profissional. Seu exemplo como pesquisadora e orientadora é fonte de inspiração para buscar sempre fazer o melhor.

As minhas coorientadoras Dra. Maria Malane Magalhães Muniz e Dra. Larissa Fernanda Simielli Fonseca pela amizade, disponibilidade, dedicação e paciência ao longo do projeto. Obrigada pela disposição em me ouvir e responder todas as minhas dúvidas. Obrigada por me guiarem na pesquisa e revisarem meus escritos. Vocês foram essenciais para a conclusão do projeto.

Aos membros da banca examinadora de qualificação e defesa: Dr. Jesus Ferro, Dr. Lucas Lima Verardo, Dr. Lucio Flavio Macedo Motta, Dra. Danielly Beraldo dos Santos Silva, Dr. Fernando Baldi e Dr. Gregório Camargo. Obrigada por dedicarem seu tempo e

esforço para avaliar minha tese. Os comentários, sugestões e críticas foram inestimáveis para aprimorar meu trabalho.

A Dra. Gabriela Frezarim, agradeço por todos os momentos em que passamos juntas da graduação ao doutorado. Pelo ombro amigo, pelas boas risadas, puxões de orelha, e por toda motivação, empatia e apoio emocional nesses últimos anos. Você é um exemplo de generosidade e bondade. Aprecio sua amizade sincera e vou levá-la comigo para sempre.

Aos colegas de departamento que pude ter o privilégio de conviver Ivan, Marta, Diego, Patrícia, Danielly, Ana Fabrícia, Tiago, Natália, Andres, Willian, André, Thaise, Samuel, Delvan, Baltazar, Isabella, Daniel, Sindy e outros pela convivência, amizade, pela ajuda científica e por tornar nosso ambiente de trabalho agradável. Obrigada pelos cafés diários.

À UNESP/FCAV pelos onze anos de casa, posso garantir que jamais sairão da minha memória instantes ímpares e que trouxeram conforto, alegria e a ambição necessária para alcançar esta etapa na minha vida.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) nº dos processos (#2009/16118-5, #2014/07566-2, #2017/10630-2) por todo o suporte financeiro. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, agradeço pelo apoio financeiro. Graças ao apoio financeiro da CAPES pude dedicar-me exclusivamente às atividades de pós-graduação e desenvolvido na minha tese.

A TODOS, obrigada de coração.

SUMÁRIO

LONG NON-CODING RNAS AND MRNAS ISOFORMS ASSOCIATED WITH THE FATTY ACID COMPOSITION OF MUSCLE TISSUE IN NELLORE BREED CATTLE .	14
ABSTRACT	14
CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS	18
1. INTRODUÇÃO.....	18
2. OBJETIVOS.....	20
1.1. OBJETIVO GERAL	20
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
2. REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1. ASPECTOS DE QUALIDADE DA CARNE BOVINA IMPORTANTES PARA A MANUTENÇÃO DA SAÚDE HUMANA	20
2.2. ESTRUTURA E CLASSIFICAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS	22
2.3. METABOLISMO LIPÍDICO EM RUMINANTES	23
2.4. GENES ASSOCIADOS À DEPOSIÇÃO DE GORDURA E AO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS NA CARNE BOVINA.....	26
2.5. ANÁLISE DE TRANSCRIPTOMA APLICADAS À BOVINOS.	27
3. REFERÊNCIAS.....	31
CHAPTER 2 -SKELETAL MUSCLE LNCRNA PROFILE ASSOCIATED WITH FATTY ACIDS IN BEEF CATTLE.....	39
ABSTRACT	39
CAPÍTULO 2 - LNCRNAS ASSOCIADO AO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO MÚSCULO ESQUELÉTICO DE BOVINOS DE CORTE.....	40
RESUMO	40
1. INTRODUCTION	41
2. MATERIAL AND METHODS	42
2.1. ANIMALS, SAMPLES COLLECTION AND FATTY ACIDS COMPOSITION	42
2.2. ANIMALS CLUSTERING BY AMOUNT OF FATTY ACIDS.....	44

2.3.	RNA-SEQUENCING	44
2.3.1.	QUALITY CONTROL AND READS ALIGNMENT.....	44
2.3.2.	DIFFERENTIAL EXPRESSION ANALYSIS OF LNCRNA	45
2.3.3.	IDENTIFICATION OF LNCRNA	45
3.	RESULTS.....	46
3.1.	PHENOTYPIC VARIATION BETWEEN GROUPS	46
3.2.	DIFFERENTIAL EXPRESSION ANALYSIS	48
3.2.1.	DIFFERENTIALLY EXPRESSED LONG NON-CODING RNAs (LNCRNA) ANNOTATED IN THE BOVINE GENOME REFERENCE (ARS.UCD 1.2)	48
3.2.2.	DIFFERENTIALLY EXPRESSED NOVEL TRANSCRIPT LENGTH ASSOCIATED WITH LONG GENIC NONCODING RNA ANNOTATED IN THE GENOME REFERENCE (ARS.UCD1.2)	49
3.2.3.	DIFFERENTIALLY EXPRESSED NOVEL LONG INTERGENIC NONCODING RNA (LINC RNAs)	53
3.3.	FUNCTIONAL ANALYSES	63
4.	DISCUSSION	69
4.1.	DE LNCRNAs IN C1 vs. C2	70
4.2.	DE LNCRNAs IN C1 vs. C3	72
4.3.	DE LNCRNAs IN C2 vs. C3	73
4.4.	DE LNCRNAs BETWEEN COMPARISONS	74
4.5.	ENRICHMENT ANALYSES	79
5.	CONCLUSION	80
6.	REFERENCES.....	81
7.	MATERIAL SUPPLEMENTAR	92
CHAPTER 3 - DIFFERENTIALLY EXPRESSED MESSENGER MRNA ISOFORMS IN BEEF CATTLE SKELETAL MUSCLE WITH DIFFERENT FATTY ACID PROFILES ...		97
ABSTRACT		97
CAPÍTULO 3 -ISOFORMAS DE MRNA MENSAGEIRO DIFERENCIALMENTE EXPRESSAS NO MÚSCULO ESQUELÉTICO DE BOVINOS COM DIFERENTES PERFIS DE ÁCIDOS GRAXOS		98
1.	INTRODUCTION.....	99

2.1.	DATA COLLECTION.....	100
2.2.	RNA SEQUENCING ANALYSIS	101
2.3.	RNA-SEQ QUANTIFICATION.....	102
2.3.1.	QUALITY CONTROL AND ALIGNMENT OF READS	102
2.3.2.	DIFFERENTIAL EXPRESSION ANALYSIS OF mRNA ISOFORMS BETWEEN FATTY ACIDS PROFILE	103
2.4.	FUNCTIONAL ENRICHMENT ANALYSIS AND GENE ANNOTATION	103
3.	RESULTS.....	104
3.1.	STATISTICS OF ALIGNMENT	104
3.2.	DIFFERENTIALLY EXPRESSED mRNA ISOFORMS ANNOTATED IN ARS.UCD1.2 GENOME REFERENCE.....	104
3.3.	DIFFERENTIALLY EXPRESSED NOVEL TRANSCRIPT LENGTHS ASSOCIATED WITH GENES ANNOTATED IN THE ARS.UCD1.2 GENOME REFERENCE.....	109
3.4.	ANNOTATION OF NOVEL DIFFERENTIALLY EXPRESSED TRANSCRIPT LENGTHS ASSOCIATED WITH NON-ANNOTATED GENES.....	111
3.5.	OVERLAPPING mRNA ISOFORMS ABUNDANCE IDENTIFIED AMONG THREE COMPARISONS (C1 vs. C2, C1 vs. C3 AND C2 vs. C3) OF THREE FA PROFILES.....	114
3.6.	FUNCTIONAL ENRICHMENT ANALYSIS	114
4.	DISCUSSION.....	119
5.	CONCLUSION	124
6.	REFERENCES.....	125
7.	SUPPLEMENTARY MATERIAL	132

LONG NON-CODING RNAS AND MRNAS ISOFORMS ASSOCIATED WITH THE FATTY ACID COMPOSITION OF MUSCLE TISSUE IN NELLORE BREED CATTLE

ABSTRACT – In recent decades, considerable attention has been paid to the increase in beneficial fatty acids (FA) present in foods of animal origin. Traits of economic importance in beef cattle, as well as the meat fatty acid profile, are polygenic in nature and are influenced by genetic and environmental factors. In this sense, the RNA sequencing (RNA-Seq) is a technique employed to examine the expression of functional candidate genes, allowing the identification of significant molecular mechanisms that lead to variations in pathways responsible for distinct tissue phenotypes. Therefore, the objective was to study the transcriptome of Nellore cattle muscle, aiming to identify differentially expressed long non-coding RNAs (lncRNAs) and mRNA isoforms associated with FAs, through RNA-Seq. For this purpose, 48 animals were sequenced and phenotyped to seven individual FAs: myristic, palmitic, stearic, oleic, linoleic, conjugated linoleic, alpha-linolenic; and seven FA groups: sum of saturated FAs, monounsaturated FAs, polyunsaturated FAs, $\omega 3$, $\omega 6$, PUFA/SFA ratio, and $\omega 6/\omega 3$ ratio. K-means analysis was employed to cluster 48 animals into three groups based on their FA patterns. Cluster C1 exhibited significantly higher proportions ($p \leq 0.05$) of polyunsaturated fatty acids (PUFA), including $\omega 3$, $\omega 6$, linoleic, and α -linolenic acids compared with C2 and C3. The proportion of monounsaturated fatty acids (MUFA) conjugated linoleic acid, and oleic acid in C2 and C3 was significantly ($p \leq 0.05$) higher compared to C1, while C3 showed significantly higher proportions ($p \leq 0.05$) of saturated fatty acids (SFA), myristic, palmitic, and stearic acids in comparison to the other clusters. For transcriptome analysis, a pairwise comparison experiment between two groups (C1 vs. C2, C1 vs. C3, and C2 vs. C3) was conducted. The results are presented in Chapters 2 and 3. In Chapter 2, a total of 265 long non-coding RNA (lncRNA) transcripts were differentially expressed (p -value < 0.01), being that 75, 113, and 78 identified in the C1 vs. C2, C1 vs. C3, and C2 vs. C3 comparisons, respectively. These lncRNAs were associated with genes belonging to the interferon, interleukin, G protein-coupled receptor, calponin, and apoptotic Bcl-2 families. Functional enrichment analysis revealed that many Gene Ontology (GO) terms were associated with the immune system in genetic profiles with higher saturated fatty acid (SFA) content (e.g, *SERPINE1*). In Chapter 3, a total of 65, 26, and 30 mRNA isoforms were differentially expressed (p -value < 0.01) in the C1 vs. C2, C1 vs. C3, and C2 vs. C3 comparisons, respectively. Additionally, differentially expressed isoforms, such as *C7-203*, *ADD1-204*, *OXT-201* and *RBM3-202*, were linked to genes affecting polyunsaturated fatty acid content in the C1 vs. C2 comparisons, while other mRNA isoforms important for saturated fatty acid content, such as

EGR1-201, *FOSB_mRNA1*, and *SERPINE1_mRNA1*, were identified in the C1 vs. C2 comparison. Moreover, functional enrichment analysis highlighted various terms associated with fatty acid metabolism, as well as terms related to oxidoreductase activity, lipid transport, and immune response. This thesis provided insights into potential lncRNA and mRNA isoform candidates associated with FA in beef cattle, contributing to a better theoretical understanding of biological processes associated with this feature. This information may contribute to future research focused into identification of genetic markers to be applied in genetic selection of animals with better FA profiles.

Keywords: Fatty Acids, genic lncRNAs, lincRNA, mRNA isoforms, RNA-Seq

RNAS LONGOS NÃO CODIFICANTES E ISOFORMAS DE MRNAS ASSOCIADAS À COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DO TECIDO MUSCULAR EM BOVINOS DA RAÇA NELORE

RESUMO – Nas últimas décadas, considerável atenção tem sido dada ao aumento de ácidos graxos (AG) benéficos presentes em alimentos de origem animal. Características de importância econômica na pecuária de corte, assim como o perfil de ácidos graxos da carne, são de natureza poligênica e influenciadas por fatores genéticos e ambientais. Nesse sentido, sequenciamento do RNA (RNA-Seq) é uma das abordagens utilizadas para identificar transcritos correspondentes a genes candidatos que provocam variações em vias metabólicas, resultando em diferentes fenótipos. Portanto, o objetivo foi estudar o transcriptoma do músculo de bovinos da raça Nelore, com o propósito de identificar RNAs longos não codificantes (lncRNAs) e isoformas de mRNAs diferencialmente expressas associados à AG, por meio do RNA-Seq. Para tanto, 48 animais foram sequenciados e fenotipados para sete indivíduos: mirístico, palmítico, esteárico, oleico, linoleico, linoleico conjugado, alfa-linolênico; e sete grupos: soma de AG saturados, monoinsaturados, poliinsaturados, $\omega 3$, $\omega 6$, razão PUFA/SFA e razão $\omega 6/\omega 3$). A análise K-means foi usada para agrupar os 48 animais em três clusters com base em seus padrões de AG. O cluster C1 apresentou proporções significativamente ($p \leq 0,05$) mais altas de AG poliinsaturado, incluindo $\omega 3$, $\omega 6$, linoléico e α -linolênico. A proporção de AG monoinsaturados, linoleico conjugado e oleico no C2 e C3 foi significativamente ($p \leq 0,05$) maior em relação ao C1, enquanto o C3 teve proporções significativamente ($p \leq 0,05$) maiores para AG saturado, mirístico, palmítico e esteárico em relação aos demais clusters. Para a análise do transcriptoma o experimento de comparação de dois grupos (C1 vs. C2, C1 vs. C3 e C2 vs. C3) foi usada. Os resultados foram apresentados nos capítulos 2 e 3. No capítulo 2, um total de 265 transcritos de lncRNAs foram diferencialmente expressos ($p\text{-value} < 0,01$), dos quais 75, 113 e 78 foram identificados entre as comparações C1 vs. C2, C1 vs. C3 e C2 vs. C3, respectivamente. Os lncRNAs foram associados a genes pertencentes a família de interferon, interleucina, receptores acoplados à proteína G, calponina e apoptóticas Bcl-2. A análise de enriquecimento funcional mostrou que muitos dos termos da ontologia genética (GO) estavam associados com o sistema imune para comparação (C2 vs. C3), que são grupos com maior conteúdo de SFA (p. ex. *IFN-TAU* and *IFNAG*). No capítulo 3, foram identificados 65, 26 e 30 isoformas de mRNA ($p\text{-value} < 0,01$) diferencialmente expressas entre as comparações C1 vs. C2, C1 vs. C3 e C2 vs. C3, respectivamente. As isoformas, *C7-203*, *ADD1-204*, *OXT-201* e *RBM3-202*, foram diferencialmente expressa in C1 em relação a C2 e são

relacionadas a genes que afetam o conteúdo de AG poliinsaturado. Enquanto na comparação C1 vs. C2, foram encontradas isoformas de mRNA relacionadas ao conteúdo de AG saturado como, por exemplo, *EGR1-201*, *FOSB_mRNA1*, e *SERPINE1_mRNA1*. Além disso, a análise do enriquecimento funcional aponta diversos termos associados ao metabolismo de ácidos graxos, oxirredutase, transporte lipídico e resposta imune. Esta Tese forneceu insights sobre potenciais candidatos a isoformas de lncRNA e mRNA associados à AG em bovinos de corte, contribuindo para uma melhor compreensão teórica dos processos biológicos associados a esta característica. Estas informações poderão contribuir para futuras pesquisas focadas na identificação de marcadores genéticos a serem aplicados na seleção genética de animais com melhores perfis de AG.

Palavra-Chave: Ácidos Graxos, lncRNAs, lincRNA, isoforms de mRNA, RNA-Seq

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

O interesse do consumidor em alimentos que oferecem excelentes propriedades nutricionais e são benéficos à saúde, têm aumentado. Os consumidores estão cada vez mais conscientes das relações entre dieta e bem-estar, dando origem a um mercado crescente de alimentos com benefícios comprovados, ou seja, com propriedades funcionais que auxiliem na prevenção de doenças e na manutenção da saúde (SCOLLAN et al., 2006).

A carne bovina é um alimento de elevado valor nutricional, sendo uma fonte importante de proteínas, aminoácidos essenciais, minerais (ferro, zinco e selênio) e vitaminas A, E, D e do complexo B (B1, B2, B6 e B12) (BRUGIAPAGLIA; LUSSIANA; DESTEFANIS, 2014; DALEY et al., 2010). Nas últimas décadas, considerável atenção tem sido dada ao aumento de ácidos graxos (AG) benéficos presentes em alimentos de origem animal, especialmente na carne e leite (GIVENS, 2010; PARODI, 2016; SALTER, 2013; SCOLLAN et al., 2006; SHINGFIELD et al., 2013). Os ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) n-3 presentes na gordura da carne, como o ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5 n-3) e o ácido docosaexaenoico (DHA; 22:6 n-3), demonstraram ter papéis importantes na redução do risco de doença cardiovascular, na prevenção do câncer, no desenvolvimento e manutenção dos tecidos neurais e visuais ao longo da vida (CALDER, 2004; LEAF et al., 2003).

Além dos benefícios dos AG n-3 na saúde humana, os isômeros do ácido linoléico conjugado (CLA), também têm chamado atenção devido à suas propriedades biológicas importantes para a manutenção da saúde (ALDAI et al., 2006). Alguns isômeros de CLA, por exemplo, os cis 9, trans 11 (c9, t11) e t10, c12 apresentam propriedades fisiológicas comprovadas, incluindo funções anticarcinogênicas, antiobesidade, antidiabetogênicas, antiaterogênicas, antiarterosclerose, imunomoduladora e melhora a formação óssea (PARK; PARIZA, 2007). As gorduras presentes em ruminantes é uma fonte natural abundante em c9, t11, principal isômero CLA, comumente conhecido como ácido rumênico (KRAMER et al., 1998). Este isômero é produzido principalmente nos tecidos por dessaturação Delta-9 do ácido vacênico (MUFA) (GRIINARI et al., 1999; NUERNBERG et al., 2005; PALMQUIST et al., 2004). Existem relatos de vinte e quatro diferentes tipos de isômeros de CLA presentes naturalmente em alimentos, especialmente de origem de animais ruminantes, incluindo leite, produtos laticínios e carne (SEHAT et al., 1998).

Nesse contexto, pesquisas em todo o mundo têm sido realizadas com o intuito de melhorar o perfil de AG na carne de ruminantes, e aumentar as concentrações de AG benéficos à saúde humana, como a proporção de AGPI (relação n-6/n-3) e reduzir ácidos graxos que podem atribuir algum efeito prejudicial, como o caso dos ácidos hipercolesterolêmicos (AGS como ácido palmítico e ácido mirístico e insaturados trans) (DUNNE et al., 2011; GULATI; GARG; SCOTT, 2005; LOTTENBERG, 2009; POUZO et al., 2015; SCOLLAN et al., 2006, 2014; SINCLAIR, 2007). Contudo, como a maioria das características economicamente importantes em bovinos de corte, a composição de AG é uma característica poligênica e sofre influência de fatores genéticos e ambientais. Além disso, melhorar o perfil de AG da carne bovina é desafiador devido a extensa lipólise e biohidrogenação de lipídios da dieta pela microbiota ruminal (AHMED et al., 2019; BERTON et al., 2016; FERRINHO et al., 2018). Para contornar isto, e conseguir melhor essa característica em médio e longo prazo tem sido aplicado estratégias alimentares (FERRINHO et al., 2018; MWANGI et al., 2021; NOGOY et al., 2022) combinadas à seleção genética (CHIAIA et al., 2017; ZHU et al., 2017a), buscando obter fontes de proteínas com perfil lipídico mais saudável para atender à crescente demanda dos consumidores mais exigentes e conscientes em relação a uma alimentação saudável e produção sustentável.

No ponto de vista genético, as características complexas são controladas por diversos genes e suas isoformas, que atuam em praticamente todos os níveis de regulação da expressão gênica e de proteínas que induzem as diferenças no perfil de ácidos graxos. Além disso, estudos relataram que a classe de RNAs reguladores, dentre eles, os RNAs longos não codificantes (lncRNAs), desempenham um papel crucial na regulação da expressão gênica eucariótica (DERRIEN et al., 2012; RAPICAVOLI et al., 2013; ZHU et al., 2017b). Vários estudos relatam a frequência de lncRNAs associados à susceptibilidade à mastite clínica (TONG et al., 2017), à resposta imune (GUPTA et al., 2019), mecanismos muscular em bovino (BILLEREY et al., 2014), a qualidade de carne em bovinos Nelore (Muniz et al., 2022). Atualmente, o conhecimento sobre os mecanismos moleculares para a expressão de fenótipos de qualidade da carne bovina regulados por eventos de *splicing* alternativo e regulação gênica envolvendo lncRNAs são ainda limitados, uma vez que se trata de uma característica de difícil mensuração influenciada por diferentes processos biológicos.

A utilização da ferramenta RNA-Seq tem tornado possível quantificar novas isoformas de genes expressos gerados através de eventos de “*splicing*” alternativo, além de auxiliar na identificação de possíveis lncRNA, de maneira mais precisa quando comparado com outras

metodologias de análise de expressão gênica, como análise da expressão gênica em série (SAGE, *Serial analysis of gene expression*) e microarranjos (CORCHETE et al., 2020; MALONE; OLIVER, 2011; TANG et al., 2011; WANG et al., 2009). Portanto, RNA-Seq é uma relevante ferramenta para esclarecer os mecanismos subjacentes de características complexas, permitindo uma melhor compreensão da regulação genética do fenótipo pertencente a características interesse (TIZIOTO et al., 2015). Os resultados deste trabalho podem melhorar o conhecimento biológico associado à composição dos AGs da carne bovina e fornecer conhecimento para auxiliar no desenvolvimento de estratégias de melhoramento da qualidade da carne.

5. CONCLUSION

This study identified mRNA isoforms of genes that acts on to the modulation of beef FA profile in the *Longissimus thoracis* of Nellore cattle finished in feedlot. Among these mRNA were highlighted, *C7-203*, *OXT-201*, *ADD1-204*, *RBM3-202* and *UBE2V1_mRNA1* as potential regulatory mRNAs of PUFA, $\omega 3$ and alpha-linolenic; *THRSP-201*, *ERG1-201* and *FABP4-201* as potential regulatory mRNAs for MUFA, SFA and palmitic acid. New mRNA isoforms associated with the content of $\omega 3$ (*CIDEC_mRNA1* and *UBE2V1_mRNA1*), MUFA (*ADIPQO_mRNA1*) and SFA (*SERPINE1_mRNA1*) were also identified. These mRNA isoforms were associated with biological mechanisms involved in immune response, inflammation, lipolysis, oxidation, fatty acid binding and adipogenesis. Our findings make a valuable contribution to the identification of potential biomarkers for complex and economically important traits. They highlight reliable genomic regions for future studies of genetic markers and can help in the selection of animals with a better profile of bovine fatty acids for human health.

6. REFERENCES

- ANDREWS S. (2010). **FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data**. <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/> Date last accessed: April 18, 2023.
- AJIBADE, A. A.; WANG, H. Y.; WANG, R. F. Cell type-specific function of TAK1 in innate immune signaling. **Trends in Immunology**, v. 34, n. 7, p. 307–316, 2013.
- AKSANOV, O.; GREEN, P.; BIRK, R. Z. BBS4 directly affects proliferation and differentiation of adipocytes. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 71, n. 17, p. 3381–3392, 2014.
- ATTAIX, D. *et al.* The ubiquitin–proteasome system and skeletal muscle wasting. **Essays in Biochemistry**, v. 41, p. 173–186, 1 out. 2005.
- AVDULOV, N. A. *et al.* Lipid binding to amyloid β -peptide aggregates: Preferential binding of cholesterol as compared with phosphatidylcholine and fatty acids. **Journal of Neurochemistry**, v. 69, n. 4, p. 1746–1752, 1997.
- BARASH, Y. *et al.* Deciphering the splicing code. **Nature**, v. 465, n. 7294, p. 53–59, maio 2010.
- BERTOLA, L. D. *et al.* Developmental expression of the alpha-skeletal actin gene. **BMC Evolutionary Biology**, v. 8, n. 1, 2008.
- BERTON, MARIANA P. *et al.* Gene expression profile of intramuscular muscle in Nellore cattle with extreme values of fatty acid. **BMC Genomics**, v. 17, n. 1, p. 1–16, 2016.
- BERTON, MARIANA PIATTO *et al.* Gene expression profile of intramuscular muscle in Nellore cattle with extreme values of fatty acid. **BMC Genomics**, v. 17, n. 1, p. 1–16, 1 jul. 2016.
- BERTON, MARIANA PIATTO *et al.* Integration analyses of structural variations and differential gene expression associated with beef fatty acid profile in Nellore cattle. **Animal Genetics**, v. 53, n. 5, p. 570–582, 10 out. 2022.
- BINDEA, G. *et al.* ClueGO: A Cytoscape plug-in to decipher functionally grouped gene ontology and pathway annotation networks. **Bioinformatics**, v. 25, n. 8, p. 1091–1093, 2009.
- BONGIORNI, S. *et al.* Transcriptomic investigation of meat tenderness in two Italian cattle breeds. **Animal Genetics**, v. 47, n. 3, p. 273–287, 2016.
- BOSOMWORTH, N. J. Indications for omega-3 fatty acid supplementation in prevention of cardiovascular disease. **Canadian Family Physician**, v. 69, n. 7, p. 459–468, 14 jul. 2023.
- BROWN, L. H.; MUTCH, D. M. Mechanisms underlying N3-PUFA regulation of white adipose tissue endocrine function. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 52, p. 40–46, 2020.
- BROWN, M. S.; GOLDSTEIN, J. L. The SREBP pathway: Regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor. **Cell**, v. 89, n. 3, p. 331–340, 1997.
- CALDER, P. C. *et al.* Dietary factors and low-grade inflammation in relation to overweight and obesity. **British Journal of Nutrition**, v. 106, n. S3, p. S5–S78, 2 dez. 2011.

- CAROLINA COSTA VERAS, A. *et al.* Supplementation with CO induces lipogenesis in adipose tissue, leptin and insulin resistance in healthy Swiss mice. **Journal of Functional Foods**, v. 106, n. January, p. 105600, 2023.
- CESAR, A. S. M. *et al.* Putative regulatory factors associated with intramuscular fat content. **PLoS ONE**, v. 10, n. 6, p. e0128350, 2015.
- DAWOOD, M. *et al.* Genome-wide association study for fatty acid composition in american angus cattle. **Animals**, v. 11, n. 8, p. 1–16, 2021.
- DEER, J. *et al.* Dietary models of insulin resistance. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 64, n. 2, p. 163–171, 2015.
- DEY, P. *et al.* Proteomics of hypothermic adaptation reveals that *rbm3* enhances mitochondrial metabolism and muscle stem-cell 2 differentiation. **bioRxiv**, p. 2023.05. 05.539524, 2023.
- DIDION, J. P.; MARTIN, M.; COLLINS, F. S. Atropos: Specific, sensitive, and speedy trimming of sequencing reads. **PeerJ**, v. 2017, n. 8, p. 1–19, 2017.
- EILANDER, A.; HARIKA, R. K.; ZOCK, P. L. Intake and sources of dietary fatty acids in Europe: Are current population intakes of fats aligned with dietary recommendations? **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 117, n. 9, p. 1370–1377, 19 set. 2015.
- FENG, J. *et al.* Omega-3 polyunsaturated fatty acids ameliorated inflammatory response of mammary epithelial cells and mammary gland induced by lipopolysaccharide. **Acta Biochimica et Biophysica Sinica**, v. 53, n. 9, p. 1142–1153, 2021.
- FLORESTA, G. *et al.* Adipocyte fatty acid binding protein 4 (FABP4) inhibitors. An update from 2017 to early 2022. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 240, n. July, p. 114604, 2022.
- FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE STANLEY, G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. **The Journal of biological chemistry**, v. 226, n. 1, p. 497–509, 1957.
- FONSECA, L. F. S. *et al.* Differences in global gene expression in muscle tissue of Nellore cattle with divergent meat tenderness. **BMC Genomics**, v. 18, n. 1, p. 1–12, 2017.
- FURUHASHI, Masato *et al.* Reduction of serum FABP4 level by sitagliptin, a DPP-4 inhibitor, in patients with type 2 diabetes mellitus. **Journal of lipid research**, v. 56, n. 12, p. 2372–2380, 2015
- FONSECA, L. F. S. *et al.* Gene expression profiling and identification of hub genes in Nellore cattle with different marbling score levels. **Genomics**, v. 112, n. 1, p. 873–879, 2020.
- FURUHASHI, Masato *et al.* Reduction of serum FABP4 level by sitagliptin, a DPP-4 inhibitor, in patients with type 2 diabetes mellitus. **Journal of lipid research**, v. 56, n. 12, p. 2372–2380, 2015
- GRIGORIADIS, G. *et al.* The Rel subunit of NF- κ B-like transcription factors is a positive and negative regulator of macrophage gene expression: Distinct roles for Rel in different macrophage populations. **EMBO Journal**, v. 15, n. 24, p. 7099–7107, 1996.

- GRIMM, H. *et al.* Regulatory potential of n -3 fatty acids in immunological and inflammatory processes. **British Journal of Nutrition**, v. 87, n. S1, p. S59–S67, 9 jan. 2002.
- HUA, X. *et al.* SREBP-2, a second basic-helix-loop-helix-leucine zipper protein that stimulates transcription by binding to a sterol regulatory element. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 90, n. 24, p. 11603–11607, 1993.
- HUANG, W. *et al.* Global transcriptome analysis identifies differentially expressed genes related to lipid metabolism in Wagyu and Holstein cattle. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–11, 2017.
- JUMP, Donald B. *et al.* Polyunsaturated fatty acids inhibit S14 gene transcription in rat liver and cultured hepatocytes. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 90, n. 18, p. 8454–8458, 1993.
- KENNEDY, A. *et al.* Saturated fatty acid-mediated inflammation and insulin resistance in adipose tissue: Mechanisms of action and implications. **Journal of Nutrition**, v. 139, n. 1, p. 1–4, 2009.
- KEOGH, K. *et al.* Effect of breed and diet on the M. longissimus thoracis et lumborum transcriptome of steers divergent for residual feed intake. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 1–12, 2023.
- KIM, D.; LANGMEAD, B.; SALZBERG, S. L. HISAT: A fast spliced aligner with low memory requirements. **Nature Methods**, v. 12, n. 4, p. 357–360, 2015.
- KORBECKI, J.; BAJDAK-RUSINEK, K. The effect of palmitic acid on inflammatory response in macrophages: an overview of molecular mechanisms. **Inflammation Research**, v. 68, n. 11, p. 915–932, 2019.
- KRAMER, J. K. G. *et al.* Evaluating acid and base catalysts in the methylation of milk and rumen fatty acids with special emphasis on conjugated dienes and total trans fatty acids. **Lipids**, v. 32, n. 11, p. 1219–1228, 1997.
- KVEIBORG, M. *et al.* Δ FosB Induces Osteosclerosis and Decreases Adipogenesis by Two Independent Cell-Autonomous Mechanisms. **Molecular and Cellular Biology**, v. 24, n. 7, p. 2820–2830, 2004.
- LEE, J.-Y. *et al.* Detection of superior genotype of fatty acid synthase in Korean native cattle by an environment-adjusted statistical model. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 30, n. 6, p. 765–772, 1 fev. 2017.
- LEE, Y. H. *et al.* Amyloid precursor protein expression is upregulated in adipocytes in obesity. **Obesity**, v. 16, n. 7, p. 1493–1500, 2008.
- LEE, Y.-S.; SHIN, D. Genome-Wide Association Studies Associated with Backfat Thickness in Landrace and Yorkshire Pigs. **Genomics & Informatics**, v. 16, n. 3, p. 59–64, 2018.
- LIU, J. *et al.* Ubiquitin E3 ligase Itch negatively regulates osteoblast function by promoting proteasome degradation of osteogenic proteins. **Bone and Joint Research**, v. 6, n. 3, p. 154–161, 2017.

- LUTHER, J. *et al.* Elevated Fra-1 expression causes severe lipodystrophy. **Journal of Cell Science**, v. 124, n. 9, p. 1465–1476, 2011.
- LUTHER, J. *et al.* Fra-2/AP-1 controls adipocyte differentiation and survival by regulating PPAR γ and hypoxia. **Cell Death and Differentiation**, v. 21, n. 4, p. 655–664, 2014.
- LUU, H. N. *et al.* A prospective study of dietary polyunsaturated fatty acids intake and lung cancer risk. **International Journal of Cancer**, v. 143, n. 9, p. 2225–2237, 2018.
- MADSEN, J. G. S. *et al.* iRNA-seq: computational method for genome-wide assessment of acute transcriptional regulation from total RNA-seq data. **Nucleic Acids Research**, v. 43, n. 6, p. e40–e40, 31 mar. 2015.
- MARINO, A. *et al.* ITCH deficiency protects from diet-induced obesity. **Diabetes**, v. 63, n. 2, p. 550–561, 2014.
- MARTINS, F. F.; AGUILA, M. B.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A. Eicosapentaenoic and docosapentaenoic acids lessen the expression of PPAR γ /Cidec affecting adipogenesis in cultured 3T3-L1 adipocytes. **Acta Histochemica**, v. 122, n. 2, p. 151504, 2020.
- MIN, Kyung-Ho; YANG, Won-Mo; LEE, Wan. Saturated fatty acids-induced miR-424–5p aggravates insulin resistance via targeting insulin receptor in hepatocytes. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 503, n. 3, p. 1587-1593, 2018.
- MUNIZ, M. M. *et al.* 24 Structural variants affecting mRNAs isoforms splice sites associated with marbling in Nellore cattle. **Journal of Animal Science**, v. 98, n. Supplement_4, p. 24–25, 30 nov. 2020.
- MUNIZ, M. M. M. *et al.* Identification of novel mRNA isoforms associated with meat tenderness using RNA sequencing data in beef cattle. **Meat Science**, v. 173, n. November 2020, 2021a.
- MUNIZ, M. M. M. *et al.* Small genetic variation affecting mRNA isoforms associated with marbling and meat color in beef cattle. **Functional and Integrative Genomics**, n. 0123456789, 2022.
- OH, Dong-yep *et al.* Identification of exonic nucleotide variants of the thyroid hormone responsive protein gene associated with carcass traits and Fatty Acid composition in korean cattle. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 27, n. 10, p. 1373, 2014.
- OLIVIERI, B. F. *et al.* Differentially expressed genes identified through RNA-seq with extreme values of principal components for beef fatty acid in Nelore cattle. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 138, n. 1, p. 80–90, 2021.
- PARK, E. *et al.* The Expanding Landscape of Alternative Splicing Variation in Human Populations. **The American Journal of Human Genetics**, v. 102, n. 1, p. 11–26, jan. 2018.
- PAUL SHANNON, 1 *et al.* Cytoscape: A Software Environment for Integrated Models. **Genome Research**, v. 13, n. 2498, p. 2498–2509, 2003.
- PRIETO-ECHAGÜE, V. *et al.* BBS4 regulates the expression and secretion of FSTL1 , a protein that participates in ciliogenesis and the differentiation of 3T3-L1. n. August 2017, p. 1–14, 2020.

- REYES, A.; HUBER, W. Alternative start and termination sites of transcription drive most transcript isoform differences across human tissues. **Nucleic Acids Research**, v. 46, n. 2, p. 582–592, 25 jan. 2018.
- ROBERTSON, M. D. *et al.* Acute effects of meal fatty acid composition on insulin sensitivity in healthy post-menopausal women. **British Journal of Nutrition**, v. 88, n. 6, p. 635–640, 2002.
- ROVADOSCKI, G. A. *et al.* Estimates of genomic heritability and genome-wide association study for fatty acids profile in Santa Inês sheep. **BMC Genomics**, v. 19, n. 1, p. 1–14, 2018.
- SAATCHI, Mahdi *et al.* Genome-wide association and prediction of direct genomic breeding values for composition of fatty acids in Angus beef cattle. **BMC genomics**, v. 14, n. 1, p. 1-15, 2013.
- SAITO, Y. *et al.* Cardiac-specific ITCH overexpression ameliorates septic cardiomyopathy via inhibition of the NF- κ B signaling pathway. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology Plus**, v. 2, n. May, p. 100018, 2022.
- SAUSVILLE, E.; CARNEY, D.; BATTEY, J. The human vasopressin gene is linked to the oxytocin gene and is selectively expressed in a cultured lung cancer cell line. **Journal of Biological Chemistry**, v. 260, n. 18, p. 10236–10241, 1985.
- SCHETTINI, G. P.; PERIPOLLI, E.; ALEXANDRE, P. A.; SANTOS, W. B. DOS; SILVA NETO, J. B. DA; *et al.* Transcriptomic profile of longissimus thoracis associated with fatty acid content in Nellore beef cattle. **Animal Genetics**, v. 53, n. 3, p. 264–280, 2022.
- SCHETTINI, G. P.; PERIPOLLI, E.; ALEXANDRE, P. A.; SANTOS, W. B. DOS; PEREIRA, A. S. C.; *et al.* Transcriptome Profile Reveals Genetic and Metabolic Mechanisms Related to Essential Fatty Acid Content of Intramuscular Longissimus thoracis in Nellore Cattle. **Metabolites**, v. 12, n. 5, p. 471, 23 maio 2022.
- SCHMIEDER, Robert; EDWARDS, Robert. Quality control and preprocessing of metagenomic datasets. **Bioinformatics**, v. 27, n. 6, p. 863-864, 2011.
- SHIMANO, H.; SATO, R. SREBP-regulated lipid metabolism: Convergent physiology-divergent pathophysiology. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 13, n. 12, p. 710–730, 2017.
- STÖHR, R. *et al.* ITCH modulates SIRT6 and SREBP2 to influence lipid metabolism and atherosclerosis in ApoE null mice. **Scientific Reports**, v. 5, p. 1–8, 2015.
- TIZIOTO, P. C. *et al.* Global liver gene expression differences in Nelore steers with divergent residual feed intake phenotypes. **BMC Genomics**, v. 16, n. 1, p. 1–14, 2015.
- TRAPNELL, C. *et al.* Differential gene and transcript expression analysis of RNA-seq experiments with TopHat and Cufflinks. **Nature Protocols**, v. 7, n. 3, p. 562–578, 2012.
- TRUCHIS, P. DE *et al.* Reduction in triglyceride level with N-3 polyunsaturated fatty acids in HIV-infected patients taking potent antiretroviral therapy: A randomized prospective study. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 44, n. 3, p. 278–285, 2007.

VALDÉS-HERNÁNDEZ, J. *et al.* Global analysis of the association between pig muscle fatty acid composition and gene expression using RNA-Seq. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 1–12, 2023.

VEDIN, I. *et al.* Effects of DHA- Rich n-3 Fatty Acid Supplementation on Gene Expression in Blood Mononuclear Leukocytes: The OmegAD Study. **PLoS ONE**, v. 7, n. 4, p. e35425, 24 abr. 2012.

WAN, Z. *et al.* Role of amyloid β in the induction of lipolysis and secretion of adipokines from human adipose tissue. **Adipocyte**, v. 4, n. 3, p. 212–216, 2015.

WANG, Miao *et al.* C1q/TNF-related protein-6 is associated with insulin resistance and the development of diabetes in Chinese population. **Acta Diabetologica**, v. 55, p. 1221-1229, 2018.

WANG, J. *et al.* Does Omega-3 Fatty Acid Supplementation Have Favorable Effects on the Lipid Profile in Postmenopausal Women? A Systematic Review and Dose–response Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. **Clinical Therapeutics**, v. 45, n. 1, p. e74–e87, 2023.

WEISBERG, S. P. *et al.* Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. **Journal of Clinical Investigation**, v. 112, n. 12, p. 1796–1808, 2003.

WÜRZNER, R. Deficiencies of the complement MAC II gene cluster (C6, C7, C9): Is subtotal C6 deficiency of particular evolutionary benefit? **Clinical and Experimental Immunology**, v. 133, n. 2, p. 156–159, 2003.

YANG, W. M. *et al.* Obesity-induced miR-15b is linked causally to the development of insulin resistance through the repression of the insulin receptor in hepatocytes. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 59, n. 11, p. 2303–2314, 2015.

YU, S. *et al.* Adipocyte-specific gene expression and adipogenic steatosis in the mouse liver due to peroxisome proliferator-activated receptor γ 1 (PPAR γ 1) overexpression. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 1, p. 498–505, 2003.

YU, X. *et al.* Egr-1 decreases adipocyte insulin sensitivity by tilting PI3K/Akt and MAPK signal balance in mice. **The EMBO Journal**, v. 30, n. 18, p. 3754–3765, 14 set. 2011.

ZHANG, H. *et al.* Abundance of solute carrier family 27 member 6 (: SLC27A6) in the bovine mammary gland alters fatty acid metabolism. **Food and Function**, v. 12, n. 11, p. 4909–4920, 2021.

ZHANG, H. M. *et al.* Longissimus dorsi muscle transcriptomic analysis of Yunling and Chinese simmental cattle differing in intramuscular fat content and fatty acid composition. **Genome**, v. 61, n. 8, p. 549–558, 2018.

ZHANG, S. *et al.* CircRNA Profiling Reveals an Abundant circBDP1 that Regulates Bovine Fat Development by Sponging miR-181b/miR-204 Targeting Sirt1/TRARG1. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 70, n. 44, p. 14312–14328, 2022.

ZHAO, G. *et al.* Anti-inflammatory effects of polyunsaturated fatty acids in THP-1 cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 336, n. 3, p. 909–917, 2005.

ZHAO, S. M. *et al.* Expression levels of candidate genes for intramuscular fat deposition in two Banna mini-pig inbred lines divergently selected for fatness traits. **Genetics and Molecular Biology**, v. 35, n. 4, p. 783–789, 2012.

ZHU, Q. *et al.* The spot 14 protein is required for de Novo lipid synthesis in the lactating mammary gland. **Endocrinology**, v. 146, n. 8, p. 3343–3350, 2005.

ZONG, G. *et al.* Intake of individual saturated fatty acids and risk of coronary heart disease in US men and women: two prospective longitudinal cohort studies. **BMJ**, v. 355, p. i5796, 23 nov. 2016.