

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO NA FASE DE CRIA SOBRE
O PROTEOMA DO PLASMA DE BEZERROS NELORE**

Luana Candelaria Ramos

Zootecnista

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO NA FASE DE CRIA SOBRE
O PROTEOMA DO PLASMA DE BEZERROS NELORE**

Luana Candelaria Ramos

Orientador: Prof. Dr. Rogério Abdallah Curi

Co-orientador: Prof. Dr. Guilherme Luis Pereira

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp,
Campus de Jaboticabal, como parte das
exigências para a obtenção do título de
Mestre em Ciência Animal

2026

R175e Ramos, Luana Candelaria
Efeito da suplementação na fase de cria sobre o proteoma do plasma de bezerros nelore / Luana Candelaria Ramos. -- Jaboticabal, 2026
90 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Rogério Abdallah Curi
Coorientador: Guilherme Luis Pereira

1. Bos Indicus. 2. Espectrometria de massa. 3. Nutrição Animal. 4. Proteômica. 5. Saúde animal. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos pelo autor(a).

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

Os resultados desta pesquisa fornecem uma compreensão inédita dos mecanismos moleculares do *creep-feeding* em bovinos Nelore, identificando proteínas plasmáticas como APOA1, APOA2 e GSN, que atuam como potenciais biomarcadores para monitorar o ganho de peso e a hipertrofia muscular. A pesquisa demonstra que a suplementação precoce funciona como programação metabólica, otimizando o metabolismo lipídico e proteico. Além dos ganhos produtivos, o estudo revela uma modulação do sistema imune pela atenuação da cascata do complemento, sugerindo menor estresse inflamatório na desmama. Esse conhecimento permite formular dietas de precisão que aumentam a eficiência de recursos e reduzem a necessidade de medicamentos, atendendo a demandas por sustentabilidade. Por fim, o trabalho consolida o uso de tecnologias ômicas na pecuária, fortalecendo a integração entre universidade e setor produtivo para gerar soluções que aumentam a competitividade da carne brasileira.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

The findings of this study provide unprecedented insights into the molecular mechanisms of creep-feeding in Nellore cattle. By identifying plasma proteins such as APOA1, APOA2, and GSN as potential biomarkers for weight gain and muscle hypertrophy, this research demonstrates that early supplementation acts as a metabolic programming tool, optimizing lipid and protein metabolism. Beyond productivity gains, the study reveals that creep-feeding modulates the immune system by attenuating the complement cascade, suggesting reduced inflammatory stress at weaning. This knowledge enables the formulation of precision diets that enhance resource efficiency and minimize the need for pharmacological interventions, addressing global sustainability demands. Ultimately, this work consolidates the application of omics technologies in livestock farming, strengthening the synergy between academia and the productive sector to bolster the competitiveness of the Brazilian beef industry.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO NA FASE DE CRIA SOBRE O PROTEOMA DO PLASMA DE BEZERROS NELORE

AUTORA: LUANA CANDELARIA RAMOS

ORIENTADOR: ROGERIO ABDALLAH CURICO ORIENTADOR: GUILHERME LUIS PEREIRA

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

Documento assinado digitalmente
 **ROGERIO ABDALLAH CURI**
Data: 20/02/2026 11:11:57-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. **ROGERIO ABDALLAH CURI** (Participação Virtual)
Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal / FMVZ UNESP Botucatu

Documento assinado digitalmente
 **RAFAEL TORRES DE SOUZA RODRIGUES**
Data: 20/02/2026 09:29:37-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. **RAFAEL TORRES DE SOUZA RODRIGUES** (Participação Virtual)
Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF) / Petrolina/PE

Documento assinado digitalmente
 **LUIS ARTUR LOYOLA CHARDULO**
Data: 20/02/2026 10:48:18-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. **LUIS ARTUR LOYOLA CHARDULO** (Participação Virtual)
Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal / FMVZ UNESP Botucatu

Jaboticabal, 19 de fevereiro de 2026.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Luana Candelaria Ramos, nascida em 30 de outubro de 2000, na cidade de Costa Rica, Mato Grosso do Sul, Brasil. Filha de Ana Beatriz Pereira Candelaria e Luis Carlos Pereira Ramos. Possui graduação em Zootecnia (2018-2023), pela Universidade Federal do Vale do São Francisco – UNIVASF, Campus Ciências Agrárias. Durante a graduação foi bolsista de iniciação científica sob orientação da Profa. Dra. Gisele Veneroni Gouveia. Em 2024, ingressou no Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, área de Genética e Melhoramento Animal, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal, sob a orientação do Prof. Dr. Rogério Abdallah Curi, sendo bolsista CAPES.

Nunca subestime seu potencial de fazer a diferença". – Autor desconhecido

À minha família por toda dedicação e incentivo.
Ao meu companheiro, Matheus, por toda paciência e compreensão.
Ao meu filho, Davi, por todo amor, alegria e inspiração.

Dedico este trabalho com carinho e gratidão.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela fé e força que me sustentaram em cada passo desta caminhada, por ser meu refúgio nos momentos de dificuldade e a fonte da minha perseverança.

Aos meus pais, Luis Carlos e Ana Beatriz, e ao meu padrasto, Josemar, meu alicerce. Sou grata por todo o amor incondicional, pelo sacrifício, incentivo e por acreditarem nos meus sonhos, mesmo quando pareciam distantes. Esta conquista é tanto de vocês quanto minha.

Ao meu companheiro, Matheus, por todo o amor, paciência, compreensão e apoio diante das ausências e do cansaço. Sua presença foi meu porto seguro.

Ao meu filho amado, Davi, minha maior inspiração e a razão pela qual busco ser melhor a cada dia. Seu sorriso foi meu alívio, e sua alegria, minha força. Que esta conquista te mostre que todos os sonhos são possíveis. Tudo isso é por e para você.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Rogério Curi, pela orientação, pela paciência e pela confiança. Seus ensinamentos, críticas e apoio foram essenciais para meu crescimento. Agradeço por cada reunião, cada correção e, sobretudo, por me inspirar a buscar sempre o meu melhor.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Guilherme Pereira, pelas valiosas contribuições que enriqueceram imensamente esta pesquisa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, pela oportunidade e pela estrutura oferecida; aos professores, pelos conhecimentos compartilhados dentro e fora da sala de aula; e aos funcionários da secretaria, pelo auxílio com as questões administrativas.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa ao longo do mestrado, e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio ao projeto por meio do Auxílio Pesquisa (processo nº 2023/10712-0).

Ao GenOmics Lab, pela amizade, pelas discussões científicas e pela ajuda nos momentos de dúvida.

Aos meus irmãos, Maria Beatriz, Maria Fernanda e Luis Augusto; às minhas tias, Marciana e Nilcelena; aos meus avós Carlos e Sérgio (*in memoriam*); o meu sogro Petronilo (*in memoriam*) e a toda minha família, pelo carinho, apoio e torcida constantes.

Aos meus amigos, em especial Isabella, Lucas, Joana, Daiane e Juliana, que, mesmo distantes, sempre estiveram presentes com palavras de incentivo, apoio e amizade.

Enfim, a todos que, de alguma forma, contribuíram para esta etapa da minha vida, deixo registrada minha mais profunda gratidão.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Médias e diferenças estimadas entre médias do peso corporal de vacas à gestação e aos 60 dias após o parto, do peso corporal de bezerros ao nascimento e aos 60 dias de idade e da produção e composição do leite aos 30 dias pós-parto	p. 54
Tabela 2 – Medidas de desempenho pré-desmama	p. 60
Tabela 3 – Medidas de carcaça coletadas por ultrassom no momento da desmama	p. 61
Tabela 4 – Marcadores bioquímicos do sangue medidos ao desmame	p. 62
Tabela 5 – Proteínas <i>down-regulated</i> ($\log_2\text{Fold Change} \geq [1,0]$; p ajustado $\leq 0,05$) no plasma de bovinos do grupo CF (tratamento) na comparação com o grupo SM (controle).....	p. 65
Tabela 6 - Proteínas <i>up-regulated</i> ($\log_2\text{Fold Change} \geq [1,0]$; p ajustado $\leq 0,05$) no plasma de bovinos do grupo CF (tratamento) na comparação com o grupo SM (controle)	p. 66
Tabela 7 – Processos biológicos enriquecidos (GO_BP) considerando as proteínas diferencialmente expressas entre os grupos SM e CF à desmama	p. 68
Tabela 8 - Vias metabólicas enriquecidas (KEGG) considerando as proteínas diferencialmente expressas entre os grupos SM e CF à desmama	p. 69
Tabela 9 - Vias metabólicas enriquecidas (Reactome) considerando as proteínas diferencialmente expressas entre os grupos SM e CF à desmama	p. 70

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Análise Discriminante de Quadrados Mínimos Parciais (PLS-DA)	p. 63
Figura 2 – Volcano Plot das proteínas diferencialmente abundantes presentes nos plasmas bovinos na comparação entre os grupos SM (controle) e CF (tratamento).....	p. 64
Figura 3 – Rede PPI das proteínas identificadas com diferença de abundância entre CF e SM	p. 67

SUMÁRIO

RESUMO	14
ABSTRACT	15
Capítulo 1 – Revisão da Literatura	13
1. Revisão Bibliográfica.....	13
1.1 Produção de carne no Brasil e melhoramento da raça Nelore	13
1.2 Desenvolvimento dos tecidos muscular, adiposo e conjuntivo	17
1.3 Suplementação de bezerros na fase de cria	20
1.4 Efeitos da dieta sobre a expressão gênica.....	21
1.5 Efeito do método de desmama sobre a saúde animal.....	23
1.6 Relação entre adipócitos e sistema imune	25
1.7 A importância do plasma na identificação de biomarcadores.....	26
1.8 Proteômica e proteômica Shotgun	28
1.9 Estudos de proteômica do plasma em animais de produção e em bovinos	30
1.10 Considerações finais	32
2. Referências.....	32
Capítulo 2 - Desvendando os impactos da suplementação precoce no proteoma plasmático de bezerros Nelore	48
RESUMO	48
ABSTRACT	49
1. Introdução	50
2. Material e métodos.....	52
3. Resultados	60
5. Conclusões	81
6. Referências.....	82

RESUMO

O *creep-feeding* é uma estratégia de suplementação nutricional destinada a bezerros lactentes, realizada por meio de cocho de acesso restrito, com o objetivo de promover maior peso ao desmame e melhorar o acabamento de carcaça para o abate. Além disso, pode contribuir para a saúde animal e redução da mortalidade. No entanto, são escassas as investigações sobre os efeitos desse manejo na expressão gênica e no metabolismo de bovinos da raça Nelore (*Bos indicus*), principal grupo genético do rebanho de corte brasileiro. Neste contexto, objetivou-se identificar diferenças na abundância de proteínas plasmáticas, nos processos biológicos e em vias metabólicas entre novilhos Nelore não suplementados e suplementados com dieta energético-proteica durante a fase de cria. Foram utilizados 96 bezerros machos, não castrados, filhos de quatro touros distintos, distribuídos em dois grupos: SM (sem *creep-feeding*, n = 48) e CF (com *creep-feeding*, n = 48). As análises proteômicas do plasma foram realizadas por meio da metodologia *label-free LC-MS/MS (shotgun)*, a partir de amostras de sangue coletadas aleatoriamente de seis animais por grupo. Os espectros obtidos foram processados no *software* PatternLab para identificação das proteínas totais. A análise PLS-DA foi empregada para verificar a separação estatística entre os grupos, e o teste t foi utilizado para a identificação das proteínas diferencialmente abundantes. As proteínas com diferença significativa foram submetidas à análise de interações proteína-proteína (PPI) no *software* STRING e à análise de enriquecimento funcional de processos biológicos e vias de sinalização no WebGestalt. Houve diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os grupos à desmama para peso corporal, ganho de peso médio diário, área de olho de lombo e concentração plasmática de ureia (CF > SM). Os grupos foram separados ($p < 0,05$) a partir dos dados de expressão de 84 proteínas identificadas, das quais 44 apresentaram diferenças significativas de abundância ($\log_2\text{Fold Change} \geq |1,0|$ e p ajustado $\leq 0,05$). As análises de PPI e de enriquecimento revelaram forte conectividade entre as proteínas diferencialmente expressas e suas participações em diversos processos biológicos e vias relacionadas ao metabolismo energético, lipídico, muscular e imunológico. Destacaram-se as vias "*Regulation of Insulin-like Growth Factor (IGF) transport and uptake by Insulin-like Growth Factor Binding Proteins (IGFBPs)*" (Reactome: R-BTA-381426) e "*Regulation of actin cytoskeleton*" (KEGG: bta04810), bem como as proteínas AHSG, APOA1, APOA2, SERPIND1, CFI, C5, C7, C9, CFB e GSN, que, direta ou indiretamente, contribuem para explicar as diferenças observadas no metabolismo e no crescimento e desenvolvimento muscular entre os grupos.

Palavras-chave: *Bos indicus*, *creep-feeding*, desempenho, nutrição, saúde animal.

ABSTRACT

Creep-feeding is a nutritional supplementation strategy for suckling calves, carried out through a restricted-access feeder, with the aim of promoting greater weaning weight and improving carcass finishing for slaughter. Additionally, it may contribute to animal health and reduced mortality. However, there is a lack of research on the effects of this management practice on gene expression and metabolism in Nellore cattle (*Bos indicus*), the main genetic group in the Brazilian beef herd. In this context, the objective was to identify differences in plasma protein abundance, biological processes, and metabolic pathways between unsupplemented and supplemented Nellore calves receiving an energy-protein diet during the suckling phase. Ninety-six intact male calves, offspring of four different sires, were divided into two groups: SM (without *creep-feeding*, n = 48) and CF (with *creep-feeding*, n = 48). Plasma proteomic analyses were performed using *label-free* LC-MS/MS (*shotgun*) on blood samples randomly collected from six animals per group. Spectra were processed using PatternLab software for total protein identification. PLS-DA was applied to verify statistical separation between groups, and the t-test was used to identify differentially abundant proteins. Significantly different proteins were subjected to protein-protein interaction (PPI) analysis using STRING and functional enrichment of biological processes and signaling pathways using WebGestalt. Significant differences ($p < 0.05$) were found between groups at weaning for body weight, average weight gain, *Longissimus dorsi* muscle area, and plasma urea concentration (CF > SM). The groups were separated ($p < 0.05$) based on the expression of 84 identified proteins, of which 44 showed significant abundance differences ($\log_2\text{Fold Change} \geq |1.0|$ and adjusted $p \leq 0.05$). PPI and enrichment analyses revealed strong connectivity among differentially expressed proteins and their involvement in various biological processes and pathways related to energy, lipid, muscle, and immune metabolism. Notable pathways included "*Regulation of Insulin-like Growth Factor (IGF) transport and uptake by Insulin-like Growth Factor Binding Proteins (IGFBPs)*" (Reactome: R-BTA-381426) and "*Regulation of actin cytoskeleton*" (KEGG: bta04810), as well as the proteins AHSG, APOA1, APOA2, SERPIND1, CFI, C5, C7, C9, CFB, and GSN, which, directly or indirectly, contribute to explain the observed differences in metabolism and in muscle growth and development between the groups.

Keywords: *Bos indicus*, *creep-feeding*, performance, nutrition, animal health.

Capítulo 1 – Revisão da Literatura

1. Revisão Bibliográfica

1.1 Produção de carne no Brasil e melhoramento da raça Nelore

O Brasil possui o maior rebanho comercial de bovinos do mundo, com aproximadamente 238,6 milhões de animais (IBGE, 2023), é o segundo maior produtor de carne, gerando mais de 10,6 milhões de toneladas equivalente carcaça (ABIEC, 2024). A bovinocultura representa o maior valor bruto da produção agropecuária nacional, com um faturamento anual total superior a R\$ 75 bilhões. Desde 2004 o país exporta para mais de 157 países e estas exportações acumularam valores próximos à US\$ 10,55 bilhões, além de representarem aproximadamente 13,8% da produção global de carne (ABIEC, 2024).

No Brasil, cerca de 83,42% da carne bovina é produzida em regime de pastagens, cuja área total é de cerca de 161 milhões de hectares (ABIEC, 2024), particularidade que melhora a competitividade do produto brasileiro devido ao menor custo de produção. Embora os números do setor da bovinocultura de corte do Brasil sejam expressivos e impactantes, sendo responsável por movimentar mais 8,2% do produto interno bruto (PIB) ou R\$ 895 bilhões (ABIEC, 2024), há possibilidades para aumentos expressivos. Apesar da alta produção, a produtividade ainda é baixa, indicando um grande potencial para melhora e expansão deste setor da economia.

Outros problemas da indústria de carne bovina no Brasil são a falta de uniformidade da idade de abate dos animais, da cobertura de gordura e da marmorização da carne, fatores estes que influenciam na maciez e palatabilidade do produto (Arrigoni *et al.*, 2004). Neste sentido, melhorar a eficiência produtiva e a qualidade da carne brasileira são ações estratégicas com benefícios econômicos e ambientais. A integração destes fatores é de fundamental importância na determinação das ações de sucesso e para consequente evolução do setor pecuário de corte.

Aproximadamente 80% do rebanho de bovinos de corte do Brasil é de animais zebuínos (*Bos indicus*), sendo a raça Nelore a mais explorada (Ferraz; Felicio, 2010). Animais desta raça são adaptados às condições de manejo a pasto, são resistentes à endo e ectoparasitas e à temperaturas elevadas, além de apresentarem alta habilidade materna, baixa taxa de metabolismo e menor exigência nutricional (Cundiff, 2004; Bianchini *et al.*, 2006; Canavez *et al.*, 2012). Contudo, diferentemente das raças

taurinas (*Bos taurus*), bovinos Nelore apresentam baixos índices produtivos, principalmente para características relacionadas ao desempenho e a qualidade da carne (Pereira *et al.*, 2015), como a maciez e a gordura entremeada. Em razão disso, características reprodutivas e produtivas do Nelore vêm sendo melhoradas por programas de seleção.

Mais recentemente, pesquisas acadêmicas que envolvem o melhoramento genético da raça têm focado no desenvolvimento e aplicação de biotecnologias, sobretudo ferramentas genômicas como meio para melhorar as acurácias das estimativas de valores genéticos de características comumente avaliadas, principalmente para touros jovens, o que pode levar a diminuição do intervalo de gerações e dos custos relacionados aos testes de progênie. Isto tem se dado, principalmente, pela utilização de painéis de marcadores de alta densidade para seleção por meio de valores genômicos (Hayes *et al.*, 2009; Wiggans *et al.*, 2017; Albuquerque; Fernandes Júnior; Carvalheiro, 2017). Esta abordagem tem sido utilizada no melhoramento de características complexas, de difícil mensuração e baixa herdabilidade, as quais não são efetivamente melhoradas por métodos clássicos de melhoramento genético baseados em fenótipo e genealogia, como, por exemplo, características relacionadas à eficiência alimentar, qualidade de carne e desempenho reprodutivo (Pryce *et al.*, 2012; Silva *et al.*, 2016; Chiaia *et al.*, 2017; Gordo *et al.*, 2018).

Buscando entender as bases genéticas e fisiológicas que governam estas características, grupos de pesquisa têm ido além, por meio da aplicação de análises de associação ampla do genoma (*Genome Wide Association Study* – GWAS), de expressão gênica (transcriptoma) (Santana *et al.*, 2014; Tizioto *et al.*, 2015; Weber *et al.*, 2016; Carvalho *et al.*, 2017), de abundância diferencial de proteínas (proteoma) (Baldassini *et al.*, 2018; Picard e Gagaoua, 2020a; Severino *et al.*, 2022; Santiago *et al.*, 2023) e metabólitos (metaboloma) (Cônsole *et al.*, 2021; Pedrini *et al.*, 2024; Estrada *et al.*, 2025).

1.2 Desenvolvimento dos tecidos muscular, adiposo e conjuntivo

Os tecidos musculares dos bovinos correspondem a aproximadamente 55% a 60% do peso total das carcaças, sendo que a hiperplasia das fibras musculares (aumento no número de fibras) é determinada durante o segundo trimestre da gestação (Picard; Gagaoua, 2020b). Por outro lado, no desenvolvimento pré-natal o

músculo esquelético possui menor prioridade na partição de nutrientes em comparação aos tecidos vitais (Long *et al.*, 2009; Meyer *et al.*, 2010). O período que compreende do início até a metade da gestação é particularmente crítico para o aumento do número de fibras musculares, um processo que ocorre exclusivamente durante a fase pré-natal (Du *et al.*, 2010). A formação das fibras musculares ocorre exclusivamente no estágio pré-natal e é classificada em miogênese primária e secundária. Em bovinos, as fibras primárias se formam durante o estágio embrionário, nos dois primeiros meses após a concepção, enquanto as fibras secundárias se desenvolvem na fase fetal, entre o segundo e o sétimo mês de gestação (Du *et al.*, 2010). Embora as fibras secundárias componham a maior parte do tecido muscular em animais adultos, as fibras primárias atuam como molde estrutural para a formação das fibras secundárias durante o desenvolvimento fetal (Swatland, 1973).

A massa muscular é determinada tanto pelo número (hiperplasia) quanto pelo tamanho (hipertrofia) das fibras musculares (Lawrence; Fowler, 2002; Cunningham, 2004). A hiperplasia ocorre exclusivamente durante o desenvolvimento pré-natal, de modo que o número total de fibras é definido no momento do nascimento. Por outro lado, a hipertrofia tem início ainda na fase pré-natal, mas se estende até o final do período puberal (Costa; Gionbelli; Duarte, 2021). Durante a miogênese, uma população de células miogênicas entra em estado quiescente, localizando-se adjacente às fibras musculares maduras, estas são denominadas células satélites. A proliferação e a fusão dessas células satélites às fibras existentes contribuem significativamente para a hipertrofia muscular no período pós-natal (Kuang *et al.*, 2007). Quando ativadas, por exemplo, mediante estímulos como elevadas concentrações de IGF-1 e citocinas, as fibras satélites podem se diferenciar em mioblastos (Junqueira; Carneiro, 2004). Considerando-se que essas células sofrem uma inativação progressiva ao longo da vida do animal, estímulos aplicados precocemente no período pós-natal tornam-se fundamentais, pois favorecem o desenvolvimento muscular, o que pode refletir positivamente no ganho de peso, no rendimento de carcaça e na área de olho de lombo.

Paralelamente, ao desenvolvimento do tecido do tecido muscular tem-se o adiposo, o qual tem início da metade para o final da gestação e, embora a adipogênese continue após o nascimento, a capacidade de gerar novos adipócitos diminui progressivamente com o avanço da idade (Du *et al.*, 2010). A síntese de tecido adiposo aumenta à medida que a formação de tecido muscular diminui, especialmente

após a puberdade, quando o crescimento muscular se reduz e o ganho de peso passa a ser predominantemente composto por gordura (Owens *et al.*, 1995). No entanto, o desenvolvimento do tecido adiposo ocorre de forma não uniforme, com variações em relação aos locais e momentos de deposição (Pethick *et al.*, 2004). A deposição lipídica na carcaça tem início nas regiões internas (abdominal, renal-inguinal e pélvica), seguida pelas deposições intermuscular, subcutânea e, por fim, intramuscular (marmoreio ou gordura entremeada). Estas deposições ocorrem em períodos específicos do desenvolvimento e, portanto, podem e devem ser estimuladas de forma estratégica.

A hiperplasia do tecido adiposo intramuscular (adipogênese) ocorre tanto no terço final da gestação quanto durante um período pós-natal de aproximadamente 250 dias. Assim, a adipogênese tem início em um período próximo ao da miogênese primária, persistindo por alguns meses após o nascimento, com subsequente redução gradual na formação de novas células (Du *et al.*, 2015).

Paralelamente à adipogênese, ocorre o processo de fibrogênese, no qual se originam os primeiros elementos do tecido conjuntivo, essencial para a estruturação e conexão entre células e órgãos. Tanto os adipócitos quanto os fibroblastos têm origem comum, derivando de uma matriz mesenquimal precursora (Du *et al.*, 2015). As células mesenquimais se diferenciam inicialmente em células progenitoras fibroadipogênicas, podendo então dar origem a fibroblastos ou adipócitos (Junqueira; Carneiro, 2019). Ambos os processos, adipogênese e fibrogênese, estão intimamente relacionados à estruturação muscular, influenciando diretamente características organolépticas da carne.

Estimular a proliferação de linhagens miogênicas, bem como direcionar a diferenciação predominante das células progenitoras fibroadipogênicas em adipócitos, é fundamental para a obtenção de carnes com maior qualidade, caracterizadas por maior teor de gordura entremeada e menor presença de tecido conjuntivo. Tais condições resultam em produtos com superior maciez e palatabilidade (Duarte *et al.*, 2013). Para isso, a adequada oferta de nutrientes, em quantidade e qualidade, durante períodos críticos da gestação e da fase pós-natal, é essencial, apresentando impactos relevantes tanto no desempenho animal, como maior peso ao desmame (Bohnert *et al.*, 2013), quanto na qualidade final da carcaça (Shoup *et al.*, 2015).

1.3 Suplementação de bezerros na fase de cria

Segundo Patel e Srinivasan (2011), uma nutrição adequada nos primeiros meses de vida exerce influência positiva sobre o metabolismo da glicose, por meio do acoplamento funcional do eixo somatotrópico. Desta forma, a oferta de dietas com elevado valor energético durante esse período crítico pode favorecer o desenvolvimento do tecido muscular, a deposição de gordura intramuscular (marmoreio), bem como o amadurecimento do trato reprodutivo, promovendo a melhoria da qualidade da carcaça de machos e a antecipação da puberdade em fêmeas. Embora o acetato seja reconhecido como um dos principais doadores de grupos acetil para a síntese de gordura intramuscular, a glicose proveniente de dietas ricas em concentrados também contribui significativamente para a deposição lipídica de marmoreio (Smith; Crouse, 1984). Assim, durante a fase de cria, o fornecimento estratégico de concentrados, especialmente aqueles ricos em amido (como grãos), pode estimular tanto a proliferação quanto o crescimento de adipócitos. Isso ocorre devido ao aumento da atividade do metabolismo glicídico, o que favorece o acúmulo de gordura intramuscular sem elevação proporcional da gordura visceral, beneficiando, portanto, a qualidade da carne e o rendimento de carcaça.

Adicionalmente, a elevação do teor proteico da dieta pode intensificar a deposição de gordura intramuscular. De acordo com Lopez *et al.* (2001), dietas com maiores níveis de proteína bruta aumentam a digestibilidade e a absorção intestinal do amido, elevando as concentrações plasmáticas de glicose e insulina, o que potencializa a lipogênese intramuscular ao favorecer a formação de precursores de ácidos graxos.

Práticas nutricionais como a suplementação alimentar durante a fase de cria (do nascimento ao desmame) induzem adaptações metabólicas distintas daquelas observadas em animais desmamados de forma convencional, aos 210 dias de idade (Scheffler *et al.*, 2014). Considerando a importância do desempenho produtivo e da qualidade da carne para a pecuária brasileira, estratégias de manejo voltadas à sua otimização têm sido progressivamente implementadas nos sistemas de produção nacionais, destacando-se, entre elas, a suplementação na fase de cria. O sistema de *creep-feeding* consiste no fornecimento de alimentação suplementar exclusiva, geralmente composta por grãos, aos bezerros durante o período de aleitamento (Stewart, 2017). Esta prática visa incrementar o ganho de peso ao desmame, reduzir

o tempo necessário para o acabamento da carcaça e, adicionalmente, proporcionar descanso nutricional para a matriz (Dantas *et al.*, 2010).

Moisá *et al.* (2013) observaram que bezerros submetidos ao *creep-feeding* com inclusão de amido apresentaram maior deposição de gordura na carcaça, em comparação com aqueles submetidos ao desmame precoce com suplementação semelhante e com animais desmamados de forma convencional. Corroborando esses achados, Stewart (2017) destaca que diversos estudos apontam para o aumento da gordura intramuscular em bovinos submetidos ao *creep-feeding*, sendo necessário manter dietas contendo grãos até o momento do abate para sustentar os ganhos.

Em meta-análise conduzida por Carvalho *et al.* (2019), abrangendo 18 estudos realizados entre 2007 e 2017, foi constatado que bezerros machos da raça Nelore, mantidos a pasto e suplementados entre os três e oito meses de idade, apresentaram um ganho de peso diário adicional de aproximadamente 200 g, totalizando 30 kg a mais ao desmame em relação aos animais não suplementados. Os autores concluíram que a suplementação melhora o desempenho pré-desmame, sendo que a resposta pode variar de acordo com o sexo dos animais, com os machos apresentando uma resposta superior à das fêmeas. O ganho de peso adicional (em comparação com bezerros não suplementados) teve uma resposta quadrática, ou seja, aumentou até um ponto máximo e depois tendeu a se estabilizar ou diminuir com níveis muito altos de suplemento. Machos e fêmeas atingiram o ganho de peso adicional máximo com um consumo de suplemento de 7,6 g/kg e 5,5g/kg de peso vivo, respectivamente. Por outro lado, em estudo conduzido com bovinos F1 Angus × Nelore por Ramírez-Zamudio *et al.* (2023) demonstrou que animais suplementados via *creep-feeding*, com 10 g de suplemento por kg de peso corporal (equivalente a 1% do peso corporal), apresentaram maiores pesos ao desmame, bem como espessuras superiores de gordura subcutânea e de gordura intramuscular (marmoreio), em comparação aos não suplementados.

1.4 Efeitos da dieta sobre a expressão gênica

A síntese de mRNA durante a expressão gênica é regulada, entre outros mecanismos, pela ligação de fatores de transcrição a sequências específicas do DNA, no chamado controle genético, e por modificações epigenéticas, como a metilação do DNA, alterações covalentes em histonas e a interação entre mRNAs e micro-RNAs (Menck; Sluys, 2017). É amplamente reconhecido que diversos organismos são

capazes de responder a estímulos ambientais e nutricionais, apresentando plasticidade fenotípica mediada por alterações nos padrões de expressão gênica (Zhang, 2015). Assim, o fenótipo dos animais pode ser influenciado por intervenções nutricionais por meio de mecanismos biológicos, o que indica que exposições dietéticas precoces podem impactar significativamente o crescimento e a saúde (McKay; Mathers, 2011). Neste contexto, a nutrigenômica emerge como o ramo da genômica que investiga os efeitos dos nutrientes sobre o genoma, transcriptoma, proteoma e metaboloma de células, tecidos ou organismos (Dolinoy; Jirtle, 2008; Simopoulos, 2010).

No âmbito do controle genético da expressão gênica, a atuação dos fatores de transcrição é dependente do tipo de tecido, do estágio de desenvolvimento e das condições fisiológicas do organismo. Dessa forma, a dieta exerce influência sobre a expressão desses fatores, que são proteínas-chave na regulação da expressão gênica. Tais fatores ligam-se a regiões reguladoras específicas do DNA (*enhancers* e *silencers*), atuando na ativação ou repressão da transcrição de múltiplos genes (Marques; Baldini, 2017), e têm papel fundamental na definição do transcriptoma de um tecido.

Diversos componentes dietéticos, como nutrientes, compostos bioativos e metabólitos, podem modular a expressão de fatores de transcrição. A disponibilidade de nutrientes, por exemplo, pode interferir na expressão de fatores relacionados ao metabolismo (McNeel; Mersmann, 2000). Um exemplo notório é o receptor ativado por proliferadores de peroxissoma alfa (PPAR- α), o primeiro fator de transcrição identificado como potencial receptor de ácidos graxos (Bensatti *et al.*, 2004). O PPAR- α regula uma ampla rede de genes associados ao metabolismo da glicose e dos lipídios. Em modelos animais, ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs) como ω -6 e ω -3 atuam como potentes indutores da oxidação de ácidos graxos e inibidores da lipogênese, possivelmente por meio da ativação de receptores PPAR (Rodriguez *et al.*, 1994; Juge-Aubry *et al.*, 1995; Power; Newsholme, 1997). Além disso, as famílias de fatores de transcrição PPAR e C/EBP (proteínas de ligação ao intensificador de CCAAT) desempenham funções cruciais na diferenciação de adipócitos e nos processos de lipogênese (Ladeira *et al.*, 2016).

Nos últimos anos, têm-se acumulado evidências de que estímulos ambientais, incluindo os nutricionais, podem alterar os padrões de metilação do DNA, influenciando a expressão gênica (Farias *et al.*, 2015; Farkas *et al.*, 2015; Day;

Kennedy; Sweatt, 2015). A metilação do DNA, também conhecida como *imprinting*, é considerada um componente essencial de uma complexa rede epigenética que modula o transcriptoma de determinadas populações celulares (Kucharski *et al.*, 2008). Uma nutrição adequada nos primeiros meses de vida pode promover positivamente o metabolismo da glicose e desencadear efeitos de longa duração sobre a saúde e o desempenho, por meio de alterações epigenéticas conhecidas como *imprinting* metabólico (Patel; Srinivasan, 2011). Estas alterações ocorrem sem mudanças na sequência do DNA e tendem a ocorrer durante fases críticas de reprogramação gênica, como os terços médio e final da gestação, períodos em que há intensa formação de tecidos musculares e adiposos, bem como durante os primeiros meses após o nascimento (até aproximadamente 250 dias de idade) (Arthington; Moriel, 2014; Zhang, 2015).

Há evidências crescentes de que nutrientes podem modificar os padrões de metilação do DNA, tanto em escala global quanto em *loci* específicos (Jousse *et al.*, 2011; Dudley *et al.*, 2011; Altmann *et al.*, 2012). Três mecanismos principais são reconhecidos pelos quais a nutrição influencia a metilação do DNA: (1) por meio do fornecimento de substratos necessários para a metilação adequada; (2) pela oferta de cofatores que modulam a atividade das DNA metiltransferases (DNMTs); e (3) pela regulação direta da expressão dessas enzimas. A S-adenosilmetionina (SAM), metilador universal para as metiltransferases, é sintetizada no ciclo da metionina a partir de diversos precursores alimentares (McKay; Mathers, 2011; Feil; Fraga, 2012). Esses precursores contribuem para a síntese de SAM, e sua disponibilidade insuficiente pode resultar em hipometilação global do DNA, enquanto o excesso pode causar hipermetilação (Zhang, 2015). As DNMTs requerem SAM como cofator para plena atividade, e compostos presentes na dieta podem modular sua concentração intracelular e, conseqüentemente, a atividade enzimática. Além da regulação indireta via SAM, diversos outros componentes dietéticos também podem afetar diretamente a expressão ou funcionalidade das DNMTs (Mukherjee *et al.*, 2015).

1.5 Efeito do método de desmama sobre a saúde animal

A percepção e a opinião do consumidor têm se tornado questões centrais para a indústria agropecuária contemporânea. Esse cenário impõe desafios crescentes aos produtores, dificultando a manutenção de métodos tradicionais de produção. Tanto o meio científico quanto os consumidores têm demonstrado uma tendência em

promover o bem-estar animal, o que impulsiona a necessidade de estudos voltados ao desenvolvimento de estratégias de manejo de baixo estresse, também em sistemas de criação de bezerros de corte. Diversas pesquisas investigaram diferentes métodos de desmame, evidenciando as vantagens do manejo com baixo estresse sobre os parâmetros produtivos subsequentes (Haley *et al.*, 2005; Enríquez *et al.*, 2010; Bailey *et al.*, 2016).

O método tradicional de desmame, caracterizado pela separação abrupta dos bezerros para ambientes distintos das mães, impõe inúmeros desafios aos animais. Lefcourt e Elsasser (1995) foram precursores ao mensurar os níveis de catecolaminas em bezerros submetidos ao desmame abrupto, demonstrando os efeitos fisiológicos negativos decorrentes do estresse gerado por essa prática.

A melhoria do desempenho e da saúde dos bezerros de corte tem sido um fator motivador para a adoção de métodos alternativos de desmame. Sabe-se que o estresse nessa fase pode comprometer o sistema imunológico (Carroll; Forsberg, 2007; O'Loughlin *et al.*, 2011), sendo este um dos principais fatores relacionados ao surgimento de enfermidades (Edwards, 2010) e ao aumento da taxa de mortalidade (Lefcourt; Elsasser, 1995; Lynch *et al.*, 2010). A resposta hormonal provocada pelo estresse materno-separativo, sobretudo a liberação de hormônios adrenais, motivou investigações sobre seus efeitos imunossupressores. Nesse contexto, o estudo conduzido por Lynch *et al.* (2010) destaca-se por concluir que estratégias de desmame que minimizem o estresse são fundamentais para preservar a função imunológica dos bezerros. A ocorrência de estresse e doenças, e a consequente necessidade de intervenções ao longo da vida produtiva, podem comprometer o desempenho animal e a qualidade final da carne.

O estresse associado ao desmame inclui, além da separação materna, a exposição a novos ambientes e a alterações na dieta (Carroll; Forsberg, 2007). Entre as práticas que se mostraram eficazes na mitigação desses efeitos estão a adoção de calendários de vacinação e transporte, bem como a suplementação energética (Richeson *et al.*, 2009; Silva *et al.*, 2018). Durante a fase de cria, a dieta representa um ponto estratégico para os produtores, com vistas ao aumento do peso ao desmame e à maximização do valor econômico dos bezerros na comercialização da carcaça. Estes objetivos estão condicionados à manutenção da saúde dos animais e ao consumo adequado de concentrado antes da transição para a etapa seguinte da produção.

Além disso, o momento do desmame e o estado nutricional do bezerro nessa fase podem influenciar diretamente a deposição de tecido adiposo intramuscular, fator relevante para a qualidade da carne (Moisés *et al.*, 2013). Assim, os efeitos do estresse de desmame podem se estender até a qualidade da carcaça, reforçando a importância de pesquisas voltadas a estratégias de manejo que considerem essa fase crítica do desenvolvimento animal.

1.6 Relação entre adipócitos e sistema imune

O tecido adiposo, tradicionalmente conhecido por sua função de armazenar energia na forma de triacilglicerídeos, tem sido recentemente reconhecido como um órgão metabolicamente ativo, com papel relevante na regulação de processos fisiológicos diversos, incluindo o sistema imunológico (Fonseca-Alaniz *et al.*, 2007). Embora os adipócitos sejam os principais constituintes desse tecido, ele também abriga células imunológicas, células do estroma vascular, células em processo de diferenciação e terminações nervosas, todas influenciadas pela dinâmica do tecido adiposo (Ahima; Flier, 2000).

A relação entre o tecido adiposo e a imunidade tem sido cada vez mais elucidada, especialmente pela capacidade desse tecido de secretar biomoléculas em resposta a estímulos ambientais, como a dieta. Essas moléculas bioativas, conhecidas como adipocinas, desempenham um papel essencial na modulação da resposta imune. Entre as principais adipocinas destacam-se o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), a interleucina-6 (IL-6), a resistina e a adiponectina. Essas substâncias não atuam apenas localmente, mas exercem efeitos sistêmicos, influenciando diretamente o funcionamento do sistema imunológico (Luo; Liu, 2016). Em determinadas condições, a liberação excessiva de adipocinas pró-inflamatórias pode induzir um estado inflamatório crônico de baixo grau, que compromete a função leucocitária e prejudica a resposta imunológica eficaz (Popko *et al.*, 2010).

A resistina tem sido associada à resistência à insulina e à ativação de vias inflamatórias, contribuindo para a redução da competência imunológica (Tripathi *et al.*, 2020). Em contrapartida, a adiponectina, considerada uma adipocina de ação anti-inflamatória e reguladora da sensibilidade à insulina, exerce efeitos benéficos sobre a resposta imune. Evidências demonstram que essa adipocina reduz a reatividade de linfócitos T, inibe a produção de linfócitos B, limita a adesão de monócitos e a ativação

do receptor TLR4, envolvido na indução de mediadores inflamatórios, além de promover a síntese de compostos anti-inflamatórios (Ghigliotti *et al.*, 2014).

Ademais, a adiponectina desempenha um papel na adaptação metabólica voltada ao sistema imune inato, modulando a polarização e a plasticidade dos macrófagos, a atividade de células linfocitárias com características da imunidade inata e outras funções de defesa primária (Luo; Liu, 2016). Pecoraro *et al.* (2017) demonstraram que a expressão da adiponectina estava reduzida em indivíduos com imunodeficiência comum variável, uma condição caracterizada por níveis séricos baixos de IgG, IgA e/ou IgM, o que evidencia sua relação com a produção deficiente de anticorpos.

1.7 A importância do plasma na identificação de biomarcadores

Embora grande parte dos estudos sobre biomarcadores associados ao desempenho esteja direcionada para análise do tecido muscular, biofluidos como o plasma sanguíneo têm despertado crescente interesse nas abordagens proteômicas (Boudon *et al.*, 2020; Idowu *et al.*, 2024). Isso porque, o sangue, pode ser coletado *in vivo*, sendo uma matriz biológica rica em proteínas e de fácil acesso, atendendo aos critérios práticos para a implementação de perfis de biomarcadores em rotinas de monitoramento e realidade de fazendas.

Alterações nas abundâncias relativas de proteínas plasmáticas podem refletir o estado fisiológico ou patológico dos animais, oferecendo uma alternativa promissora para predição de características produtivas de desempenho e de qualidade da carne. Além do mais, dentre as principais vantagens do uso de biomarcadores plasmáticos reside na natureza minimamente invasiva da coleta, especialmente quando comparada às amostragens de tecido muscular, que exigem biópsia ou avaliação *post mortem*. Nesse sentido, a utilização do sangue, particularmente da fração plasmática, representa uma estratégia prática e eficaz para predição de características produtivas em animais vivos (Surinova *et al.*, 2011).

No contexto da produção animal, ainda são relativamente escassos os estudos que exploram biomarcadores plasmáticos, porém, os resultados disponíveis demonstram um potencial significativo. Grubbs *et al.* (2016) avaliaram a eficiência alimentar, demonstrando que a identificação de biomarcadores plasmáticos é uma ferramenta estratégica para melhorar a produção de proteína animal de alta qualidade, contribuindo para atender à crescente demanda global. Esses autores evidenciaram

que proteínas presentes no soro são fontes valiosas de biomarcadores potenciais para eficiência alimentar, além de elucidarem vias metabólicas diferenciadas entre animais de alta e baixa eficiência, demonstrando, sua utilização *in vivo* e a sua aplicação na seleção de animais com características desejadas ao sistema de produção. Boudon *et al.* (2020) demonstraram que biofluidos de bovinos, acessíveis *in vivo*, podem ser utilizados para a identificação de biomarcadores associados à maciez da carne.

O uso de biomarcadores plasmáticos tem se expandido para diferentes aplicações dentro da produção animal. Izquierdo *et al.* (2025), por exemplo, demonstraram que a análise do plasma de pares de vacas e seus bezerros permitiu monitorar, de forma precisa, a resposta inflamatória dos neonatos induzida pela vacinação, tanto antes quanto durante e após o desafio imunológico. De forma semelhante, Jamioł *et al.* (2024) relataram que as concentrações de PLAC1 no plasma de vacas prenhes foram significativamente superiores em comparação com animais não prenhes, sendo que a expressão tecidual da proteína foi maior na porção fetal da placenta do que na porção materna. Esses achados indicaram que a detecção de PLAC1 no plasma, já no primeiro mês de gestação, pode ser um marcador promissor para diagnóstico precoce de prenhez em bovinos.

Metabólitos plasmáticos têm sido amplamente utilizados como indicadores para compreender sua relação com o metabolismo e o desempenho produtivo dos animais (Castillo *et al.*, 2006). Entre eles, a ureia plasmática se destaca por ser influenciada por uma ampla gama de fatores inter-relacionados, como o teor de proteína da dieta e a degradação do tecido muscular, especialmente quando há insuficiência no suprimento energético (Puppel; Kuczyńska, 2016). A mobilização de proteínas do músculo esquelético libera aminoácidos glicogênicos, que são utilizados na síntese de glicose e, conseqüentemente, na geração de ureia durante esse processo (Ingvarsen *et al.*, 2003)

Lipídios, incluindo ácidos graxos, esteróis, fosfolipídios e triglicerol, desempenham funções essenciais no organismo, atuando como principais moléculas de armazenamento de energia (Ertunc e Hotamışlıgil, 2016). O metabolismo lipídico compreende processos de degradação e síntese de ácidos graxos, triglicerol, colesterol e corpos cetônicos, os quais são fundamentais para a produção de energia, manutenção da integridade das membranas celulares e síntese de hormônios (Rui, 2014; Ertunc e Hotamışlıgil, 2016). O aumento de triglicerol plasmático em bovinos está associado a um estado de lipogênese ativa e potencial para deposição de

gordura, especialmente em animais jovens sob suplementação estratégica (Ramírez-Zamudio, et al. 2023). Desta forma, em bovinos de corte em crescimento, maiores níveis de triglicerol circulantes pode ser um indicador de que o metabolismo está sendo programado para uma maior deposição de gordura na carcaça, como a gordura de cobertura e o marmoreio.

A haptoglobina é uma alfa-globulina considerada uma das principais proteínas de fase aguda (PFA) em ruminantes (Ceciliani; Giordano; Spagnoli, 2012). As PFA são sintetizadas principalmente pelos hepatócitos, bem como por tecidos periféricos, em resposta à ativação do sistema imune mediada por citocinas pró-inflamatórias, como interleucina-1 β (IL-1 β), interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), desencadeada por processos infecciosos, inflamatórios ou traumáticos (Saco; Bassols, 2023). Nesse contexto, a haptoglobina plasmática se destaca como um biomarcador sensível e confiável para o diagnóstico e o prognóstico de diversas enfermidades em bovinos, incluindo mastite, metrite, pneumonia, síndrome do fígado gorduroso, peritonite, enterite e endocardite (Ceciliani; Giordano; Spagnoli, 2012; Wollowski *et al.*, 2021; Saco; Bassols, 2023).

Em suma, a utilização do plasma como fonte de biomarcadores representa uma abordagem inovadora e promissora na ciência animal, especialmente no que tange à avaliação de desempenho produtivo, ao monitoramento do estado fisiológico dos animais e à predição da qualidade da carne. Apesar dos avanços, a consolidação desses biomarcadores na prática zootécnica ainda requer estudos robustos de validação em diferentes sistemas produtivos e condições ambientais.

1.8 Proteômica e proteômica Shotgun

De forma conceitual, proteômica é o estudo abrangente do conjunto completo de proteínas expressas por um organismo, tecido ou célula em determinado estado fisiológico. Representa uma extensão funcional da genômica, fornecendo informações críticas sobre expressão gênica, tradução proteica e interações moleculares (Petracci; Cavani, 2012). Ao permitir a caracterização das vias bioquímicas e dos processos metabólicos, a proteômica tornou-se uma ferramenta importante na busca por biomarcadores aplicáveis à ciência animal (Causey *et al.*, 2018).

Dentre as abordagens atualmente empregadas, destacam-se a proteômica direcionada acoplada à diluição isotópica, especialmente via *Parallel Reaction Monitoring* (PRM), tem se consolidado como uma estratégia de alta sensibilidade e

especificidade para quantificação absoluta de proteínas sem a necessidade de anticorpos (Peterson *et al.*, 2012). Essa técnica, baseada em espectrometria de massas de alta resolução, tem sido aplicada em biociências, incluindo a nutrição, a fisiologia animal e, mais recentemente, a ciência da carne (Borràs; Sabidó, 2017; Bourmaud; Gallien; Domon, 2016; Shi *et al.*, 2016).

A eletroforese bidimensional (2-DE) foi uma das primeiras metodologias amplamente empregadas na análise proteômica (Görg; Weiss; Dunn, 2004, Picard *et al.*, 2017). Essa técnica consiste na separação das proteínas em duas dimensões ortogonais: primeiramente, pela diferença de ponto isoelétrico (pI) das proteínas, por meio da focalização isoelétrica (IEF), e, em seguida, pela massa molecular, por meio da eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) (Görg; Weiss; Dunn, 2004). Dessa forma, cada proteína migra para uma posição específica no gel, formando um padrão de spots que representam diferentes proteínas ou isoformas. Após a separação, os spots são excisados manualmente, seguidos por digestão enzimática (geralmente com tripsina) e posterior identificação dos peptídeos via espectrometria de massas. Apesar de ter sido um marco no desenvolvimento da proteômica, a 2-DE apresenta limitações significativas, como baixa eficiência na detecção de proteínas muito hidrofóbicas (como proteínas de membrana), de baixa abundância, ou que possuam extremos de pH ou massa molecular. Além disso, é uma técnica relativamente trabalhosa, de baixa capacidade de automação e sensível a variações experimentais (Magdeldin *et al.*, 2014).

Por outro lado, destaca-se atualmente a proteômica *shotgun*, uma das metodologias mais poderosas e eficientes para análise proteômica em larga escala (Lozano; Armengaud, 2024). A proteômica *shotgun* difere fundamentalmente das técnicas baseadas em eletroforese bidimensional (2-DE), pois não requer separação prévia em gel. Essa abordagem, também conhecida como *bottom-up*, baseia-se na digestão enzimática das proteínas diretamente nos extratos proteicos, gerando uma mistura complexa de peptídeos. Esses peptídeos são, então, separados por cromatografia líquida de alta eficiência (LC) e identificados por espectrometria de massas, geralmente utilizando a técnica LC-MS/MS (Lereim *et al.*, 2016). Dentre suas principais vantagens estão a capacidade de identificar milhares de proteínas em uma única análise, bem como detectar proteínas hidrofóbicas, de baixa abundância e com extremos de pH proteínas que frequentemente são sub-representadas em métodos baseados em gel (Magdeldin *et al.*, 2014).

A transição da proteômica tradicional baseada em 2-DE para abordagens *shotgun* representa uma revolução metodológica na ciência em geral, o que inclui a ciência que estuda a produção animal. A superação das limitações associadas à resolução de proteínas complexas torna a proteômica *shotgun* a estratégia preferencial para investigações globais do proteoma plasmático, muscular (Görg; Weiss; Dunn, 2004; Magdeldin *et al.*, 2014) ou de qualquer outro tecido de interesse. Essa abordagem tem sido amplamente aplicada à cadeia produtiva da carne (Ouali *et al.*, 2013; Drabovich *et al.*, 2015).

1.9 Estudos de proteômica do plasma em animais de produção e em bovinos

A utilização da proteômica na ciência da carne promoveu avanços significativos na compreensão dos mecanismos biológicos envolvidos e na descoberta de biomarcadores associados a atributos de qualidade (Picard; Gagaoua, 2020). Recentemente, métodos quantitativos de proteômica (Wu *et al.*, 2020) começaram a explorar, de forma mais abrangente, as centenas de biomarcadores relacionados à maciez (Picard *et al.*, 2018) e ao marmoreio (Baik *et al.*, 2017; Ceciliani *et al.*, 2018) previamente identificados por meio de ensaios transcriptômicos e proteômicos de alto rendimento a partir de amostras de músculo ou carne, com vistas ao desenvolvimento de métodos aplicáveis tanto em animais vivos quanto abatidos.

Por outro lado, estudos que utilizam o plasma como amostra para análise proteômica são mais escassos e recentes, porém, os resultados são de grande importância (Andersen *et al.*, 2021). Tome-se, o estudo de Idowu *et al.* (2024), em que a proteômica plasmática foi empregada para investigar vias metabólicas e proteínas-chave associadas a fenótipos divergentes de ganho médio de peso residual (GMPR) em novilhos de corte mestiços, encontrando vias metabólicas importantes associadas ao fenótipo em estudo, proporcionando *insights* valiosos sobre os fundamentos moleculares da eficiência alimentar em bovinos de corte mestiços.

De maneira similar, Ghaffari *et al.* (2020) utilizaram uma abordagem de proteômica quantitativa, combinada com análises bioinformáticas, para investigar alterações no proteoma plasmático de vacas leiteiras durante o período de transição (intervalo de tempo que compreende aproximadamente três semanas antes até três semanas após o parto). O supercondicionamento periparto foi associado a modificações significativas nas vias proteicas relacionadas à resposta inflamatória

aguda e à regulação das cascatas do complemento e da coagulação, ressaltando a importância do status metabólico e imunológico das vacas nesse período crítico. Wang; Xu; Han, (2022) avaliaram biomarcadores plasmáticos de vacas leiteiras com alta concentração de proteína do leite a longo prazo, buscando elucidar o papel das proteínas plasmáticas na síntese de proteína do leite. Os dados demonstraram diferenças relevantes nos hormônios plasmáticos, parâmetros bioquímicos e perfil proteômico entre vacas com distintas concentrações de proteína do leite, indicando que o fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1) promoveu o aumento da síntese proteica, associada à ativação da via de sinalização mTOR.

Reolon *et al.* (2024) avaliaram os mecanismos moleculares responsáveis pela resposta ao estresse térmico, aspecto essencial para otimizar a produção, reprodução, saúde e bem-estar dos animais. O estudo visou identificar respostas biológicas precoces e potenciais biomarcadores envolvidos tanto na resposta quanto na recuperação do estresse térmico em bovinos de corte adaptados a condições tropicais, por meio da análise proteômica do plasma sanguíneo. Dentro do mesmo tema, de De Freitas *et al.* (2024) investigaram, por meio do estudo do proteoma plasmático, processos biológicos, vias metabólicas e potenciais biomarcadores relacionados à termotolerância em bovinos da raça Caracu, adaptados ao clima tropical.

O estudo de Boudon *et al.* 2020 foi um dos primeiros a utilizar a abordagem de proteômica *shotgun* para identificar biomarcadores no plasma associados à maciez da carne. Os achados deste estudo evidenciaram a detecção de 21 proteínas cuja abundância no plasma apresentou relação com a maciez do *Longissimus*, sendo que nove delas foram consideradas robustas, o que permitiu validar e expandir a lista de biomarcadores relacionados à maciez no músculo *Longissimus*. Dessa maneira, os biomarcadores validados poderão ser utilizados em abordagens diagnósticas para avaliar ou prever o potencial de maciez em bovinos vivos, representando um avanço crucial para o desenvolvimento de ferramentas não invasivas para a avaliação da qualidade da carne.

Em outro estudo recente, a proteômica quantitativa *shotgun* (LC-MS/MS) foi aplicada para identificar biomarcadores candidatos para a qualidade da carne, diferencialmente abundantes entre dois grupos divergentes quanto à textura da carne (alta e baixa maciez), utilizando amostras de plasma e músculo provenientes de touros jovens reprodutores da raça Limousin (Zhu *et al.*, 2021). A aplicação da proteômica

shotgun permitiu a identificação de um total de 188 proteínas no plasma e 546 no músculo, expandindo significativamente o conhecimento atual sobre os proteomas plasmático e muscular de um músculo de importância comercial.

Esses estudos demonstram o potencial da proteômica plasmática como ferramenta robusta para elucidar processos fisiológicos complexos em bovinos, com implicações diretas para a identificação de biomarcadores e seleção de animais com características desejáveis pela pecuária moderna.

1.10 Considerações finais

A revisão apresentada evidenciou: a importância da raça Nelore para a produção de carne no Brasil e, apesar disso, a necessidade de melhora nos índices quantitativos e qualitativos; a forma como métodos de manejo pré-desmame podem auxiliar neste sentido, contribuindo para maiores ganhos de peso na fase de cria, para a maior deposição de gordura na carcaça e para o bem-estar e a saúde animal; os avanços que as tecnologias ômicas proporcionam no sentido de elucidar as modificações que ocorrem no funcionamento do organismo em função de estímulos ambientais como a dieta, possibilitando manipulações/adequações de manejo, e também a identificação de marcadores bioquímicos para fenótipos de interesse.

Contudo, poucos estudos têm se aprofundado no entendimento de como diferentes manejos nutricionais afetam a abundância proteica no plasma sanguíneo e quais os mecanismos fisiológicos envolvidos nestes processos. Os estudos são ainda mais escassos se considerada a raça Nelore e a criação a pasto, situação que melhor reflete a produção de gado de corte no Brasil. Neste sentido, este estudo foi pioneiro ao avaliar o proteoma do plasma sanguíneo à desmama de novilhos Nelore criados a pasto com suplementação na fase de cria (0,5% do peso corporal em suplemento). Também teve o caráter inédito ao investigar os efeitos do *creep-feeding* sobre a fisiologia do estresse e da saúde ao desmame em bovinos de corte.

2. Referências

- ABIEC 2024. Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne. **Beef Report 2024**. <https://www.abiec.com.br>, acesso em 30 de maio de 2025.
- AGENÂS, S.; HEATH, M. F.; NIXON, R. M.; WILKINSON, J. M.; PHILLIPS, C. J. C. Indicators of undernutrition in cattle. **Animal Welfare**, v.15, n.2, p.149–160, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0962728600030232>.

AHIMA, R. S.; FLIER, J. S. Adipose tissue as an endocrine organ. **Trends in Endocrinology and Metabolism**, v. 11, n. 8, p. 327-332, 2000. DOI: [https://doi.org/10.1016/s1043-2760\(00\)00301-5](https://doi.org/10.1016/s1043-2760(00)00301-5).

ALBUQUERQUE, L. G.; FERNANDES JÚNIOR, G. A.; CARVALHEIRO, R. Beef cattle genomic selection in tropical environments. **In Association for the Advancement of Animal Breeding and Genetics conference**, vol.22, p.255-263, 2017.

ALTMANN, S.; MURANI, E.; SCHWERIN, M.; METGES, C. C.; WIMMERS, K.; PONSUKSILI, S. Somatic cytochrome c (CYCS) gene expression and promoter-specific DNA methylation in a porcine model of prenatal exposure to maternal dietary protein excess and restriction. **British Journal of Nutrition**, v.107, p.791-799, 2012.

ANDERSEN, L. C.; PALSTRØM, N. B.; DIEDERICHSEN, A.; LINDHOLT, J. S.; RASMUSSEN, L. M.; BECK, H. C. Determining plasma protein variation parameters as a prerequisite for biomarker studies: a TMT-based LC-MSMS proteome investigation. **Proteomes**, v.9, 47, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/proteomes9040047>.

ARRIGONI, M. D. B.; ALVES JÚNIOR, A.; DIAS, P. M. A.; MARTINS, C. L.; CERVIERI, R. D. C.; SILVEIRA, A. C.; CHARDULO, L. A. L. Desempenho, fibras musculares e carne de bovinos jovens de três grupos genéticos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.1033-1039, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2004001000012>.

ARTHINGTON, J.; MORIEL, P. Impressão Metabólica De Bezerros Desmamados Precocemente: Efeitos no Desempenho Pós Desmama em Machos e Fêmeas. *In: NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS*, 2014, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia, 2014.

BAIK, M.; KANG, H. J.; PARK, S. J.; NA, S. W.; PIAO, M.; KIM, S. Y.; MOON, Y. S. Triennial growth and development symposium: Molecular mechanisms related to bovine intramuscular fat deposition in the *longissimus* muscle. **Journal of Animal Science**, v. 95, n. 5, p. 2284-2303, 2017. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2016.1160>.

BAILEY, E. A.; JAEGER, J. R.; WAGGONER, J. W.; PREEDY, G. W.; PACHECO, L. A.; OLSON, K. C. Effect of fence-line or drylot weaning on the health and performance of beef calves during weaning, receiving, and finishing. **The Professional Animal Scientist**, v.32, n.2, p.220-228, 2016.

BALDASSINI, W. A.; BONILHA, S. F. M.; BRANCO, R. H.; VIEIRA, J. C. S.; PADILHA, P. M.; LANNA, D. P. D. Proteomic investigation of liver from beef cattle (*Bos indicus*)

divergently ranked on residual feed intake. **Molecular Biology Reports**, v.45, p.2765-2773, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11033-018-4341-2>.

BENSATTI, P.; PELUSO, G.; NICOLAI, R.; CALVANI, M. Polyunsaturated fatty acids: biochemical, nutritional and epigenetic properties. **Journal of the American College of Nutrition**, v.23, p.281-302, 2004.

BIANCHINI, E.; MCMANUS, C.; LUCCI, C. M.; FERNANDES, M. C. B.; PRESCOTT, E.; MARIANTE, A. S.; EGITO, A. A. Características corporais associadas com a adaptação ao calor em bovinos naturalizados brasileiros. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.9, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2006000900014>.

BOHNERT, D. W.; STALKER, L. A.; MILLS, R. R.; NYMAN, A.; FALCK, S. J.; COOKE, R. F. Late gestation supplementation of beef cows differing in body condition score: effects on cow and calf performance. **Journal of Animal Science**, v.91, p.5485-5491, 2013.

BORRÀS, E.; SABIDÓ, E. What is targeted proteomics? A concise revision of targeted acquisition and targeted data analysis in mass spectrometry. **Proteomics**, v. 17, n. 17-18, 1700180, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1002/pmic.201700180>.

BOUDON, S.; OUNAÏSSI, D.; VIALA, D.; MONTEILS, V.; PICARD, B.; CASSAR-MALEK, I. Label free shotgun proteomics for the identification of protein biomarkers for beef tenderness in muscle and plasma of heifers. **Journal of Proteomics**, v. 217, 103685, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2020.103685>.

BOURMAUD, A.; GALLIEN, S.; DOMON, B. Parallel reaction monitoring using quadrupole-Orbitrap mass spectrometer: Principle and applications. **Proteomics**, v. 16, n. 15-16, p. 2146-2159, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1002/pmic.201500543>.

CANAVEZ, F. C.; LUCHE, D. D.; STOTHARD, P.; LEITE, K. R.; SOUSA-CANAVEZ, J. M.; PLASTOW, G.; CAMARA-LOPES, L. H. Genome sequence and assembly of *Bos indicus*. **Journal of Heredity**, v.103, n.3, p.342-348, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1093/jhered/esr153>.

CARROLL, J. A.; FORSBERG, N. E. Influence of stress and nutrition on cattle immunity. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.23, n.1, p.105-149, 2007.

CARVALHO, M.; BALDI, F. S.; SANTANA, M. H. A.; VENTURA, R.; OLIVEIRA, G. A.; BUENO, R. S.; BONIN, M. N.; REZENDE, F. M.; COUTINHO, L. L.; ELER, J. P.; FERRAZ, J. B. S. Identification of genomic regions related to tenderness in Nellore

beef cattle. **Advances in Animal Biosciences**, v.8, p.42-44, 2017. <https://doi.org/10.1017/S2040470017001674>.

CARVALHO, V. V.; PAULINO, M. F.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S. C.; LOPES, S. A.; RENNÓ, L. N.; SILVA, A. G. A meta-analysis of the effects of *creep-feeding* supplementation on performance and nutritional characteristics by beef calves grazing on tropical pastures. **Livestock Science**, v.227, p.175-182, 2019.

CASTILLO, C.; HERNÁNDEZ, J.; VALVERDE, I.; PEREIRA, V.; SOTILLO, J.; LÓPEZ-ALONSO, M.; BENEDITO, J. L. Plasma malonaldehyde (MDA) and total antioxidant status (TAS) during lactation in dairy cows. **Research in Veterinary Science**, v.80, p.133–139, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2005.06.002>.

CAUSEY, D. R.; POHL, M. A. N.; STEAD, D.; MARTIN, S. A. M.; SECOMBES, C. J.; MACQUEEN, D. J. High-throughput proteomic profiling of the fish liver following bacterial infection. **BMC Genomics**, v. 19, 719, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12864-018-5099-6>.

CECILIANI, F.; GIORDANO, A.; SPAGNOLI, G. Acute phase proteins in ruminants. **Journal of Proteomics**, v.75, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2012.04.004>.

CECILIANI, F.; LECCHI, C.; BAZILE, J.; BONNET, M. Proteomics research in the adipose tissue. In: **Proteomics in domestic animals: From farm to systems biology**. Springer, 2018. p. 233-254. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-69682-9_12.

CHIAIA, H. L. J.; PERIPOLI, E.; SILVA, R. M. O.; ABOUJAOUDE, C.; FEITOSA, F. L. B.; LEMOS, M. V. A.; BERTON, M. P.; OLIVIERI, B. F.; ESPIGOLAN, R.; TONUSSI, R. L.; GORDO, D. G. M.; BRESOLIN, T.; MAGALHÃES, A. F. B.; JÚNIOR, G. A. F.; ALBUQUERQUE, L. G.; OLIVEIRA, H. N.; FURLAN, J. J. M.; FERRINHO, A. M.; MUELLER, L. F.; TONHATI, H.; PEREIRA, A. S. C.; BALDI, F. S. Genomic prediction for beef fatty acid profile in Nellore cattle. **Meat Science**, v.128, p.60-67, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.02.007>.

CÔNSOLO, N. R. B.; ROSA, A. F.; BARBOSA, L. C. G. S.; MACLEAN, P. H.; HIGUERA-PADILLA, A.; COLNAGO, L. A.; TITTO, E. A. L. Preliminary study on the characterization of *Longissimus lumborum* dark cutting meat in Angus × Nellore crossbreed cattle using NMR-based metabolomics. **Meat Science**, v. 172, 108350, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108350>.

COSTA, T. C.; GIONBELLI, M. P.; DUARTE, M. S. Fetal programming in ruminant animals: understanding the skeletal muscle development to improve meat quality. **Animal Frontiers**, v.11, n.6, p.66–73, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1093/af/vfab061>.

CUNDIFF, L. V. **Breeds and Genetics**. In: POND, W. G.; BELL, A. W. (Ed.). Encyclopedia of Animal Science. Ithaca: Cornell, 2004. 800 p.

CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de fisiologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 579 p.

DANTAS, C. C. O.; DE MATTOS NEGRÃO, F.; GERON, L. J. V.; MEXIA, A. A. O uso da técnica do *Creep-feeding* na suplementação de bezerros. **PUBVET**, v.4, p.899-904, 2010.

DAY, J. J.; KENNEDY, A. J.; SWEATT, J. D. DNA methylation and its implications and accessibility for neuropsychiatric therapeutics. **Annual Review of Pharmacology**, v.55, p.591-611, 2015.

DE FREITAS, A. C.; REOLON, H. G.; ABDUCH, N. G. *et al.* Proteomic identification of potential biomarkers for heat tolerance in Caracu beef cattle using high and low thermotolerant groups. **BMC Genomics**, v. 25, 1079, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12864-024-11021-7>.

DOLINOY, D. C.; JIRTLE, R. L. Environmental epigenetics in human health and disease. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v.49, p.48, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1002/em.20366>.

DRABOVICH, A. P.; MARTINEZ-MORILLO, E.; DIAMANDIS, E. P. Toward an integrated pipeline for protein biomarker development. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics**, v. 1854, n. 6, p. 677-686, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2014.12.005>.

DU, M.; TONG, J.; ZHAO, J.; UNDERWOOD, K. R.; ZHU, M.; FORD, S. P.; NATHANIELSZ, P. W. Fetal programming of skeletal muscle development in ruminant animals. **Journal of Animal Science**, v.88, p.E51–E60, 2010. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2009-2311>.

DU, M.; WANG, B.; FU, X.; YANG, Q.; ZHU, M. J. Fetal programming in meat production. **Meat Science**, v.109, p.40-47, 2015.

DUARTE, M. S.; PAULINO, P. V. R.; DAS, A. K.; WEI, S.; SERÃO, N. V. L.; FU, X.; HARRIS, S. M.; DODSON, M. V.; DU, M. Enhancement of adipogenesis and fibrogenesis in skeletal muscle of Wagyu compared with Angus cattle. **Journal of Animal Science**, v.91, p.2938-2946, 2013.

DUDLEY, K. J.; SLOBODA, D. M.; CONNOR, K. L.; BELTRAND, J.; VICKERS, M. H. Offspring of mothers fed a high fat diet display hepatic cell cycle inhibition and associated changes in gene expression and DNA methylation. **PLOS ONE**, v.6, p.21662, 2011.

EDWARDS, T. A. Control methods for bovine respiratory disease for feedlot cattle. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v.26, n.2, p.273-284, 2010.

ENRÍQUEZ, D. H.; UNGERFELD, R.; QUINTANS, G.; GUIDONI, A. L.; HÖTZEL, M. J. The effects of alternative weaning methods on behaviour in beef calves. **Livestock Science**, v.128, n.1-3, p.20-27, 2010.

ERTUNC, M.; HOTAMISLIGIL, G. Lipid signaling and lipotoxicity in metaflammation: indications for metabolic disease pathogenesis and treatment. **Journal of Lipid Research**, v.57, p 2099–2114, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1194/jlr.R066514>.

ESTRADA, M. M.; NUNES, C. L. C.; RAMÍREZ-ZAMUDIO, G. D.; SILVA, L. H. P.; CHIZZOTTI, M. L. Performance, muscle metabolites, and beef quality of Nellore cull cows subjected to different finishing feeding durations. **Meat Science**, v. 223, 109774, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2025.109774>.

FARIAS, N.; HO, N.; BUTLER, S.; DELANEY, L.; MORRISON, J.; SHAHRZAD, S.; COOMBER, B. L. The effects of folic acid on global DNA methylation and colonosphere formation in colon cancer cell lines. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.26, p.818-826, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2015.02.002>.

FARKAS, S. A.; BEFEKADU, R.; HAHN-STRÖMBERG, V.; NILSSON, T. K. DNA methylation and expression of the folate transporter genes in colorectal cancer. **Tumor Biology**, v.36, p.5581-5590, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13277-015-3228-2>.

FEIL, R.; FRAGA, M. F. Epigenetics and the environment: emerging patterns and implications. **Nature Reviews Genetics**, v.13, p.97-109, 2012.

FERRAZ, J. B. S.; FECILIO, P. E. Production systems – An example from Brazil. **Meat Science**, v.84, p.238-243, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.06.006>.

FONSECA-ALANIZ, M. H. ; TAKADA, J. ; ALONSO-VALE, M. I. ; LIMA, F. B. O tecido adiposo como órgão endócrino: da teoria à prática. **Jornal de Pediatria**, v. 83, n. 5, p. S192-S201, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0021-75572007000700011>.

GHAFFARI, M. H.; SCHUH, K.; KULEŠ, J.; GUILLEMIN, N.; HORVATIĆ, A.; MRLJAK, V.; ECKERSALL, P. D.; DUSEL, G.; KOCH, C.; SADRI, H.; SAUERWEIN, H. Plasma proteomic profiling and pathway analysis of normal and overconditioned dairy cows

during the transition from late pregnancy to early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 5, p. 4806-4821, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17897>.

GHIGLIOTTI, G.; BARISIONE, C.; GARIBALDI, S.; FABBI, P.; BRUNELLI, C.; SPALLAROSSA, P.; ALTIERI, P.; ROSA, G.; SPINELLA, G.; PALOMBO, D.; ARSENESECU, R.; ARSENESECU, V. Adipose tissue immune response: novel triggers and consequences for chronic inflammatory conditions. **Inflammation**, v. 37, n. 4, p. 1337-1353, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10753-014-9914-1>.

GORDO, D. G. M.; ESPIGOLAN, R.; BRESOLIN, T.; FERNANDES JÚNIOR, G. A.; MAGALHÃES, A. F. B.; BRAZ, C. U.; FERNANDES, W. B.; BALDI, F. S.; ALBUQUERQUE, L. G. Genetic analysis of carcass and meat quality traits in Nelore cattle. **Journal of Animal Science**, v.96, ed.9, p.3558-3564, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1093/jas/sky228>

GÖRG, A.; WEISS, W.; DUNN, M. J. Current two-dimensional electrophoresis technology for proteomics. **Proteomics**, v. 4, n. 12, p. 3665-3685, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1002/pmic.200401031>.

GRUBBS, J. K.; DEKKERS, J. C. M.; HUFF-LONERGAN, E.; TUGGLE, C. K.; LONERGAN, S. M. Identification of potential serum biomarkers to predict feed efficiency in young pigs. **Journal of Animal Science**, v. 94, n. 4, p. 1482-1492, 2016. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2015-96>.

HALEY, D. B.; BAILEY, D. W.; STOOKEY, J. M. The effects of weaning beef calves in two stages on their behavior and growth rate. **Journal of Animal Science**, v.83, n.9, p.2205-2214, 2005.

HAYES, B. J.; BOWMAN, P. J.; CHAMBERLAIN, A. J.; GODDARD, M. E. Invited review: Genomic selection in dairy cattle: Progress and challenges. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.433-443, 2009. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1646>.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Rebanho de Bovinos (Bois e Vacas). Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/bovinos/br>. Acesso em: 30 de maio. 2025.

IDOWU, M.; TAIWO, G.; SIDNEY, T.; ADEWOYE, A.; OGUNADE, I. M. Plasma proteomic analysis reveals key pathways associated with divergent residual body weight gain phenotype in beef steers. **Frontiers in Veterinary Science**, v.11, 1415594, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1415594>.

INGVARTSEN, K. L.; DEWHURST, R. J.; FRIGGENS, N. C. On the relationship between lactational performance and health: is it yield or metabolic imbalance that

cause production diseases in dairy cattle? A position paper. **Livestock Production Science**, v.83, p.277–308, 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(03\)00110-6](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(03)00110-6).

IZQUIERDO, V. S.; CAPPELLOZZA, B. I.; ASHRAFI, N.; ASHRAFI MIMI, R.; GRAHAM, S. F.; VENDRAMINI, J. M. B.; GONELLA-DIAZA, A.; MORIEL, P. Maternal supplementation of a Bacillus-based direct-fed microbials altered the cow prepartum plasma metabolome and the calf plasma metabolome before and after vaccination. **Journal of Animal Science**, 2025, skaf135, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1093/jas/skaf135>.

JAMIOŁ, M.; SOZONIUK, M.; WAWRZYKOWSKI, J.; KANKOFER, M. Changes in plasma PLAC-1 concentration and its expression during early-mid pregnancy in bovine placental tissues - a pilot study. **BMC Veterinary Research**, v. 20, 59, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12917-024-03898-z>.

JOUSSE, C.; PARRY, L.; LAMBERT-LANGLAIS, S.; MAURIN, A. C.; AVEROUS, J.; BRUHAT, A.; CARRARO, V.; TOST, J.; LETTERON, P.; CHEN, P.; JOCKERS, R.; LAUNAY, J. M.; MALLET, J.; FAFOURNOUX, P. Perinatal undernutrition affects the methylation and expression of the leptin gene in adults: implication for the understanding of metabolic syndrome. **FASEB Journal**, v.25, p.3271-3278, 2011.

JUGE-AUBRY, C. E.; GORLA-BAJSZCZAK, A.; PERNIN, A.; LEMBERGER, T.; WAHLI, W.; BURGER, A. G.; MEIER, C. A. Peroxisome proliferator-activated receptor mediates cross-talk with thyroid hormone receptor by competition for retinoid X receptor. Possible role of a leucine zipper-like heptad repeat. **Journal of Biological Chemistry**, v.270, n.30, p.18117-18122, 1995. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.270.30.18117>.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 488p.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica: texto, atlas**. Guanabara Koogan, 2019.

KUANG, S.; KURODA, K.; LE GRAND, F.; RUDNICKI, M. A. Asymmetric self-renewal and commitment of satellite stem cells in muscle. **Cell**, v.129, p.999–1010, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.03.044>.

KUCHARSKI, R.; MALESZKA, J.; FORET, S.; MALESZKA, R. Nutritional control of reproductive status in honeybees via DNA methylation. **Science**, v.319, p.1827-1830, 2008.

LADEIRA, M. M.; SCHOONMAKER, J. P.; GIONBELLI, M. P.; DIAS, J. C.; GIONBELLI, T. R.; CARVALHO, J. R. R.; TEIXEIRA, P. D. Nutrigenomics and beef quality: a review about lipogenesis. **International Journal of Molecular Sciences**, v.17, n.6, p.918, 2016.

LAWRENCE, T.; FOWLER, V. **Growth of farm animals**. CAB International, 2002.

LEFCOURT, A. M.; ELSASSER, T. H. Adrenal responses of Angus× Hereford cattle to the stress of weaning. **Journal of Animal Science**, v. 73, n. 9, p. 2669-2676, 1995.

LEREIM, R. R.; OVERLAND, E.; BERVEN, F. S.; VAUDEL, M.; BARSNES, H. Visualization, Inspection and Interpretation of Shotgun Proteomics Identification Results. In: MIRZAEI, H.; CARRASCO, M. (Eds.). **Modern Proteomics – Sample Preparation, Analysis and Practical Applications**. Advances in Experimental Medicine and Biology, v. 919. Springer, 2016. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-41448-5_11.

LONG, N. M.; VONNAHME, K. A.; HESS, B. W.; NATHANIELSZ, P. W.; FORD, S. P. Effects of early gestational undernutrition on fetal growth, organ development, and placentomal composition in the bovine. **Journal of Animal Science**, v.87, p.1950–1959, 2009. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2008-1672>.

LOPEZ, R.; KREHBIEL, C. R.; THOMAS, M. G.; HALLFORD, D. M.; KEISLER, D. H.; OBEIDAT, B. S.; HERNANDEZ, J. A.; BRYANT, W. D.; GARCIA, M.; FLORES, R. Effect of increasing level of dietary protein on serum concentrations of metabolic hormones and mammary development in Holstein heifers consuming a moderate-energy diet. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.161, 2001.

LOZANO, C.; ARMENGAUD, J. Sample Preparation and Processing for Quick, Universal, and Insightful Microbial Proteomics. In: WILLIAMS, T. I. (Ed.). **Tissue Proteomics**. Methods in Molecular Biology, v. 2884. Humana, 2025. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-0716-4298-6_5.

LUO, Y.; LIU, M. Adiponectin: a versatile player of innate immunity. **Journal of Molecular Cell Biology**, v. 8, n. 2, p. 120-128, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1093/jmcb/mjw012>.

LYNCH, E. M.; EARLEY, B.; MCGEE, M.; DOYLE, S. Effect of abrupt weaning at housing on leukocyte distribution, functional activity of neutrophils, and acute phase protein response of beef calves. **BMC Veterinary Research**, v.6, n.1, p.1-9, 2010.

MAGDELDIN, S.; ENANY, S.; YOSHIDA, Y.; XU, B.; ZHANG, Y.; ZUREENA, Z.; LOKAMANI, I.; YAOITA, E.; YAMAMOTO, T. Basics and recent advances of two

dimensional-polyacrylamide gel electrophoresis. **Clinical Proteomics**, v. 11, 16, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1186/1559-0275-11-16>.

MARQUES, M. V.; BALDINI, R. L. Transcrição e Regulação Gênica. In: MENCK, C. F. M.; SLUYS, M.-A. V. **Genética Molecular Básica: dos Genes aos Genoma**. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. Cap.6.

MCKAY, J. A.; MATHERS, J. C. Diet induced epigenetic changes and their implications for health. **Acta Physiologica**, v.202, p.103-118, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.2011.02278.x>.

MCNEEL, R. L.; MERSMANN, H. J. Nutritional deprivation reduces the transcripts for transcription factors and adipocyte-characteristic proteins in porcine adipocytes. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.11, n.3, p.139-146, 2000.

MENCK, C. F. M.; SLUYS, M.-A. V. **Genética Molecular Básica: dos Genes aos Genoma**. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.

MEYER, A. M.; REED, J. J.; VONNAHME, K. A.; SOTO-NAVARRO, S. A.; REYNOLDS, L. P.; FORD, S. P.; HESS, B. W.; CATON, J. S. Effects of stage of gestation and nutrient restriction during early to mid-gestation on maternal and fetal visceral organ mass and indices of jejunal growth and vascularity in beef cows. **Journal of Animal Science**, v.88, p.2410–2424, 2010. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2009-2220>.

MOISÁ, S. J.; SHIKE, D. W.; METEER, W. T.; FAULKNER, D. B.; LOOR, J. J. Yin Yang 1 and adipogenic gene network expression in *longissimus* muscle of beef cattle in response to nutritional management. **Gene Regulation and Systems Biology**, v.7, p.71-83, 2013. DOI: <https://doi.org/10.4137/GRSB.S11783>.

MUKHERJEE, N.; KUMAR, A. P.; GHOSH, R. DNA methylation and flavonoids in genitourinary cancers. **Current Pharmacology Reports**, v.1, p.112-120, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40495-014-0004-8>.

O'LOUGHLIN, A.; MCGEE, M.; WATERS, S. M.; DOYLE, S.; EARLEY, B. Examination of the bovine leukocyte environment using immunogenetic biomarkers to assess immunocompetence following exposure to weaning stress. **BMC Veterinary Research**, v.7, p.1-13, 2011.

OUALI, A.; GAGAOUA, M.; BOUDIDA, Y.; BECILA, S.; BOUDJELLAL, A.; HERRERA-MENDEZ, C. H.; SENTANDREU, M. A. Biomarkers of meat tenderness: Present knowledge and perspectives in regards to our current understanding of the

mechanisms involved. **Meat Science**, v. 95, n. 4, p. 854-870, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.05.010>.

OWENS, F. N.; GILL, D. R.; SECRIST, D. S.; COLEMAN, S. W. Review of some aspects of growth and development of feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v.73, n.10, p.3152-3172, 1995.

PATEL, M. S.; SRINIVASAN, M. Metabolic programming in the immediate postnatal life. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v.58, p.18-28, 2011.

PECORARO, A.; NIGRO, E.; POLITO, R.; MONACO, M. L.; SCUDIERO, O.; MORMILE, I.; MARCELLI, C. A.; CAPASSO, M.; HABETSWALLNER, F.; GENOVESE, A.; DANIELE, A.; SPADARO, G. Total and high molecular weight adiponectin expression is decreased in patients with common variable immunodeficiency: Correlation with ig replacement therapy. **Frontiers in Immunology**, v. 8, p. 895, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00895>.

PEDRINI, C. A.; MACHADO, F. S.; FERNANDES, A. R. M.; CÔNSOLO, N. R. B.; OCAMPOS, F. M. M.; COLNAGO, L. A.; PERDIGÃO, A.; CARVALHO, V. V.; ACEDO, T. S.; TAMASSIA, L. F. M. *et al.* Performance, meat quality and meat metabolomics outcomes: Efficacy of 3-Nitrooxypropanol in feedlot beef cattle diets. **Animals**, v. 14, n. 17, 2576, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani14172576>.

PEREIRA, A. S. C.; BALDI, F.; SAINZ, R. D.; UTEMBERGUE, B. L.; CHIAIA, H. L. J.; MAGNABOSCO, C. D. U.; SOBRAL, P. J. D. A. Growth performance, and carcass and meat quality traits in progeny of Poll Nellore, Angus and Brahman sires under tropical conditions. **Animal Production Science**, v.55, n.10, p.1295-1302, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1071/AN13505>.

PETERSON, A. C.; RUSSELL, J. D.; BAILEY, D. J.; WESTPHALL, M. S.; COON, J. J. Parallel reaction monitoring for high resolution and high mass accuracy quantitative, targeted proteomics. **Molecular & Cellular Proteomics**, v. 11, n. 11, p. 1475-1488, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1074/mcp.O112.020131>.

PETHICK, D. W.; HARPER, G. S.; ODDY, V. H. Growth, development and nutritional manipulation of marbling in cattle: a review. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v.44, n.7, p.705-715, 2004.

PETRACCI, M.; CAVANI, C. Muscle growth and poultry meat quality issues. **Nutrients**, v. 4, n. 1, p. 1-12, 2012. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu4010001>.

PICARD, B.; GAGAOUA, M. Meta-proteomics for the discovery of protein biomarkers of beef tenderness: An overview of integrated studies. **Food Research International**, v. 127, 108739, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108739>.

PICARD, B.; GAGAOUA, M. Muscle fiber properties in cattle and their relationships with meat qualities: An overview. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.68, n.22, p.6021-6039, 2020. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jafc.0c02086>.

PICARD, B.; GAGAOUA, M.; AL-JAMMAS, M.; DE KONING, L.; VALAIS, A.; BONNET, M. Beef tenderness and intramuscular fat proteomic biomarkers: muscle type effect. **PeerJ**, v. 6, e4891, 2018. DOI: <https://doi.org/10.7717/peerj.4891>.

POPKO, K. *et al.* Proinflammatory cytokines Il-6 and TNF- α and the development of inflammation in obese subjects. **European Journal of Medical Research**, v. 15, suppl. 2, p. 120-122, 4 nov. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1186/2047-783x-15-s2-120>.

POWER, G. W.; NEWSHOLME, E. A. Dietary fatty acids influence the activity and metabolic control of mitochondrial carnitine palmitoyltransferase I in rat heart and skeletal muscle. **Journal of Nutrition**, v.127, p.2142-2150, 1997.

PRYCE, J. E.; ARIAS, J.; BOWMAN, P. J.; DAVIS, S. R.; MACDONALD, K. A.; WAGHORN, G. C.; WALES, W. J.; WILLIAMS, Y. J.; SPELMAN, R. J.; HAYES, B. J. Accuracy of genomic predictions of residual feed intake and 250-day body weight in growing heifers using 625,000 single nucleotide polymorphism markers. **Journal of Dairy Science**, v.95, n.4, p. 2108-2119, 2012. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4628>.

PUPPEL, K.; KUCZYNSKA, B. Metabolic profiles of cow's blood: a review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.96, p.4321–4328, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.7779>.

RAMÍREZ-ZAMUDIO, G. D.; GANGA, M. J. G.; PEREIRA, G. L.; NOCITI, R. P.; CHIARATTI, M. R.; COOKE, R. F.; CHARDULO, L. A. L.; BALDASSINI, W. A.; MACHADO-NETO, O. R.; CURI, R. A. Effect of cow-calf supplementation on gene expression, processes, and pathways related to adipogenesis and lipogenesis in *Longissimus thoracis* muscle of F1 Angus × Nellore cattle at weaning. **Metabolites**, v.13, n.2, p. 60, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/metabo13020160>.

REOLON, H. G.; ABDUCH, N. G.; DE FREITAS, A. C.; SILVA, R. M. O.; FRAGOMENI, B. O.; LOURENCO, D.; BALDI, F.; DE PAZ, C. C. P.; STAFUZZA, N. B. Proteomic changes of the bovine blood plasma in response to heat stress in a tropically adapted

cattle breed. **Frontiers in Genetics**, v. 15, 1392670, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3389/fgene.2024.1392670>.

RICHESON, J. T.; KEGLEY, E. B.; GADBERRY, M. S.; BECK, P. A.; POWELL, J. G.; JONES, C. A. Effects of on-arrival versus delayed clostridial or modified live respiratory vaccinations on health, performance, bovine viral diarrhea virus type I titers, and stress and immune measures of newly received beef calves. **Journal of Animal Science**, v.87, n.7, p.2409-2418, 2009.

RODRIGUEZ, J. C.; GIL-GOMEZ, B.; HEGRADT, F. G.; HARO, D. Peroxisome proliferator activated receptor mediates induction of the mitochondrial 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA synthase gene by fatty acids. **Journal of Biological Chemistry**, v.269, p.18767-72, 1994.

RUI, L. Energy metabolism in the liver. **Comprehensive Physiology**, v.4, p.177–197, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1002/cphy.c130024>.

SACO, Y.; BASSOLS, A. Acute phase proteins in cattle and swine: a review. **Veterinary Clinical Pathology**, v.52, p.50–63, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1111/vcp.13220>.

SANTANA, M. H.; UTSUNOMIYA, Y. T.; NEVES, H. H.; GOMES, R. C.; GARCIA, J. F.; FUKUMASU, H.; SILVA, S. L.; OLIVEIRA JUNIOR, G. A.; ALEXANDRE, P. A.; LEME, P. R.; BRASSALOTI, R. A.; COUTINHO, L. L.; LOPES, T. G.; MEIRELLES, F. V.; ELER, J. P.; FERRAZ, J. B. Genome-wide association analysis of feed intake and residual feed intake in Nellore cattle. **BMC Genetics**, v.15, p.21, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2156-15-21>.

SANTIAGO, B.; BALDASSINI, W.; NETO, O. M.; CHARDULO, L. A.; TORRES, R.; PEREIRA, G.; CURI, R.; CHIARATTI, M. R.; PADILHA, P.; ALESSANDRONI, L.; GAGAOUA, M. Post-mortem muscle proteome of crossbred bulls and steers: Relationships with carcass and meat quality. **Journal of Proteomics**, v.278, p.104871, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2023.104871>

SCHEFFLER, J.; MCCANN, M.; GREINER, S.; JIANG, H.; HANIGAN, M.; BRIDGES, G.; LAKE, S.; GERRARD, D. Early metabolic imprinting events increase marbling scores in fed cattle. **Journal of Animal Science**, v.92, p.320-324, 2014. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2012-6209>.

SEVERINO, M.; GAGAOUA, M.; BALDASSINI, W.; RIBEIRO, R.; TORRECILHAS, J.; PEREIRA, G. L.; CURI, R. A.; CHARDULO, L. A. L.; PADILHA, P.; NETO, O. M. Proteomics unveils *post-mortem* changes in beef muscle proteins and provides insight

into variations in meat quality traits of crossbred young steers and heifers raised in feedlot. **International Journal of Molecular Sciences**, v.23, n.20, 12259, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms232012259>.

SHI, T.; SONG, E.; NIE, S.; RODLAND, K. D.; LIU, T.; QIAN, W.-J.; SMITH, R. D. Advances in targeted proteomics and applications to biomedical research. **Proteomics**, v. 16, n. 15-16, p. 2160-2182, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1002/pmic.201500449>.

SHOUP, L. M.; WILSON, T. B.; GONZÁLEZ-PEÑA, D.; IRLANDA, F. A.; RODRIGUEZ-ZAS, S.; FELIX, T. L.; SHIKE, D. W. Beef cow prepartum supplement level and age at weaning: II. Effects of developmental programming on performance and carcass composition of steer progeny. **Journal of Animal Science**, v.93, p.4936-4947, 2015.

SILVA, G. M.; POORE, M. H.; RANCHES, J.; MORIEL, P. Effects of timing of vaccination relative to weaning and post-weaning frequency of energy supplementation on growth and immunity of beef calves. **Journal of Animal Science**, v.96, n.1, p.318-330, 2018.

SILVA, R. M.; FRAGOMENI, B. O.; LOURENCO, D. A.; MAGALHÃES, A. F. B.; IRANO, N.; CARVALHEIRO, R.; CANESIN, R. C.; MERCADANTE, M. E. Z.; BOLIGON, A. A.; BALDI, F.; MISZTAL, I.; ALBUQUERQUE, L. G. Accuracies of genomic prediction of feed efficiency traits using different prediction and validation methods in an experimental Nelore cattle population. **Journal of Animal Science**, v.94, n.9, p.3613-3623, 2016. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2016-0401>.

SIMOPOULOS, A. P. Genetic variants in the metabolism of ω -6 and ω -3 fatty acids: their role in the nutritional requirements and chronic disease risk. **Experimental Biology and Medicine**, v.235, p.785-795, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1258/ebm.2010.009298>.

SMITH, S.B.; CROUSE, D.J. Relative contributions of acetate, lactate and glucose to lipogenesis in bovine intramuscular and subcutaneous adipose tissue. **The Journal of nutrition**, v. 114, n. 4, p. 792-800, 1984.

STEWART, L. **Creep Feeding Beef Calves**. UGA Cooperative Extension Bulletin 1315. 2017.

SURINOVA, S.; SCHIESS, R.; HÜTTENHAIN, R.; CERCIELLO, F.; WOLLSCHIED, B.; AEBERSOLD, R. On the development of plasma protein biomarkers. **Journal of Proteome Research**, v. 10, n. 1, p. 5-16, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1021/pr1008515>.

SWATLAND, H. J. Muscle growth in the fetal and neonatal pig. **Journal of Animal Science**, v.37, p.536–545, 1973. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas1973.372536x>.

TIZIOTO, P. C.; COUTINHO, L. L.; DECKER, J. E.; SCHNABEL, R. D.; ROSA, K. O.; OLIVEIRA, P. S.; SOUZA, M. M.; MOURÃO, G. B.; TULLIO, R. R.; CHAVES, A. S.; LANNA, D. P.; ZERLOTINI-NETO, A.; MUDADU, M. A.; TAYLOR, J. F.; REGITANO, L. C. Global liver gene expression differences in Nelore steers with divergent residual feed intake phenotypes. **BMC Genomics**, v.16, p.242, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1464-x>.

TRIPATHI, D. *et al.* Resistin in metabolism, inflammation, and disease. **FEBS Journal**, v. 287, n. 15, p. 3141-3149, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1111/febs.15322>.

WANG, X.; XU, J.; HAN, Z. Plasma proteomic profiling reveals the regulatory factors of milk protein synthesis in holstein cows. **Biology**, v. 11, n. 8, 1239, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/biology11081239>.

WEBER, K. L.; WELLY, B. T.; VAN EENENNAAM, A. L.; YOUNG, A. E.; PORTO-NETO, L. R.; REVERTER, A.; RINCON, G. Identification of gene networks for residual feed intake in Angus cattle using genomic prediction and RNA-seq. **PLoS One**, v.11, n.3, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152274>.

WIGGANS, G. R.; COLE, J. B.; HUBBARD, S. M.; SONSTEGARD, T. S. Genomic selection in dairy cattle: the USDA experience. **Annual Review of Animal Biosciences**, v.5, p.309-327, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-021815-111422>.

WOLLOWSKI, L.; HEUWIESER, W.; KOSSATZ, A.; PFEIFER, L.; SCHULZE, M.; SCHUBERT, N.; SCHULTE, H.; HANTKE, K. The value of the biomarkers cathelicidin, milk amyloid a, and haptoglobin to diagnose and classify clinical and subclinical mastitis. **Journal of Dairy Science**, v.104, n.2, p.2106–2122, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18539>.

WU, S.; LUO, X.; YANG, X.; HOPKINS, D. L.; MAO, Y.; ZHANG, Y. Understanding the development of color and color stability of dark cutting beef based on mitochondrial proteomics. **Meat Science**, v. 163, 108046, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108046>.

ZHANG, N. Epigenetic modulation of DNA methylation by nutrition and its mechanisms in animals. **Animal Nutrition**, v.1, p.144-151, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2015.09.002>.

ZHU, Y.; GAGAOUA, M.; MULLEN, A. M.; VIALA, D.; RAI, D. K.; KELLY, A. L.; SHEEHAN, D.; HAMILL, R. M. Shotgun proteomics for the preliminary identification of biomarkers of beef sensory tenderness, juiciness and chewiness from plasma and muscle of young Limousin-sired bulls. **Meat Science**, v. 176, 108488, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108488>.

Capítulo 2 - Desvendando os impactos da suplementação precoce no proteoma plasmático de bezerros Nelore

RESUMO

Existe uma lacuna de pesquisas que investigam os mecanismos moleculares subjacentes aos efeitos do *creep-feeding* em bovinos Nelore (*Bos indicus*), o grupo genético predominante no rebanho de corte brasileiro. O objetivo deste estudo foi identificar possíveis diferenças na abundância de proteínas plasmáticas, nos processos biológicos e nas vias metabólicas entre bezerros Nelore controle e suplementados com dieta energético-proteica durante a fase de aleitamento. Noventa e seis bezerros machos inteiros, filhos de quatro touros distintos, foram alocados em dois grupos: MS (sem *creep-feeding*, n = 48) e CF (com *creep-feeding*, n = 48). As análises proteômicas plasmáticas foram realizadas por LC-MS/MS *label-free* em amostras de sangue coletadas aleatoriamente ao desmame de seis animais por grupo. Os espectros foram processados para identificação total de proteínas. A análise PLS-DA foi aplicada para verificar a separação estatística entre os grupos, e o teste t foi utilizado para identificar proteínas diferencialmente abundantes (DAPs). Também foram realizadas análises de interação proteína-proteína (PPI) e enriquecimento funcional de processos biológicos e vias de sinalização. Diferenças significativas ($p < 0,05$) foram observadas entre os grupos ao desmame (CF > MS) para peso corporal, ganho médio de peso e área de olho de lombo, enquanto a concentração plasmática de ureia apresentou tendência à diferença ($p = 0,065$). Os grupos clusterizaram ($p < 0,05$) com base na abundância de 84 proteínas identificadas, das quais 44 apresentaram diferenças significativas ($\log_2\text{Fold Change} \geq |1,0|$ e $p \text{ ajustado} \leq 0,05$). As análises de PPI e enriquecimento revelaram forte conectividade entre as DAPs e seu envolvimento em diversos processos biológicos e vias relacionadas ao metabolismo energético, lipídico, muscular e imune. Entre as vias mais relevantes destacaram-se “*Regulation of Insulin-like Growth Factor (IGF) transport and uptake by Insulin-like Growth Factor Binding Proteins (IGFBPs)*” (Reactome: R-BTA-381426) e “*Regulation of actin cytoskeleton*” (KEGG: bta04810). As proteínas AHSG, APOA1, APOA2, SERPIND1, CFI, C5, C7, C9, CFB e GSN podem, direta ou indiretamente, contribuir para explicar as diferenças metabólicas observadas inerentes ao crescimento e desenvolvimento muscular entre os grupos.

Palavras-chaves: *Bos indicus*, *creep-feeding*, desempenho, espectrometria de massas, nutrição, saúde animal.

Unraveling the impacts of early supplementation on the plasma proteome of Nellore calves

ABSTRACT

There is a lack of research investigating the molecular mechanisms underlying the effects of *creep-feeding* in Nellore cattle (*Bos indicus*), the predominant genetic group in the Brazilian beef herd. The objective of this research was to identify possible differences in plasma protein abundance, biological processes, and metabolic pathways between control and supplemented Nellore calves receiving an energy-protein diet during the suckling phase. Ninety-six intact male calves, offspring of four different sires, were allocated into two groups: MS (without *creep-feeding*, n = 48) and CF (with *creep-feeding*, n = 48). Plasma proteomic analyses were performed using *label-free LC-MS/MS* on blood samples randomly collected at weaning from six animals per group. Spectra were processed for total protein identification. PLS-DA was applied to verify statistical separation between groups, and the t-test was used to identify differentially abundant proteins (DAPs). Protein-protein interaction (PPI) analysis and functional enrichment of biological processes and signaling pathways were performed. Significant differences ($p < 0.05$) were found between groups at weaning (CF > MS) for body weight, average weight gain, and ribeye area, while plasma urea concentration tended to differ ($p = 0.065$). Groups clustered ($p < 0.05$) based on the abundance of 84 identified proteins, of which 44 showed significant differences ($\log_2\text{Fold Change} \geq |1.0|$ and adjusted $p \leq 0.05$). PPI and enrichment analyses revealed strong connectivity among DAPs and their involvement in various biological processes and pathways related to energy, lipid, muscle, and immune metabolism. Notable pathways included "*Regulation of Insulin-like Growth Factor (IGF) transport and uptake by Insulin-like Growth Factor Binding Proteins (IGFBPs)*" (Reactome: R-BTA-381426) and "*Regulation of actin cytoskeleton*" (KEGG: bta04810). Proteins AHSG, APOA1, APOA2, SERPIND1, CFI, C5, C7, C9, CFB, and GSN, which, directly or indirectly, may contribute to explaining the observed metabolic differences inherent to muscle growth and development between groups.

Keywords: *Bos indicus*, *creep-feeding*, performance, mass spectrometry, nutrition, animal health.

1. Introdução

A raça Nelore (*Bos indicus*) é a base do rebanho de corte brasileiro, sendo notavelmente adaptada às condições de clima tropical e ao manejo a pasto, além de resistente a ecto e endoparasitas (Beatty *et al.*, 2006; Passafaro *et al.*, 2015). Contudo, quando comparada às raças taurinas (*Bos taurus*), apresenta, em geral, menor desempenho produtivo, com precocidade reprodutiva e de acabamento de carcaça tardias, e características de qualidade da carne menos desejáveis (Andrade *et al.*, 2010). Em função disso, diversas estratégias nas áreas de melhoramento genético, nutrição, manejo e reprodução têm sido desenvolvidas para a raça nas últimas décadas (Moriel *et al.*, 2014; Weber *et al.*, 2016; Castagnino *et al.*, 2018). Nesse cenário, as tecnologias ômicas surgem como ferramentas essenciais para elucidar as bases genéticas e fisiológicas que governam essas características, visando sua manipulação e melhoria.

Uma abordagem promissora para otimizar os desempenhos produtivo e reprodutivo é a programação metabólica, também conhecida como *imprinting* metabólico. Este fenômeno refere-se à regulação do metabolismo por mecanismos epigenéticos durante os períodos pré e neonatal, com consequências duradouras ao longo da vida do animal (Patel; Srinivasan, 2011). Estes processos, que modificam a expressão gênica sem alterar a sequência do DNA, ocorrem em janelas críticas do desenvolvimento, como nos terços médio e final da gestação e no período pós-parto (aproximadamente entre 60 e 250 dias de idade), fases cruciais para a formação dos tecidos muscular e adiposo (Arthington; Moriel, 2014; Zhang, 2015). Assim, a nutrição adequada com dietas de alto valor energético e proteico nesses períodos pode favorecer o crescimento muscular, a deposição de gordura e o desenvolvimento do trato reprodutivo.

A estratégia nutricional conhecida como *creep-feeding* consiste na suplementação privativa dos bezerros em fase de aleitamento (Stewart, 2017), representando uma aplicação prática desse conceito. A intenção com a sua aplicação é obter animais mais pesados ao desmame, encurtar o ciclo de produção com melhor acabamento de carcaça ao abate e reduzir o estresse sobre a matriz (Dantas *et al.*, 2010). Apesar de a hiperplasia muscular ocorrer apenas durante o desenvolvimento pré-natal, a hipertrofia tem início na fase pré-natal, mas se estende até o final do período puberal (Costa; Gionbelli; Duarte, 2021). Neste sentido, estímulos nutricionais aplicados precocemente no período pós-natal tornam-se fundamentais para favorecer

o desenvolvimento muscular e, conseqüentemente, o ganho de peso. Embora o acetato seja um dos principais doadores de grupos acetil para a deposição de gordura intramuscular, a glicose oriunda de suplementos ricos em concentrado também são contribuidores importantes para a deposição dessa gordura (Smith; Crouse, 1984). Assim, o aporte correto de concentrado no período de cria, principalmente rico em amido (grãos), pode favorecer a proliferação e o crescimento dos adipócitos, levando ao aumento do marmoreio sem, contudo, aumentar gordura nas vísceras, contribuindo para a qualidade geral da carne e para o maior rendimento de carcaça (Nguyen; Nguyen; Malau-Aduli, 2021). Desta forma, a suplementação durante a fase de cria (nascimento ao desmame), leva à adaptações metabólicas diferentes em relação aos animais que são desmamados de forma convencional aos 210 dias de idade (Scheffler *et al.*, 2014). Ademais, de acordo com Stewart (2017), foi demonstrado por diversos estudos que a suplementação durante o aleitamento pode favorecer o crescimento e aumentar a gordura intramuscular, entretanto, para manter esse aumento, é necessário que os animais permaneçam sendo alimentados com dietas contendo grãos até o abate.

Além dos benefícios produtivos, a suplementação precoce pode mitigar os efeitos negativos do desmame, um período de alto estresse que pode comprometer a função imunológica e aumentar a suscetibilidade a doenças (Lefcourt; Elsasser, 1995; Carroll; Forsberg, 2007; Edwards, 2010; O'loughlin *et al.*, 2011). A ocorrência de enfermidades não só afeta o bem-estar animal, mas também prejudica o desempenho e a qualidade do produto final, a carne. Práticas como a suplementação energética já se mostraram eficazes em atenuar esses impactos (Silva *et al.*, 2018).

Embora os benefícios fenotípicos do *creep-feeding* sejam bem documentados, as alterações moleculares sistêmicas que sustentam essas adaptações, especialmente no que tange ao perfil de proteínas circulantes, ainda são pouco conhecidas. A hipótese deste trabalho é que a suplementação na fase de cria induz alterações no proteoma plasmático associadas ao metabolismo, desenvolvimento dos tecidos muscular e adiposo e às respostas de estresse e imunidade. Portanto, o objetivo desta pesquisa foi identificar e comparar no momento da desmama a abundância de proteínas no plasma (proteoma plasmático), bem como os processos biológicos e vias metabólicas a elas associadas, em novilhos Nelore suplementados ou não durante a fase de cria.

2. Material e métodos

2.1. Localização, clima e caracterização da área experimental

O experimento a campo foi conduzido na unidade de pesquisa da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), Polo Regional Alta Mogiana, no município de Colina/SP, Brasil. O clima da região é do tipo AW (Köppen), representado por duas estações distintas, uma seca, de abril a setembro e outra chuvosa, de outubro a março. O solo é classificado como latossolo vermelho-escuro, fase arenosa, com topografia quase plana e de boa drenagem. A área experimental é composta pela forrageira *Urochloa brizantha* cv. Marandu, constituída de 12 piquetes. Todos os piquetes dispõem de bebedouros e cochos para suplementação em *creep-feeding*.

2.2. Animais, tratamentos, período e delineamento experimental

Foram utilizados 96 bezerros Nelore machos, filhos de quatro touros, com aproximadamente 60 dias de idade, com peso corporal (PC) inicial médio de 90 kg, oriundos do rebanho da própria instituição. O período experimental foi dividido em duas fases: Fase 1 – cria (240 dias); Fase 2 – recria e terminação (aproximadamente 360 ou 720 dias). Antes do início do experimento a campo, o projeto guarda-chuva relacionado a este projeto foi submetido à avaliação de Comissão de Ética no Uso de Animais do Departamento de Descentralização do Desenvolvimento (CEUA DDD) da APTA, tendo sido aprovado sob nº 0006/2021 – CEUA.

O experimento foi conduzido em delineamento em blocos casualizados, com os tratamentos organizados em esquema de parcelas subdivididas; a suplementação durante a fase de cria (Sal Mineral – MS vs. *Creep-feeding* – CF) constituiu a parcela principal, enquanto a estratégia de terminação (Intensiva – I vs. Extensiva – E) representou a outra parcela. Foram utilizados doze piquetes como unidades experimentais das parcelas principais, sendo o peso corporal inicial (PC) adotado como critério de bloqueio. Embora o delineamento geral incluía a fase de terminação, esta pesquisa concentra-se exclusivamente nos efeitos pré-desmame, comparando bezerros que receberam sal mineral *ad libitum* (MS) com aqueles suplementados via *creep-feeding* na dose de 5 g/kg de BW (CF), do dia 60 ao dia 240.

Devido ao caráter deste estudo, que visou investigar modificações de processos biológicos e vias metabólicas em função de dieta, foi necessário garantir a homogeneidade do rebanho, bem como dos grupos experimentais. Isso, não somente por “aleatorização” e/ou blocagem (controle ambiental) dos grupos experimentais ao

início do experimento, mas também no período anterior, incluindo o período gestacional das vacas e pós-parto. Desta forma, o período pré-experimento foi conduzido com vacas contemporâneas e de mesma ordem de parto pertencentes ao rebanho experimental permanente do APTA. Estas vacas foram inseminadas e permaneceram em um mesmo lote durante toda a gestação. Este lote foi dividido em doze piquetes em uma mesma gleba, os quais foram monitorados quanto a composição química, produção, altura e disponibilidade da forragem. Contudo, não foi encontrado efeito significativo do piquete sobre estas características. Além disso, o peso corporal (PC) e a produção de leite das vacas e o PC dos bezerros foram monitorados com ao menos uma mensuração no período pré-experimento, os quais foram observados como estaticamente semelhantes entre os grupos experimentais (SM e CF) (Tabela 1).

Tabela 1. Médias e diferenças estimadas entre médias do peso corporal de vacas à gestação e aos 60 dias após o parto, do peso corporal de bezerros ao nascimento e aos 60 dias de idade e da produção e composição do leite aos 30 dias pós-parto.

	Característica	Período	Ls means ($\pm$ EP)		DE ($\pm$ EP)	t ratio	p-valor
			SM	CF			
Bezerros	PC (kg)	0d - nascimento	35,51 ^b $\pm$ 1,268	36,45 ^b $\pm$ 1,284	-0,951 $\pm$ 1,802	-0,527	0,952
		60d - início CF	92,65 ^a $\pm$ 1,275	92,91 ^a $\pm$ 1,268	0,272 $\pm$ 1,796	0,151	0,998
Vacas	PC (kg)	240d de Gestação	511,3 ^a $\pm$ 5,826	511,40 ^a $\pm$ 5,801	0,098 $\pm$ 8,207	0,012	0,999
		60d pós-parto – início CF	420,94 ^b $\pm$ 5,826	421,78 ^b $\pm$ 5,842	0,843 $\pm$ 0,842	0,103	0,999
Leite	PA (kg)	30d pós-parto	5,11 ^a $\pm$ 0,236	5,06 ^a $\pm$ 0,230	-0,055 $\pm$ 0,328	-0,169	0,877
	% Proteína	30d pós-parto	3,21 ^a $\pm$ 0,032	3,23 ^a $\pm$ 0,031	0,023 $\pm$ 0,045	0,509	0,647
	% Gordura	30d pós-parto	3,23 ^a $\pm$ 0,181	3,42 ^a $\pm$ 0,178	0,185 $\pm$ 0,179	1,035	0,426

EP: erro-padrão; DE: diferença estimada; PC: peso corporal; CF: *creep-feeding*; PA: peso ajustado a 4% de gordura. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre médias de tratamentos em um mesmo período com nível de erro de 5%.

2.3. Manejo alimentar

Durante a fase de cria, os bezerros foram distribuídos em dois tratamentos: sal mineral (MS; n = 48), fornecido *ad libitum*, ou *creep-feeding* (CF; n = 48), ofertado na dose de 5 g/kg de peso corporal (PC). O MS consistiu em 100% de núcleo mineral. O suplemento CF (energético-proteico) foi composto por 60,0% de milho e 40,0% de núcleo proteico, fornecendo 22,0% de proteína bruta (PB) e 70,0% de nutrientes digestíveis totais (NDT). Os suplementos foram fornecidos diariamente às 10:00 h. As sobras foram pesadas antes do fornecimento seguinte para determinação do consumo de matéria seca (CMS). A quantidade de suplemento foi ajustada com base no peso corporal, aferido a cada 35 dias, sem jejum prévio. A água foi disponibilizada *ad libitum*, e amostras dos alimentos fornecidos e das sobras foram coletadas semanalmente para análise química.

2.4. Desempenho e ultrassonografia de carcaça

Na fase de cria do experimento, os bezerros foram pesados a cada 35 dias para a obtenção do peso corporal (PC, kg). Estas pesagens foram utilizadas para monitoramento da quantidade de suplemento que foi fornecido e para cálculos de ganhos de peso dos animais. As pesagens foram feitas sem jejum prévio, às 7h00. Ao final da fase foi realizada pesagem com jejum prévio (sólidos e líquidos) de 16 horas. O ganho de peso diário (GPD, kg) dos animais foi determinado pela diferença entre o PC final e o PC inicial, dividido pelo total de dias da fase.

A ultrassonografia de carcaça foi feita em todos os bezerros ao desmame. Foi realizada por técnico habilitado da APTA utilizando ultrassom (Aloka SSD 500 V, sonda de 17 cm 3,5 MgHz, UST-5049-3.5). Mensurou-se: área de olho de lombo (AOL; cm²), espessura de gordura subcutânea (EGS; mm), espessura de gordura na picanha (EGP; mm) e escore de marmoreio (EM; valores de 1 a 10). As imagens foram tomadas entre as 12^a e 13^a costelas, transversal ao músculo LT, de modo que a EGS foi medida no terço médio distal da AOL, assim como na altura da garupa (P8). Todas as medidas foram tomadas após a limpeza da pele e com uso de óleo vegetal como acoplante acústico.

2.5. Coleta de sangue

A coleta de sangue foi realizada em todos os animais integrantes do experimento.

Amostras de sangue foram colhidas sem jejum prévio, pela manhã, ao desmame (d 240). O sangue foi coletado por meio de punção venosa direta da jugular, com contenção suave, em um tubo de 10 mL, sem anti-coagulante, para análise do proteoma e para quantificação plasmática de ureia, triglicerol e haptoglobina. As amostras coletadas nos tubos foram centrifugadas a 3000 rpm por 10 minutos a 4°C e o plasma foi estocado a -80°C para realização das análises supracitadas.

2.6. Proteômica do plasma

2.6.1. Quantificação de proteínas e eletroforese unidimensional

Para as análises proteômicas, foram utilizados seis animais por tratamento (MS e CF), totalizando 12 amostras plasmáticas. A equivalência entre a amostragem total e a subamostragem destinada às análises foi avaliada pelo procedimento TOST (Two One-Sided Tests) utilizando o pacote TOSTER^{23, 24} no software R. Foram adotados limites de equivalência de ± 1 desvio-padrão, considerando-se $P_{eq} < 0.05$ como indicativo de equivalência estatística dentro de cada grupo experimental.

Considerando que as amostras a serem analisadas já se encontravam no estado líquido (plasma bovino), procedeu-se à quantificação de proteínas pelo método de Bradford (1976), utilizando o kit BioRad® Protein Assay (Bio-Rad Laboratories, EUA), por meio de quatro diluições da proteína padrão albumina bovina (BSA). As leituras de absorvância de cada amostra foram obtidas em espectrofotômetro μ Quant, no comprimento de onda de 595 nm. Tanto as quatro diluições da proteína padrão quanto as amostras experimentais foram preparadas em três réplicas técnicas.

A fim de avaliar a qualidade/integridade das proteínas extraídas, realizou-se ensaios de eletroforese unidimensional em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) a 12,5% (m/v) em condições desnaturantes e redutoras (Laemmli, 1970).

2.6.2. Digestão de proteínas em solução

Após a quantificação e a verificação da qualidade das proteínas, 50 μ g de cada amostra foram submetidas a etapa de digestão proteica com tripsina. Todos os procedimentos realizados na digestão de proteínas em solução estão de acordo com Dias *et al.* (2022).

Volumes correspondentes a 50 μ g foram separados em microtubos plásticos de baixa retenção do tipo Lobind (Eppendorf, Alemanha). As amostras foram complementadas com o tampão Bicarbonato de Amônio 50 mM (Merck, EUA) até que

completassem 60 µL de volume final. Posteriormente, adicionou-se 25 µL da solução RapiGest SF 0,2% (Waters, EUA). Em seguida, as amostras foram agitadas em vórtex, centrifugadas (pulso) e transferidas para um bloco aquecido a 37°C e incubadas por 60 min. Posteriormente foram adicionados 2,5 µL de DTT 100 mM (Merck, EUA), as amostras foram agitadas em vórtex, centrifugadas (pulso) e colocadas em um bloco aquecido a 37°C, onde foram incubadas por 40 min. Após esta etapa adicionou-se 2,5 µL de Iodoacetamida 300 mM (Merck, EUA), as amostras foram agitadas em vórtex, centrifugadas (pulso) e transferidas para um local escuro e incubadas à temperatura ambiente por 30 minutos. Após estas etapas a enzima tripsina (Promega, EUA) foi adicionada às amostras (1:50 [enzima:substrato]), as quais foram imediatamente incubadas a 37°C por 16 horas. No dia seguinte a reação enzimática foi paralisada com 10 µL de TFA 5% (v/v) (Merck, EUA), as amostras foram agitadas em vórtex, centrifugadas (pulso) e incubadas a 37°C por 90 min. Posteriormente foram centrifugadas a 10.000 g, por 30 minutos a temperatura ambiente. Assim, os sobrenadantes de cada amostra foram transferidos para um novo microtubo plástico de baixa retenção do tipo Lobind (Eppendorf, Alemanha).

Após a digestão triptica, as amostras foram dessalinizadas em colunas Sep-Pak Vac 1cc C18 (Waters, EUA) segundo as recomendações do fabricante e, posteriormente, foram secas em concentrador (*Concentrator Plus* – Eppendorf, Alemanha) por 6 horas. As amostras foram ressuspendidas em 40 µL de ácido fórmico 0,1% (Merck, EUA) e tiveram seus peptídeos quantificados pelo método fluorimétrico Qubit (Thermo Fisher Scientific, EUA).

2.6.3. Sequenciamento peptídico por espectrometria de massas

As análises de espectrometria de massas foram realizadas por meio de um equipamento de nanocromatografia líquida Ultimate 3000 LC (Dionex, Alemanha) acoplado à um equipamento de espectrometria de massas Q-Exactive (Thermo Fisher Scientific, EUA). Toda metodologia de espectrometria de massas foi apoiada integralmente no artigo de Cavalcante *et al.* (2022).

As fases móveis utilizadas foram: A) ácido fórmico 0,1% [v/v] em água LCMS e B), ácido fórmico 0,1% [v/v] em acetonitrila 80% [v/v]. Os peptídeos foram carregados em uma pré-coluna C18, 30µm x 5mm (ThermoFisher Scientific, EUA), e dessalinizados num gradiente isocrático de 4%B por 3 minutos à um fluxo de 300 nL/min. Em seguida, os peptídeos foram fracionados por uma coluna analítica

Reprosil-Pur C18-AQ, 3 μ m, 120 Å, 105mm, PICOCHIP, UK) utilizando um gradiente linear de 4-55%B por 30 min, 55% a 90%B por 1 min, mantido à 90%B por 5 minutos e reequilibrado à 4%B por 20 minutos à um fluxo de 300 nL/min. A ionização foi obtida utilizando uma fonte *Nanospray ion source* (PICOCHIP, UK). O modo de operação foi ionização positiva utilizando o método DDA. Os espectros MS foram adquiridos de m/z 200 à m/z 2000, resolução de 70.000 e 100 ms de tempo de injeção. A câmara de fragmentação foi condicionada com energia de colisão entre 29 a 35% com resolução de 17.500, 50 ms de tempo de injeção, 4,0 m/z de janela de isolamento e exclusão dinâmica de 10s. Os dados de espectrometria foram adquiridos por meio do software Thermo Xcalibur versão 4.0.27.19 (ThermoFisher Scientific, EUA).

2.6.4. Análise dos dados

Os dados brutos provenientes das análises de espectrometria de massas no formato *.RAW* foram submetidos ao *software* PatternLab versão 4.0.0.84 (Carvalho *et al.*, 2016) para a obtenção da identificação das proteínas (*hits* proteicos) totais. Os principais parâmetros utilizados nesta ferramenta foram: banco de dados UNIPROT (Taxonomy: *Bos indicus* x *Bos taurus*) Entry: UP000314981 (total de 42.151 proteínas); enzima tripsina; permissão de duas clivagens perdidas; modificação pós-traducional carbamidometilação dos resíduos de cisteínas; modificação pós-traducional variável oxidação dos resíduos de metionina; erros de tolerância MS e MS/MS de 0,0200 ppm. A taxa de FDR (False Discovery Rate) máxima considerada foi de $\leq 1\%$.

A partir das contagens espectrais de cada proteína identificada, as quais foram normalizadas para cada proteína pela média ponderada das triplicatas técnicas de cada amostra (Chong *et al.*, 2014), foi construída uma matriz compatível com o programa MetaboAnalyst 4.0 ® (<https://www.metaboanalyst.ca/>). Apenas sinais proteicos presentes em 80% das amostras foram considerados. Além disso foram mantidas somente aquelas proteínas com pelo menos dois peptídeos atribuídos de forma única. A partir MetaboAnalyst, análise Discriminante de Quadrados Mínimos Parciais (*Partial Least Squares Discriminant Analysis* [PLS-DA]), $p < 0,05$) foi empregada para verificar se os grupos amostrais (SM e CF) apresentavam características que os diferenciavam estatisticamente e o teste t para indicar proteínas com diferença de abundância ($p < 0,05$).

A partir da lista de proteínas com diferença de abundância, interações proteína-proteína (IPP) foram investigadas com o uso do software STRING (<http://string-db.org/>), utilizando a taxonomia *Bos indicus* x *Bos taurus* como organismo de referência e as seguintes evidências de interação funcional (*active interactions source*): *textmining* (co-mencionados em resumos da base de dados PubMed), *experiments* (interação evidenciada por experimentação ou dados bioquímicos), *databases* (associação encontrada em bancos de dados curados) e *co-expression* (proteínas expressas a partir de genes co-expressos). As redes de interação foram geradas utilizando parâmetros *default* do programa: nível de confiança > 0,40 e p-value PPI de enriquecimento < 1,0e-16.

O conjunto de proteínas identificadas como diferencialmente abundantes entre SM e CF foi utilizado na análise de *over representation* (ORA), considerando termos de ontologia genética (GO) (processos biológicos – BPs) e vias metabólicas (bases de dados KEGG Pathway e Reactome) e a subespécie *Bos taurus* como organismo de interesse. A ferramenta WebGestalt, uma plataforma online projetada para análise funcional e interpretação de dados biológicos (Wang *et al.*, 2017), foi utilizada para esse propósito. GO_BPs e vias foram enriquecidos quando p ajustado foi menor que 5% (FDR < 0,05).

2.7. Análise estatística dos dados fenotípicos

Os dados relacionados ao desempenho, às características de carcaça e aos marcadores bioquímicos plasmáticos para as 96 amostras foram analisados quanto à presença de informações discrepantes, homogeneidade de variâncias e normalidade dos resíduos. Não foram necessárias transformações nas variáveis para providenciar uma aproximação da distribuição normal.

Para análises subsequentes, o piquete foi considerado como unidade experimental e a variação de bezerros dentro de piquetes foram modelados como efeitos aleatórios. Para características medidas em duas ou mais vezes no tempo, a repetição piquete ao longo do tempo foi modelado como efeito aleatório. Como efeito fixo foram considerados o tipo de cria (sal mineral – SM / *creep-feeding* – CF) e o tipo de recria e terminação (extensivo – E / intensivo – I) e suas interações, além do efeito fixo de blocos (1, ...,6).

A partir disso, para estimar o efeito do tratamento sobre as características de desempenho (peso corporal à desmama – PCD e ganho de peso diário pré desmama

– GPD), de carcaça (AOL, EGS, EGP e EM) e de marcadores plasmáticos (concentrações de ureia [mg/dL], triglicerol [mg/dL] e haptoglobina [mg/ml]) foi ajustado modelo em que foi considerado três pontos de pesagem e coleta de sangue (a desmama, ao abate do sistema intensivo e ao abate do sistema extensivo), como segue: $y_{ijklmn} = u + B_i + Cj_j \cdot T_k \cdot L_n + \beta_l(P_i) + \beta_m(C_j) + e_{ijklmn}$, em que: y_{ijklmn} : observação da variável dependente; u : Intercepto geral (constante); B_i : Efeito fixo do "Bloco"; $Cj_j \cdot T_k \cdot L_n$: Interação entre os efeitos fixos Cria (C), Terminação (T), e Coleta (L); $\beta_l(P_i)$: Efeito aleatório do Bezerro dentro do Piquete (P); $\beta_m(C_j)$: Efeito aleatório do Piquete dentro de Coleta (L); e_{ijklmn} : Erro residual.

O modelo foi avaliado por meio de ANOVA tipo III com aproximação de graus de liberdade por *Satterthwaite* utilizando o pacote do software *R*, *lme4* (Bates, et al. 2015). As médias simples e de interações foram comparadas por meio de médias marginais estimadas com correção de Bonferroni ao nível significância de 5% utilizando o pacote *emmeans* (Lenth, et al. 2025) do *R*.

3. Resultados

3.1. Desempenho pré-desmama

O PCD foi significativamente maior para os bezerros submetidos ao *creep-feeding* em relação aos do grupo controle (sal mineral) ($p = 0,02$) (Tabela 2). O GPD dos bezerros foi maior ($p = 0,015$) para bezerros em *creep-feeding* em relação aos bezerros do grupo controle.

Tabela 2. Medidas de desempenho pré-desmama.

Medida	Cria	Emmean	SE	Df	lower.CL	upper.CL
PCD, Kg	Controle - SM	248,49 ^b	3,33	74	241,85	255,14
	Creep - CF	259,73 ^a	3,21	74	253,34	266,12
GPD, Kg	Controle - SM	0,885 ^b	0,021	24,131	0,842	0,929
	Creep - CF	0,962 ^a	0,020	21,287	0,920	1,005

PCD: peso corporal à desmama; GPD: ganho de peso diário entre o início do experimento e a desmama; Emmean: médias marginais estimadas, SE: erro padrão, df: grau de liberdade; lower.CL: valor mínimo do intervalo de confiança; upper.CL: valor máximo do intervalo de confiança.

^{a,b} médias com letra sobrescrita diferentes são significativamente diferentes.

3.2. Medidas de carcaça coletadas por US à desmama

Na sequência são apresentadas as medidas de carcaça coletadas por ultrassom no momento da desmama (Tabela 3). Foi observada diferença estatística ($p < 0,05$) para AOL, onde os animais suplementados apresentaram valores maiores ($p = 0,02$).

Tabela 3. Medidas de carcaça coletadas por ultrassom no momento da desmama.

Medida	Cria	Emmean	SE	Df	lower.CL	upper.CL
AOL, cm ²	Controle - SM	59,21 ^b	1,19	11,69	56,61	61,81
	Creep - CF	63,84 ^a	1,14	10,18	61,31	66,38
EGS, mm	Controle - SM	2,82	0,15	11,45	2,50	3,14
	Creep - CF	3,13	0,14	10,51	2,82	3,44
EGP, mm	Controle - SM	4,12	0,15	11,66	3,79	4,45
	Creep - CF	4,27	0,15	10,23	3,94	4,59
EM, pontos	Controle - SM	2,52	0,10	10,35	2,31	2,73
	Creep - CF	2,79	0,10	11,57	2,57	3,00

AOL: área de olho de lombo; EGS: espessura de gordura subcutânea; EGP: espessura de gordura na picanha; EM: escore de marmoreio; Emmean: médias marginais estimadas, SE: erro padrão, df: grau de liberdade; lower.CL: valor mínimo do intervalo de confiança; upper.CL: valor máximo do intervalo de confiança.

^{a,b} médias com letra sobrescrita diferentes são significativamente diferentes.

3.3. Marcadores bioquímicos do sangue

As medidas de marcadores bioquímicos do sangue (uréia, triglicerol e haptoglobina), tomadas a partir de amostras do plasma sanguíneo coletadas ao desmame encontram-se apresentadas nas Tabela 4. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos de animais suplementados (CF) e não suplementados (SM) para triglicerol e haptoglobina. Em relação à uréia, foi observado uma tendência à diferença ($p = 0,065$), com animais CF apresentando valores superiores a SM.

Tabela 4. Marcadores bioquímicos do sangue medidos ao desmame.

Medida	Cria	Emmean	SE	df	lower.CL	upper.CL
Uréia, mg/dL	Controle - SM	12,677 ^y	0,829	49,588	11,010	14,343
	Creep - CF	14,895 ^x	0,827	41,557	13,226	16,564
Triglicerol, mg/dL	Controle - SM	18,313	1,203	41,557	15,886	20,741
	Creep - CF	19,905	1,206	49,588	17,481	22,329
Haptoglobina, mg/mL	Controle - SM	0,724	0,030	20,724	0,662	0,786
	Creep - CF	0,687	0,032	25,166	0,621	0,753

Emmean: médias marginais estimadas, SE: erro padrão, df: grau de liberdade; lower.CL: valor mínimo do intervalo de confiança; upper.CL: valor máximo do intervalo de confiança.

^{x,y} médias com letra sobrescrita diferentes tender a ser significativamente diferentes.

3.4. Proteoma do plasma

Foram identificados 186 *hits* proteicos para o grupo SM (controle) e 189 para o grupo CF (tratamento), com 160 comum aos dois grupos. Quando a identificações das proteínas foram analisadas por máxima parcimônia, a qual evidencia as proteínas identificadas no conjunto de proteínas de todas as amostras de ambos os grupos que representam as proteínas com a maior probabilidade de existirem nas amostras, ou seja, as proteoformas são condensadas numa mesma posição quando apresentam sobreposições estruturais, foi apontada a ocorrência de 61 e 62 proteínas nos grupos controle e tratamento, respectivamente, com 39 comuns.

A Análise Discriminante de Quadrados Mínimos Parciais (PLS-DA) mostrou que os dois primeiros componentes principais explicaram quase 70% da variação entre amostras (Figura 1), e evidenciou que os dois grupos amostrais apresentaram características que os diferenciam estatisticamente ($p < 0,05$). O teste t indicou as proteínas diferencialmente abundantes ($P < 0,05$) quando o grupo controle foi comparado com o grupo tratamento por meio do gráfico Volcano Plot (Figura 2).

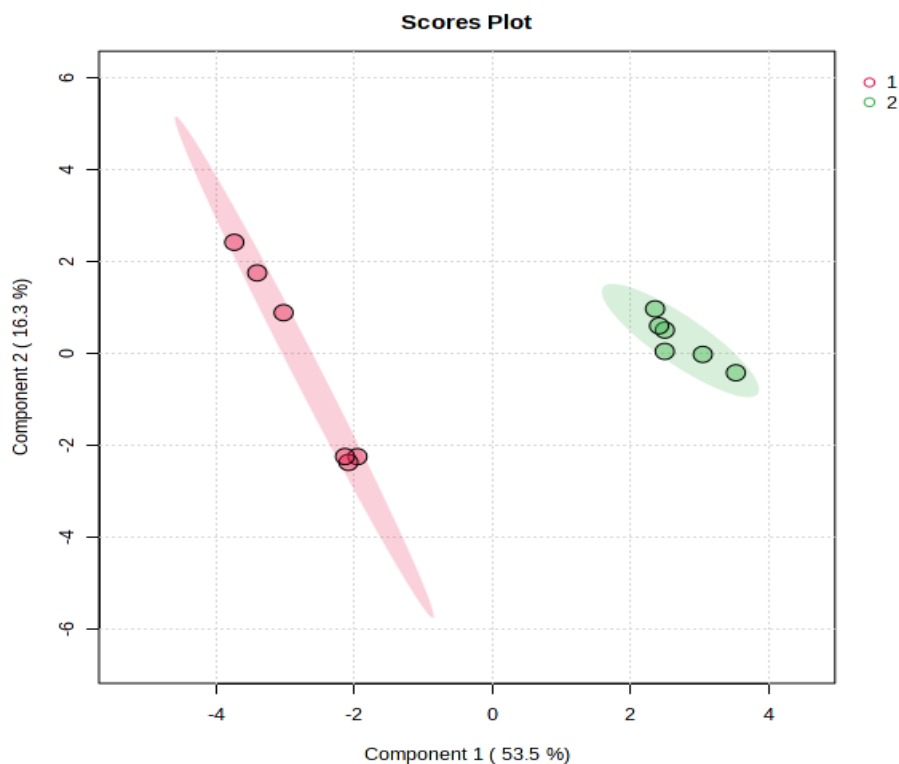


Figura 1. Análise Discriminante de Quadrados Mínimos Parciais (PLS-DA), $p < 0,05$ do proteoma de plasma bovinos no grupo SM (controle – 1) e grupo CF (tratamento – 2).

Um total de 44 proteínas apresentaram diferença de abundância ($\log_2\text{Fold Change} \geq [1,0]$ e $p \text{ ajustado} \leq 0,05$) (Figura 2 e Tabelas 5 e 6). Destas, 30 apresentam alto escore de anotação por terem a existência inferida por homologia e 14 apresentam baixo escore de anotação pelo fato de terem existência predita.

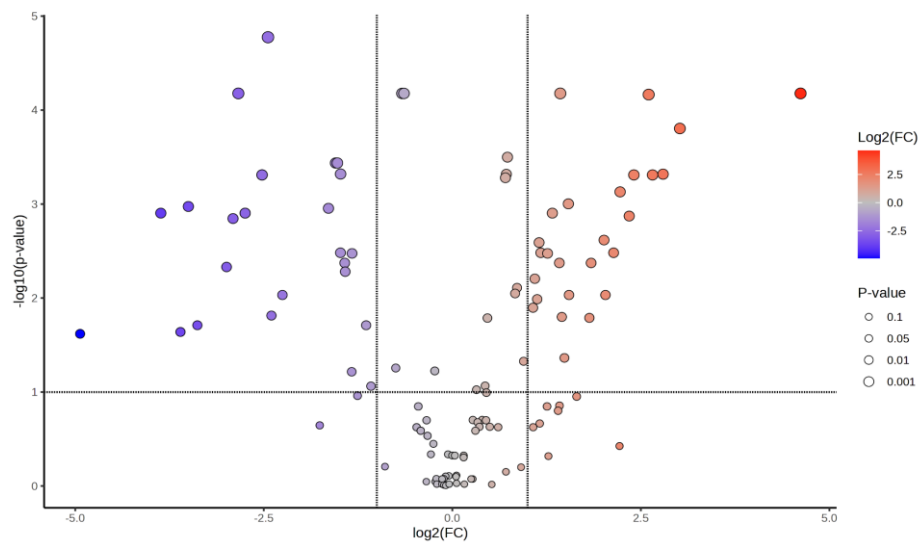


Figura 2. Volcano Plot das proteínas diferencialmente abundantes presentes nos plasmas bovinos na comparação entre os grupos SM (controle) e CF (tratamento). Pontos azuis: proteínas *down-regulated* no grupo CF em relação ao grupo SM. Pontos vermelhos: proteínas *up-regulated* no grupo CF em relação ao grupo SM.

Tabela 5. Proteínas *down-regulated* ($\log_2\text{Fold Change} \geq [1,0]$: p ajustado $\leq 0,05$) no plasma de bovinos do grupo CF (tratamento) na comparação com o grupo SM (controle).

Proteína	Gene*	$\log_2\text{FC}$	P ajustado
PHD finger protein 2	<i>PHF2</i>	-4,9349	0,0240
Cystatin fetuin-B-type domain-containing protein	<i>FETUB</i>	-3,8647	0,0012
Inositol polyphosphate-related phosphatase domain-containing protein	<i>INPP5E</i>	-3,6043	0,0229
Outer dense fiber protein 2	<i>ODF2</i>	-3,6043	0,0229
Uncharacterized protein	---	-3,4995	0,0010
Cullin 9	<i>CUL9</i>	-3,3799	0,0194
SH3 domain-containing protein	---	-2,9075	0,0014
ETS transcription factor ELK1	<i>CFP</i>	-2,7467	0,0012
Complement C7	<i>C7</i>	-2,7467	0,0012
Fibulin-1	<i>FBLN1</i>	-2,5224	0,0004
ELK domain-containing protein	<i>AKAP9</i>	-2,5224	0,0004
Sushi domain-containing protein	---	-2,3981	0,0153
Complement component C9	<i>C9</i>	-2,2521	0,0092
SMB domain-containing protein	<i>VTN</i>	-1,6419	0,0011
Plasminogen	<i>PLG</i>	-1,5471	0,0003
Protein AMBP	<i>AMBP</i>	-1,5234	0,0003
Alpha-2-HS-glycoprotein	<i>AHSG</i>	-1,4828	0,0032
Ig-like domain-containing protein	----	-1,4813	0,0004
Alpha-2-HS-glycoprotein	<i>AHSG</i>	-1,4264	0,0042
Complement factor B	<i>CFB</i>	-1,4197	0,0052
Ig-like domain-containing protein	---	-1,3293	0,0033
Complement factor B	<i>CFB</i>	-1,1423	0,0194
Complement C5	<i>C5</i>	-1,0781	0,0465

*Proteínas com a identificação gênica têm a sua existência inferida por homologia e apresentam alto escore de anotação, Proteínas sem identificação gênica têm a sua existência predita e apresentam baixo escore de anotação.

Tabela 6. Proteínas *up-regulated* ($\log_2\text{Fold Change} \geq [1,0]$: p ajustado $\leq 0,05$) no plasma de bovinos do grupo CF (tratamento) na comparação com o grupo SM (controle).

Proteína	Gene*	$\log_2\text{FC}$	P ajustado
Hemopexin	<i>HPX</i>	2,139	0,0032
Complement factor I	<i>CFI</i>	1,0939	0,0062
Protein HP-20 homolog	<i>LOC113892680</i>	1,1257	0,0102
Lipocalin/cytosolic fatty-acid binding domain-containing protein	---	1,1731	0,0032
Apolipoprotein A-IV	---	1,2631	0,0033
Serpin family D member 1	<i>SERPIND1</i>	1,3268	0,0012
Apolipoprotein D	<i>APOD</i>	1,4196	0,0042
Ig-like domain-containing protein	---	1,4524	0,0158
Ig-like domain-containing protein	---	1,4867	0,0433
Ig-like domain-containing protein	---	1,5474	0,0092
Serpin domain-containing protein	<i>LOC113879933</i>	1,8179	0,0162
Ig-like domain-containing protein	---	1,8406	0,0042
Gelsolin	<i>GSN</i>	2,0117	0,0024
Amine oxidase	<i>AOC3</i>	2,0309	0,0092
Apolipoprotein A-II	<i>APOA2</i>	2,2251	0,0007
Ig-like domain-containing protein	---	2,3457	0,0013
Ig-like domain-containing protein	---	2,4076	0,0004
Apolipoprotein A-I	<i>APOA1</i>	2,6555	0,0004
Serpin domain-containing protein	---	2,7944	0,0004
Hemoglobin subunit theta-1-like	<i>LOC113883300</i>	3,0175	0,0001
Fibrinogen gamma chain	<i>FGG</i>	2,07	0,0126

*Proteínas com a identificação gênica têm a sua existência inferida por homologia e apresentam alto escore de anotação, Proteínas sem identificação gênica têm a sua existência predita e apresentam baixo escore de anotação.

Na Figura 3 encontra-se apresentada a rede de interação proteína-proteína (PPI) das proteínas identificadas/inferidas por homologia (escore de anotação alto) com diferença de abundância entre CF e SM. Foram identificadas 84 arestas (interações significativas). O coeficiente médio de clusterização encontrado foi de 0,57. Oito proteínas mostraram-se desconectados da rede.

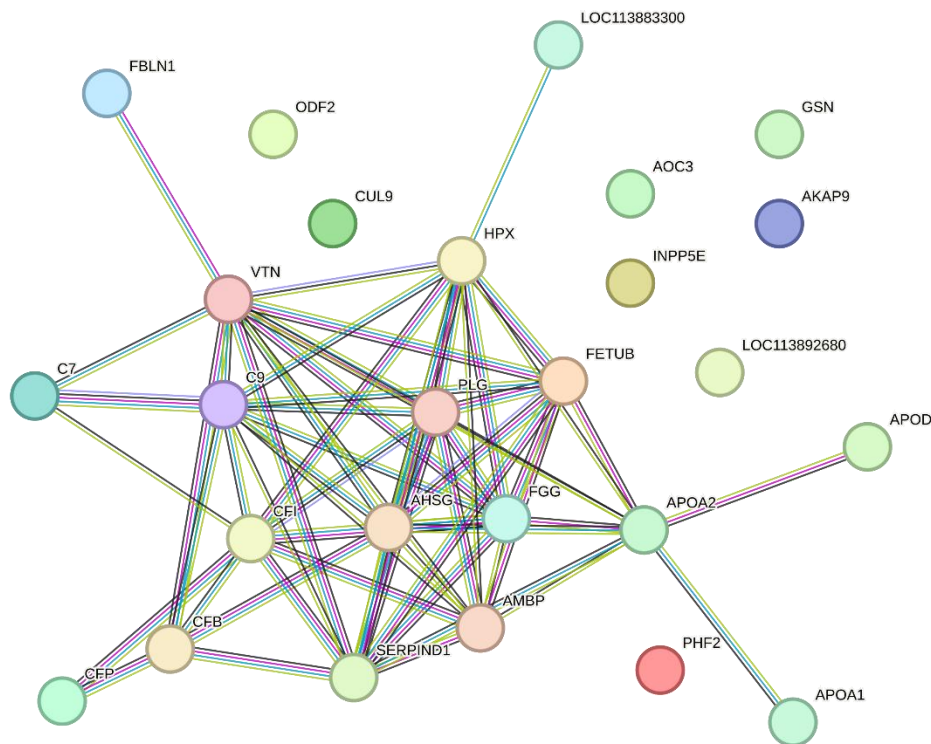


Figura 3. Rede PPI das proteínas identificadas com diferença de abundância entre CF e SM, Tipo de interação (cor da aresta) entre os nós (proteínas): verde claro – *textmining*; verde escuro – *curated databases*; rosa – *experiments*; preto – *co-expression*. Um número maior de arestas (ligações mais espessas) indica uma maior evidência de força de interação entre dois nós.

3.5. Análise de enriquecimento funcional

Na Tabela 7 são apresentados os termos de Gene Ontology (GO) relacionados aos Processos Biológicos (BP) enriquecidos (p ajustado $< 0,05$) na análise que envolveu as proteínas identificadas/inferidas por homologia e diferencialmente abundantes entre os animais dos SM e CF. Nas Tabelas 8 e 9 encontram-se apresentadas as vias metabólicas (pathways) enriquecidas (p ajustado $< 0,05$) utilizando como referência informações dos bancos de dados KEGG e Reactome, respectivamente.

Tabela 7. Processos biológicos enriquecidos (GO_BP) considerando as proteínas diferencialmente expressas entre os grupos SM e CF à desmama.

Identificação	Descrição	Nº de proteínas	P ajustado	Proteínas
GO:0006959	Humoral immune response	4	0,0209	C5, C7, C9, CFB
GO:0002252	Immune effector process	5	0,0354	APOA2, C5, C7, C9, CFB
GO:0042157	Lipoprotein metabolic process	3	0,0354	APOA1, APOA2, APOD
GO:0060627	Regulation of vesicle-mediated transport	4	0,0364	AHSG, APOA1, APOA2, VTN
GO:0009611	Response to wounding	4	0,0364	APOD, FGG, PLG, SERPIND1
GO:0050817	Coagulation	3	0,0364	FGG, PLG, SEPIND1

Tabela 8. Vias metabólicas enriquecidas (KEGG) considerando as proteínas diferencialmente expressas entre os grupos SM e CF à desmama.

Identificação	Descrição	Nº de proteínas	P ajustado	Proteínas
bta04610	Complement and coagulation cascades	9	<0,001	C5, C7, C9, CFB, CFI, FGG, PLG, SERPIND1, VTN
bta05150	Staphylococcus aureus infection	5	<0,001	C5, CFB, CFI, FGG, PLG
bta05171	Coronavirus disease	5	0,006	C5, C7, C9, CFB, FGG
bta04810	Regulation of actin cytoskeleton	4	0,033	C5, C7, C9, GSN

Tabela 9. Vias metabólicas enriquecidas (Reactome) considerando as proteínas diferencialmente expressas entre os grupos SM e CF à desmama.

Identificação	Descrição	Nº de proteínas	P ajustado	Proteínas
R-BTA-977606	Regulation of Complement cascade	4	<0,001	C5, C9, CFB, VTN
R-BTA-166658	Complement cascade	4	<0,001	C5, C9, CFB, VTN
R-BTA-8957275	Post-translational protein phosphorylation	4	0,003	AHSG, APOA1, APOA2, SERPIND1
R-BTA-381426	Regulation of Insulin-like Growth Factor (IGF) transport and uptake by Insulin-like Growth Factor Binding Proteins (IGFBPs)	5	0,003	AHSG, APOA1, APOA2, SERPIND1
R-BTA-174577	Activation of C3 and C5	2	0,009	C5, CFB
R-BTA-8963888	Chylomicron assembly	2	0,009	APOA1, APOA2
R-BTA-8963901	Chylomicron remodeling	2	0,015	APOA1, APOA2
R-BTA-8963898	Plasma lipoprotein assembly	2	0,015	APOA1, APOA2

4. Discussão

4.1. Desempenho, características de carcaça e marcadores plasmáticos

A bovinocultura de corte moderna busca continuamente estratégias nutricionais que otimizem o desempenho e a eficiência produtiva dos animais. Nesse contexto, o sistema de *creep-feeding* tem se destacado como ferramenta para potencializar o crescimento e o desenvolvimento na fase inicial de vida dos bezerros (Lardy; Maddock, 2007; Carvalho *et al.*, 2019; Catussi *et al.*, 2024). Os resultados do presente trabalho indicaram que o grupo de bezerros Nelore suplementado com dieta energético-proteica à base de milho e farelo de soja (grupo CF), fornecida a 0,5% do peso vivo, apresentou, ao desmame, maior ganho de peso (GPD), peso corporal (PCD) e área de olho de lombo (AOL), quando comparado ao grupo controle não suplementado (SM), sem, contudo, haver diferenças significativas na deposição de gordura subcutânea (EGS e EGP) e no escore de marmoreio (EM). Adicionalmente, observou-se uma tendência de aumento na concentração de ureia plasmática nos animais do grupo CF.

O aumento observado no PCD e na área de olho de lombo (AOL) nos bezerros do grupo CF é um indicativo direto de maior deposição de massa muscular e, consequentemente, de hipertrofia muscular. Este aumento é uma resposta esperada a uma nutrição otimizada, rica em aminoácidos e energia. A suplementação na fase de cria promoveu ganho de peso adicional de 0,077 kg/dia, correspondendo a 11 kg a mais no desmame. Apesar de significativa, a diferença no PCD entre os grupos CF e SM foi pequena frente ao esperado e pode ter relação com os meses de nascimento dos animais (entre agosto e setembro). Neste sentido, observou-se que os animais do grupo controle apresentaram desempenho acima do esperado (PCD: 249 kg; GPD: 0,885 kg). Os animais nascidos na estação seca (agosto e setembro) têm menor exposição à umidade e, consequentemente, menor risco de doenças parasitárias em comparação com os nascidos na estação chuvosa (outubro a dezembro). Além disso, têm acesso à pastagens de melhor qualidade por mais tempo, e, por isso, podem apresentar melhor desempenho durante a fase pré-desmama e, consequentemente, maior peso ao desmame.

A ausência de diferenças significativas na espessura de gordura subcutânea (EGS e EGP) e no escore de marmoreio (EM) entre os grupos CF e SM, apesar do

maior aporte energético da dieta de *creep-feeding*, pode ser explicada pelo particionamento de nutrientes em animais jovens e pelas características da raça Nelore. Em animais em fases iniciais de crescimento, a prioridade metabólica é direcionada para o desenvolvimento de órgãos vitais, tecido ósseo e, subsequentemente, tecido muscular, em detrimento da deposição de gordura (Owens *et al.*, 1995). A raça Nelore, sendo zebuína, é caracterizada por uma deposição de gordura de acabamento e marmoreio geralmente mais tardia em comparação com raças taurinas (Rotta *et al.*, 2009). Para que ocorresse um aumento significativo na EGS, EGP e, posteriormente, no EM, seria necessário um balanço energético positivo consideravelmente maior, um estímulo específico para a adipogênese que pode não ter sido atingido com o nível de suplementação de 0,5% do peso vivo. Pesquisa de meta-análise realizada por Carvalho *et al.* (2019) a partir de 18 estudos conduzidos com a raça Nelore mostraram que a quantidade de suplementação na fase de cria influencia os níveis de ganho de peso dos bovinos. O ganho de peso adicional (em comparação com bezerros não suplementados) teve uma resposta quadrática, ou seja, aumentou até um ponto máximo (7,6 g/kg e 5,5g/kg de peso vivo em machos e fêmeas, respectivamente) e depois tendeu a se estabilizar ou diminuir com níveis muito altos de suplemento. De acordo com Ramírez-Zamudio, *et al.* (2023) a suplementação de bezerros F1 Angus x Nelore na fase de cria na quantidade de 1% do peso vivo funcionou como uma programação metabólica ao afetar a expressão de genes no músculo esquelético, preparando o tecido adiposo intramuscular para a futura deposição de gordura no período pós-desmame. Como resultado prático, além do maior peso à desmama, os animais que receberam suplementação apresentaram ao abate um aumento de 22,1% na gordura de cobertura e 17,2% na gordura intramuscular.

O aumento da concentração de ureia no plasma dos bezerros do grupo CF pode estar diretamente relacionado ao maior aporte de proteína bruta e, especificamente, de proteína degradável no rúmen proveniente do farelo de soja presente na dieta de *creep-feeding*. A ureia plasmática é frequentemente utilizada como um indicador do status proteico do animal e da eficiência de utilização do nitrogênio dietético (Chen *et al.*, 1995; Kohn; Dinneen; Russek-Cohen, 2005). Em animais em crescimento com maiores taxas de deposição proteica, como os bezerros

do grupo CF que apresentaram maior ganho de peso e AOL, um certo aumento na ureia plasmática é esperado, reflexo do maior *turnover* proteico e do maior processamento de nitrogênio (Elsasser; Rumsey; Hammond, 1989; Hornick *et al.*, 1998). Desde que o desempenho animal seja melhorado, como observado, o aumento da ureia pode ser interpretado como uma consequência do maior consumo e metabolismo proteico, e não necessariamente como uma ineficiência no aproveitamento da proteína oferecida na dieta (Wickersham *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2021).

A ausência de diferença nos triglicerol plasmáticos, apesar do maior consumo energético em CF, sugere uma eficiente partição de nutrientes, com a energia adicional sendo canalizada para os processos anabólicos de crescimento muscular, em detrimento de um aumento na lipidemia circulante (Yi *et al.*, 2025). Isso pode envolver uma elevada taxa de captação e oxidação de lipídeos pelos tecidos em desenvolvimento (Wang *et al.*, 2025) ou um perfil de fermentação ruminal que favoreceu precursores gliconeogênicos em detrimento da lipogênese hepática excessiva.

Os níveis equivalentes de haptoglobina plasmática entre os grupos CF e SM indicam que a não suplementação não induziu uma resposta de fase aguda significativa, sugerindo que ambos os grupos mantiveram status sanitário e inflamatório similares. É possível que a restrição nutricional imposta ao grupo SM em comparação à CF, embora suficiente para resultar em menor desempenho, não tenha sido severa a ponto de desencadear uma resposta inflamatória sistêmica robusta ou um estresse fisiológico intenso que elevasse significativamente a haptoglobina. Esses resultados vão ao encontro da menor diferença no PCD observada em relação à esperada em decorrência da época do nascimento dos animais.

4.2. Vias metabólicas e proteínas de maior relevância

A análise do proteoma plasmático dos bezerros Nelore submetidos ao *creep-feeding* (grupo CF) revelou um perfil complexo de alterações proteicas em relação ao grupo controle (SM) que, em conjunto com os dados fenotípicos de maior crescimento muscular e ureia plasmática elevada, permite inferir sobre os mecanismos fisiológicos subjacentes. Os resultados encontrados mostraram uma clara e forte interação entre

as proteínas identificadas como diferencialmente abundantes, evidenciada pela análise de PPI. Por sua vez, as análises de over-representação (enriquecimento) elucidaram que essas proteínas participam de diversos processos biológicos e vias relacionadas ao metabolismo energético, lipídico, muscular e do sistema imune, que diretamente ou indiretamente podem explicar as diferenças fenotípicas relacionadas ao desenvolvimento/crescimento muscular observadas entre os grupos. Para uma discussão mais aprofundada, foram destacadas as vias encontradas supostamente mais estreitamente relacionadas ao crescimento e ao desenvolvimento muscular em *Bos taurus*: *Regulation of Insulin-like Growth Factor (IGF) transport and uptake by Insulin-like Growth Factor Binding Proteins (IGFBPs)* (Reactome: R-BTA-381426) e *Regulation of actin cytoskeleton* (KEGG: bta04810).

A via metabólica *Regulation of Insulin-like Growth Factor (IGF) transport and uptake by Insulin-like Growth Factor Binding Proteins (IGFBPs)*, na qual participam as proteínas AHSG, APOA1, APOA2 e SERPIND1, identificadas como diferencialmente abundantes no presente estudo, elucidam os complexos mecanismos moleculares pelos quais as proteínas de ligação ao fator de crescimento semelhante à insulina (IGFBPs) governam o transporte, a biodisponibilidade e a internalização celular dos fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGFs) (Reactome Database, 2024). Este sistema é de suma importância para a modulação do crescimento, desenvolvimento e diversas funções metabólicas (Le Roith *et al.*, 2001). Os componentes chave desta via incluem IGF-1 e IGF-2, as seis IGFBPs (IGFBP-1 a -6), o receptor IGF-1R, proteases de IGFBP (como a PAPP-A, que cliva IGFBP-4 e IGFBP-5) e a subunidade ácido-lábil (ALS) (Jones; Clemmons, 1995; Hwa; Oh; Rosenfeld, 1999).

Embora AHSG, APOA1, APOA2, e SERPIND1 não sejam componentes centrais da via de transporte e captação de IGFs por IGFBPs, estão funcionalmente envolvidas nessa via em *Bos taurus*. Além disso, participam de forma pleiotrópica de outras vias metabólicas enriquecidas no presente estudo (R-BTA-8957275: *Post-translational protein phosphorylation*; R-BTA-8963888: *Chylomicron assembly*; R-BTA-8963901: *Chylomicron remodeling*; R-BTA-8963898: *Plasma lipoprotein assembly*; bta04610: e *Complement and coagulation cascades*) as quais, de forma menos direta, podem também estar envolvidas com o crescimento muscular.

A superexpressão de APOA1 e APOA2, componentes majoritários da HDL (*high-density lipoprotein*) (MAHLEY; INNERARITY; RALL, 1984; Kontush; Chapman, 2006), sugere uma intensificação do metabolismo de lipoproteínas (Chapman *et al.*, 2011; Fielding; Fielding, 1995). Este achado, pode indicar uma maior capacidade de transporte e utilização de lipídios para suprir a demanda energética do crescimento muscular acelerado, bem como um mecanismo de proteção contra o estresse oxidativo inerente a um estado de alto metabolismo (Fielding; Fielding, 1995; Barter *et al.*, 2004; Stocker; Keaney Jr, 2004). A dieta de CF, rica em energia e proteína, parece ter direcionado esses sistemas para otimizar o fluxo de nutrientes e a integridade celular.

Ademais, estudos em células musculares esqueléticas humanas (HSKMCs) revelaram que a APOA1 aumenta a captação de glicose tanto na presença quanto na ausência de insulina (Tang *et al.*, 2019). Esse processo é mediado pela fosforilação e ativação da cascata de sinalização do receptor de insulina, envolvendo as proteínas IR, IRS-1, PI3K, Akt e AS160. A ativação dessa via culmina na maior translocação do transportador de glicose GLUT4 para a membrana plasmática da célula muscular, facilitando a entrada de glicose (Tang *et al.*, 2019). Notavelmente, essa ação da APOA1 na promoção da depuração de glicose no músculo é independente da via da AMPK α 2, que anteriormente se pensava ser o principal mediador (Fritzen *et al.*, 2020).

Em um estudo com camundongos idosos, o consumo de uma dieta enriquecida com uvas por um longo período levou a um aumento acentuado na expressão do gene *APOA1* no tecido muscular. Essa regulação positiva foi associada a um perfil genético de maior saúde muscular, sugerindo que intervenções nutricionais podem potencializar os efeitos benéficos da APOA1, especialmente durante o processo de envelhecimento (Dave *et al.*, 2025). Em bovinos de corte cruzados Wagyu x Limousin, a variação genética no gene *APOA1* foi diretamente ligada ao desenvolvimento muscular, onde um polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) demonstrou associação significativa com o aumento da área de olho de lombo (REA). Nesse contexto, a APOA1 integra uma rede genética complexa, juntamente com a proteína de ligação de ácidos graxos 3 (FABP3), para modular o crescimento muscular (Daniels *et al.*, 2010). Em suínos, a análise integrada do transcriptoma e da acessibilidade da

cromatina identificou *APOA1* como um gene diferencialmente expresso e com região regulatória acessível durante o desenvolvimento muscular (Zhang *et al.*, 2024).

A coordenação na superexpressão de *APOA1* e *APOA2* aponta para um sistema HDL robustecido, adaptado para as demandas metabólicas do crescimento. Em bovinos, polimorfismos e haplótipos da região codificante do gene *APOA2* e de sua região promotora foram significativamente associados a diversas características corporais, incluindo peso, altura, comprimento e largura do osso do quadril em diferentes idades, sugerindo que o gene pode ser um forte marcador para seleção em programas de melhoramento genético (Zhou *et al.*, 2013). Em suínos, o gene *APOA2* está localizado em uma região de QTL (*quantitative trait loci*) associada a características de crescimento e da gordura (Ballester *et al.*, 2016).

A subexpressão de *AHSG* (fetuína-A), um conhecido inibidor da sinalização do receptor de insulina (Srinivas *et al.*, 1993; Stefan; Häring, 2013), pode ter contribuído para uma maior sensibilidade à insulina no tecido muscular, potencializando a captação de glicose e aminoácidos e, assim, a síntese proteica. Neste sentido, a redução de *AHSG*, que também pode atuar como uma proteína de fase aguda negativa, diminuindo em estados inflamatórios (Lebreton *et al.*, 1979; Gabay; Kushner, 1999), alinha-se com um ambiente metabólico e inflamatório favorável ao crescimento.

Entretanto, o papel da *AHSG* parece variar conforme o estágio de desenvolvimento e o estado fisiológico. Em ratos, a expressão da proteína *AHSG* no músculo tibial anterior diminuiu durante o crescimento pós-natal, o que é interpretado como favorável ao desenvolvimento muscular, já que *AHSG* é uma inibidora da sinalização do receptor de insulina, essencial para a síntese proteica (Sun *et al.*, 2009). Em fetos de suínos com restrição de crescimento intrauterino, a expressão do gene *AHSG* no músculo foi aumentada em machos durante a gestação tardia, sugerindo uma função na resposta adaptativa ao estresse desenvolvimental (Cortes-Araya *et al.*, 2024). Em ovinos, polimorfismos no gene *AHSG* foram significativamente associados ao ganho de peso diário e à conversão alimentar, e a expressão de seu RNAm no tecido muscular foi notavelmente maior em animais com peso corporal elevado (Zhao *et al.*, 2023). Em contraste, em bovinos da raça Angus, embora uma maior expressão de *AHSG* no fígado tenha se correlacionado com melhor eficiência

alimentar (menor consumo alimentar residual), não foi observada associação direta com o ganho de peso diário ou com a área de olho de lombo (Al-Husseini *et al.*, 2013).

A superexpressão de SERPIND1 (cofator II da heparina - HCII), um inibidor de serina protease, sugere um mecanismo de controle da atividade proteolítica (Gettins, 2002; Carrell; Lomas, 2002). Durante o rápido crescimento e remodelação tecidual, há um aumento na atividade de proteases. A elevação desses inibidores pode ser uma resposta para proteger os tecidos, especialmente o músculo em desenvolvimento, contra a degradação excessiva, mantendo um balanço favorável à acreção proteica.

As proteínas da superfamília das Serpinas desempenham papéis complexos e muitas vezes protetores no crescimento e na homeostase do músculo esquelético em diversas espécies. Entretanto, a relação mais robusta observada até o momento foi para a família SERPINA3. Em bovinos, SNPs no gene *SERPINA3* foram significativamente associados a importantes características de crescimento, como perímetro torácico e comprimento corporal (Yang *et al.*, 2020). Adicionalmente, a variação no número de cópias (CNV) do gene *SERPINA3-1* também se correlacionou com o desempenho de crescimento em bovinos de raças chinesas, onde está associado a melhores índices de desenvolvimento (Huang *et al.*, 2023). O papel protetor da SERPINA3 é fortemente evidenciado em modelos de doença. Um aumento compensatório na expressão de SERPINA3N (ortólogo murino da SERPINA3 humana) foi observado em camundongos com distrofia muscular (Tjondrokoesoemo *et al.*, 2016). Essa capacidade de modular a atividade de proteases sugere que a SERPINA3, poderia contribuir para a manutenção da integridade do tecido muscular, protegendo proteínas estruturais contra a degradação e, assim, influenciando indiretamente a massa e a função muscular.

Com relação à *SERPIND1* (HCII), foi demonstrado que em camundongos com deficiência na sua expressão, a recuperação do fluxo sanguíneo e a densidade capilar no músculo esquelético após isquemia do membro posterior foram significativamente prejudicadas. O mecanismo subjacente a esse efeito envolve a capacidade da HCII de ativar a via de sinalização da AMPK e da óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) no tecido muscular, que é um processo fundamental para a formação de novos vasos sanguíneos e a restauração da perfusão tecidual (Ikeda *et al.*, 2012). A angiogênese

adequada é vital para o fornecimento de oxigênio e nutrientes, sendo essencial para a reparação, manutenção e o crescimento do tecido muscular.

A via metabólica *Regulation of actin cytoskeleton*, na qual participam as proteínas diferencialmente abundantes C5, C7, C9 e GSN, delineia a intrincada rede de interações moleculares que governam a organização e a dinâmica do citoesqueleto de actina nas células bovinas (KEGG Database, 2025). O citoesqueleto de actina é uma estrutura intracelular notavelmente dinâmica, constituída por filamentos de actina (F-actina) e uma vasta gama de proteínas associadas, sendo essencial para um amplo espectro de processos celulares vitais. A regulação apurada do citoesqueleto de actina tem implicações funcionais relevantes, sendo essencial para o desenvolvimento embrionário, para a função imunológica, incluindo a migração de leucócitos (Heisenberg; Bellaïche, 2013; Lämmermann e Sixt, 2009) e a fagocitose (Swanson, 2008), e para o desenvolvimento e a maturação adequados das células musculares esqueléticas (Formigli *et al.*, 2007).

No cerne da regulação do citoesqueleto de actina encontram-se as pequenas GTPases da família Rho, que incluem, de forma proeminente, RhoA, Rac e Cdc42. Estas proteínas atuam como interruptores moleculares cruciais, alternando entre um estado ativo, quando ligadas ao GTP, e um estado inativo, quando ligadas ao GDP (Hall, 1998; Etienne-Manneville; Hall, 2002). A ativação dessas GTPases é iniciada por uma diversidade de sinais extracelulares, tais como fatores de crescimento, citocinas e componentes da matriz extracelular, que se ligam a recetores localizados na superfície celular (Jaffe; Hall, 2005; Ridley, 2015).

Em situação análoga à discutida na via R-BTA-381426, as proteínas C5, C7, C9 e GSN não são componentes centrais da via de regulação do citoesqueleto de actina, mas participam como coadjuvantes no processo. C5, C7 e C9, em conjunto com CFI e CFB, atuam também em processos biológicos e em outras vias metabólicas identificadas como enriquecidas nesta pesquisa (GO:0006959: Humoral immune response; GO:0002252: Immune effector process; bta04610: Complement and coagulation cascades) que, indiretamente, podem afetar a hipertrofia muscular, o metabolismo da ureia e o ganho de peso.

A superexpressão de GSN (Gelsolina), crucial para a dinâmica da actina e na função de "varredora" de actina plasmática liberada por células danificadas

(Kwiatkowski, 1999; Lee; Galbraith, 1992), pode refletir o intenso turnover e remodelação do citoesqueleto de actina no músculo em hipertrofia, além de apresentar uma função protetora. A GSN plasmática atua limpando filamentos de actina liberados na circulação por células danificadas, um mecanismo essencial para prevenir o bloqueio de capilares e a trombose localizada (Kwiatkowski *et al.*, 1988). Seu modo de ação envolve a rápida fragmentação dos filamentos de actina em pedaços menores, um processo coordenado com outras proteínas plasmáticas para garantir a completa despolimerização da actina extracelular (Kwiatkowski *et al.*, 1988). Na hipertrofia muscular, onde o intenso *turnover* e as microlesões são comuns, essa função de varredura é particularmente relevante. Ao neutralizar a actina que escapa durante a remodelação tecidual, a Gelsolina protege a microvasculatura e facilita um ambiente propício à reparação e ao crescimento. A observação de que os níveis de Gelsolina plasmática diminuem durante o infarto agudo do miocárdio, um evento de dano celular massivo, corrobora a hipótese de que a proteína é ativamente consumida ao realizar sua função de limpeza (Hu *et al.*, 2014).

Notavelmente, o próprio tecido muscular (esquelético, cardíaco e liso) é a principal fonte de Gelsolina plasmática, dedicando uma parte significativa de sua atividade biossintética para produzir esta proteína (Kwiatkowski *et al.*, 1988). No contexto do músculo cardíaco, a superexpressão de GSN em cardiomiócitos induz hipertrofia, mostrando seu envolvimento em vias que regulam o aumento do tamanho da célula muscular (Hu *et al.*, 2014). Em quatro raças de bovinos de corte chinesas, uma deleção de 21 pares de base no segundo íntron do gene *GSN* foi significativamente associada a diversas características de crescimento, como perímetro torácico, altura na cernelha, comprimento corporal e largura da garupa, demonstrando que este gene pode influenciar diretamente o desenvolvimento corporal em bovinos (Qi *et al.*, 2022).

A superexpressão de CFI, um inibidor chave da cascata do complemento (Zipfel; Skerka, 2009), juntamente com a subexpressão de componentes cruciais para a ativação e efetivação da via do complemento – C5, C7, C9, formadores do Complexo de Ataque à Membranas (MAC) (Dunkelberger; Song, 2010;) e CFB, essencial para a via alternativa (Thurman; Holers, 2006) – sugerem fortemente uma atenuação da resposta inflamatória mediada pelo complemento. O crescimento muscular rápido é

um processo que envolve intensa remodelação tecidual, o que poderia, por si só, ativar o sistema complemento. A regulação negativa observada pode ser um mecanismo adaptativo para prevenir uma resposta inflamatória excessiva ou crônica, que seria deletéria ao anabolismo muscular. Um ambiente com menor atividade do complemento implicaria em menor liberação de anafilatoxinas (como C5a), menor quimiotaxia de células inflamatórias e menor formação do MAC, minimizando o dano tecidual e o catabolismo proteico associado à inflamação (Guo; Ward, 2005; Ricklin *et al.*, 2010). Este estado imunomodulado pode ser crucial para permitir que os processos anabólicos de hipertrofia muscular ocorram de forma mais eficiente.

A formação do complexo MAC em níveis sublíticos, que não causam a morte celular, podem ter consequências diretas na regulação do crescimento muscular. Em miotubos cultivados, a ativação do MAC demonstrou diminuir a expressão de genes essenciais para a função muscular, como os que codificam actina, troponina e o fator miogênico MyoD (Lang *et al.*, 1997). Além do MAC, a ativação do C5 gera o fragmento C5a, que, via seu receptor C5aR1, possui efeitos pró-inflamatórios no músculo. Em modelos de esclerose lateral amiotrófica (ELA), essa sinalização C5a-C5aR1 impulsiona o recrutamento de macrófagos para o músculo, e o bloqueio dessa via melhora a função motora (Wang *et al.*, 2017). Adicionalmente, em células musculares esqueléticas humanas, a ativação do C5aR1 suprime agudamente a sinalização da insulina, um processo necessário para o metabolismo e crescimento muscular (Shah *et al.*, 2024).

5. Conclusões

A suplementação em *creep-feeding* com dieta energético-proteica em bezerros Nelore induziu alterações significativas no proteoma plasmático, que se correlacionam com o aumento da taxa de crescimento e da massa muscular observados nesses animais.

A superexpressão de apolipoproteínas (APOA1, APOA2) e de inibidor de protease (SERPIND1), juntamente com proteínas envolvidas na remodelação tecidual (GSN), sugere uma resposta adaptativa complexa. Essas alterações indicam uma modulação do metabolismo lipídico para suportar a alta demanda energética, um controle da atividade proteolítica para proteger os tecidos em crescimento e uma

regulação da resposta inflamatória para criar um ambiente favorável ao anabolismo. A superexpressão de CFI e a subexpressão de C5, C7, C9 e CFB apontam para uma atenuação da cascata do complemento, o que pode minimizar a inflamação e o dano tecidual durante uma maior remodelação muscular.

Por outro lado, a subexpressão de AHSG pode refletir uma alteração na sensibilidade à insulina e no particionamento de nutrientes, favorecendo o direcionamento de substratos para a síntese proteica muscular em detrimento da adipogênese, consistente com o aumento da AOL sem alteração na EGS, EGP ou EM.

As alterações proteômicas observadas não apenas fornecem biomarcadores potenciais do estado anabólico e metabólico dos animais suplementados, mas também oferecem *insights* sobre os mecanismos pelos quais a nutrição precoce pode programar o desenvolvimento muscular e a eficiência de crescimento em bezerros de corte.

6. Referências

AL-HUSSEINI, W.; GONDRO, C.; QUINN, K.; HERD, R. M.; GIBSON, J. P.; CHEN, Y. Expression of candidate genes for residual feed intake in Angus cattle. **Animal Genetics**, v. 45, n. 1, p. 12-19, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1111/age.12092>.

ANDRADE, P. L.; BRESSAN, M. C.; GAMA, L. T.; GONÇALVES, T. M.; LAIDEIRA, M. M.; RAMOS, E. M. Qualidade da carne maturada de bovinos Red Norte e Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 8, p. 1791–1800, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010000800023>.

ARTHINGTON, J. D.; CORAH, L. R. **Liver biopsy procedures for determining the trace mineral status in beef cows**. Part II. (Video, AI 9134). Extension TV. Dep. Commun. Coop. Ext. Serv., Kansas State University, Manhattan, KS, 1995.

ARTHINGTON, J.; MORIEL, P. Impressão Metabólica De Bezerros Desmamados Precocemente: Efeitos no Desempenho Pós Desmama em Machos e Fêmeas. In: NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, 2014, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia, 2014.

BALDASSINI, W. A.; BONILHA, S. F. M.; BRANCO, R. H.; VIEIRA, J. C. S.; PADILHA, P. M.; LANNA, D. P. D. Proteomic investigation of liver from beef cattle (*Bos indicus*) divergently ranked on residual feed intake. **Molecular Biology Reports**, v. 45, p. 2765-2773, 2018.

BALLESTER, M.; REVILLA, M.; PUIG-OLIVERAS, A.; MARCHESI, J. A.; CASTELLÓ, A.; COROMINAS, J.; FERNÁNDEZ, A. I.; FOLCH, J. M. Analysis of the porcine APOA2

gene expression in liver, polymorphism identification and association with fatty acid composition traits. **Animal Genetics**, v. 47, n. 5, p. 552-559, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1111/age.12462>.

BARTER, P. J.; NICHOLLS, S.; RYE, K. A.; ANANTHARAMAIAH, G. M.; NAVAB, M.; FOGELMAN, A. M. Antiinflammatory properties of HDL. **Circulation Research**, v. 95, n. 8, p. 764-772, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000146094.59640.13>.

BATES, D.; MÄCHLER, M.; BOLKER, B.; WALKER, S. Fitting linear mixed-effects models using lme4. **Journal of Statistical Software**, v. 67, n. 1, p. 1–48, 2015. DOI: <https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>.

BEATTY, A. T.; BARNES, A.; TAYLOR, E.; PETHICK, D.; MCCARTHY, M.; MALONEY, S. K. Physiological responses of *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle to prolonged, continuous heat and humidity. **Journal of Animal Science**, v. 84, n. 4, p. 972–985, 2006.

BERGMAN, E. N. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. **Physiological Reviews**, v. 70, n. 2, p. 567-590, 1990. DOI: <https://doi.org/10.1152/physrev.1990.70.2.567>.

BLANCO-VACA, F.; ESCOLÀ-GIL, J. C.; MARTÍN-CAMPOS, J. M.; JULVE, J. Role of apoA-II in lipid metabolism and atherosclerosis: advances in the study of an enigmatic protein. **Journal of Lipid Research**, v. 42, n. 11, p. 1727-1739, 2001.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

CARRELL, R. W.; LOMAS, D. A. Alpha1-antitrypsin deficiency—a model for conformational diseases. **New England Journal of Medicine**, v. 346, n. 1, p. 45-53, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMr010772>.

CARROLL, J. A.; FORSBERG, N. E. Influence of stress and nutrition on cattle immunity. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 23, n. 1, p. 105-149, 2007.

CARVALHO, P. C.; LIMA, D. B.; LEPREVOST, F. V.; SANTOS, M. D. M.; FISCHER, J. S. G.; AQUINO, P. F.; MORESCO, J. J.; YATES III, J. R.; BARBOSA, V. C. Integrated analysis of shotgun proteomic data with PatternLab for proteomics 4.0. **Nature protocols**, v. 11, n. 1, p. 102-117, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1038/nprot.2015.133>.

CARVALHO, V. V.; PAULINO, M. F.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S. C.; LOPES, S. A.; RENNÓ, L. N.; SILVA, A. G. A meta-analysis of the effects of *creep-feeding* supplementation on performance and nutritional characteristics by beef calves grazing on tropical pastures. **Livestock Science**, v. 227, p. 175-182, 2019.

CASTAGNINO, P. S.; DALLANTONIA, E. E.; FIORENTINI, G.; SAN VITO, E.; MESSANA, J. D.; LIMA, L. O.; BERCHIELLI, T. T. Changes in ruminal fermentation

and microbial population of feedlot Nellore cattle fed crude glycerin and virginiamycin. **Animal Feed Science and Technology**, v. 242, p. 69-76, 2018.

CATUSSI, B.; FERREIRA, J.; LO TURCO, E.; MORGULIS, S.; BARUSELLI, P. Metabolic imprinting in beef calves supplemented with creep feeding on performance, reproductive efficiency and metabolome profile. **Scientific Reports**, v. 14, p. 9702, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-60216-1>.

CAVALCANTE, J. S.; BRITO, I. M. D. C.; DE OLIVEIRA, L. A.; DE BARROS, L. C.; ALMEIDA, C.; ROSSINI, B. C.; SOUSA, D. L.; ALVES, R. S.; JORGE, R. J. B.; SANTOS, L. D. D. Experimental *Bothrops atrox* envenomation: blood plasma proteome effects after local tissue damage and perspectives on thromboinflammation. **Toxins**, v. 14, p. 613, 2022.

CHAPMAN, M. J.; GINSBERG, H. N.; AMARENCO, P.; ANDREOTTI, F.; BORÉN, J.; CATAPANO, A. L.; DESCAMPS, O. S.; FISHER, E.; KOVANEN, P. T.; KUIVENHOVEN, J. A.; LESNIK, P.; MASANA, L.; NORDESTGAARD, B. G.; RAY, K. K.; REINER, Z.; TASKINEN, M. R.; TOKGÖZOGLU, L.; TYBJÆRG-HANSEN, A.; WATTS, G. F.; EUROPEAN ATHEROSCLEROSIS SOCIETY CONSENSUS PANEL. Triglyceride-rich lipoproteins and high-density lipoprotein cholesterol in patients at high risk of cardiovascular disease: evidence and guidance for management. **European Heart Journal**, v. 32, n. 11, p. 1345-1361, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehr112>.

CHEN, H. Y.; MILLER, P. S.; LEWIS, A. J.; WOLVERTON, C. K.; STROUP, W. W. Changes in plasma urea concentration can be used to determine protein requirements of two populations of pigs with different protein accretion rates. **Journal of Animal Science**, v. 73, n. 9, p. 2631-2639, 1995. DOI: <https://doi.org/10.2527/1995.7392631x>.

CHONG, J.; SOUFAN, O.; LI, C.; XIA, J. MetaboAnalyst 4.0: towards more transparent and integrative metabolomics analysis. **Nucleic Acids Research**, v. 46, p. W486–W494, 2014.

CORTES-ARAYA, Y.; CHEUNG, S.; HO, W.; STENHOUSE, C.; ASHWORTH, C. J.; ESTEVES, C. L.; DONADEU, F. X. Effects of foetal size, sex and developmental stage on adaptive transcriptional responses of skeletal muscle to intrauterine growth restriction in pigs. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, p. 8500, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-57194-9>.

COSTA, T. C.; GIONBELLI, M. P.; DUARTE, M. S. Fetal programming in ruminant animals: understanding the skeletal muscle development to improve meat quality. **Animal Frontiers**, v. 11, n. 6, p. 66–73, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1093/af/vfab061>.

DANIELS, T. F.; WU, X. L.; PAN, Z.; MICHAL, J. J.; WRIGHT, R. W. Jr; KILLINGER, K. M.; MACNEIL, M. D.; JIANG, Z. The reverse cholesterol transport pathway improves understanding of genetic networks for fat deposition and muscle growth in beef cattle. **PLoS One**, v. 5, n. 12, p. e15203, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015203>.

DANTAS, C. C. O.; DE MATTOS NEGRÃO, F.; GERON, L. J. V.; MEXIA, A. A. O uso da técnica do Creep-feeding na suplementação de bezerros. **PUBVET**, v. 4, p. 899-904, 2010.

DAVE, A.; PARK, E.-J.; PIYA, S.; PEZZUTO, J. M. Long-term dietary consumption of grapes alters phenotypic expression in skeletal muscle of aged male and female mice. **Foods**, v. 14, p. 695, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods14040695>.

DIAS, Ê. R.; DE OLIVEIRA, L. A.; LAURIA, P. S. S.; BORDON, K. C. F.; RODRIGUES DOMÊNICO, A. M.; DA SILVA GUERREIRO, M. L.; WIEZEL, G. A.; CARDOSO, I. A.; ROSSINI, B. C.; MARINO, C. L.; PIMENTA, D. C.; ARANTES, E. C.; CASAIS-E-SILVA, L. L.; BRANCO, A.; DOS SANTOS, L. D.; BIONDI, I. *Bothrops leucurus* snake venom protein profile, isolation and biological characterization of its major toxin PLA2s-like. **Toxicon**, v. 15, p. 27-42, 2022.

DUNKELBERGER, J. R.; SONG, W. C. Complement and its role in innate and adaptive immune responses. **Cell Research**, v. 20, n. 1, p. 34-50, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1038/cr>

EDWARDS, T. A. Control methods for bovine respiratory disease for feedlot cattle. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 26, n. 2, p. 273-284, 2010.

ELSASSER, T. H.; RUMSEY, T. S.; HAMMOND, A. C. Influence of diet on basal and growth hormone-stimulated plasma concentrations of IGF-I in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 67, n. 1, p. 128-141, 1989. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas1989.671128x>.

ETIENNE-MANNEVILLE, S.; HALL, A. Rho GTPases in cell biology. **Nature**, v. 420, n. 6916, p. 629-635, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature01148>.

FIELDING, C. J.; FIELDING, P. E. Molecular physiology of reverse cholesterol transport. **Journal of Lipid Research**, v. 36, n. 2, p. 211-228, 1995.

FORMIGLI, L.; MEACCI, E.; SASSOLI, C.; SQUECCO, R.; NOSI, D.; CHELLINI, F.; NARO, F.; FRANCINI, F.; ZECCHI-ORLANDINI, S. Cytoskeleton/stretch-activated ion channel interaction regulates myogenic differentiation of skeletal myoblasts. **Journal of Cellular Physiology**, v. 211, n. 2, p. 296-306, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcp.20936>.

FRITZEN, A. M.; DOMINGO-ESPÍN, J.; LUNDSGAARD, A. M.; KLEINERT, M.; ISRAELSEN, I.; CARL, C. S.; NICOLAISEN, T. S.; KJØBSTED, R.; JEPPESEN, J. F.; WOJTASZEWSKI, J. F. P.; LAGERSTEDT, J. O.; KIENS, B. ApoA-1 improves glucose tolerance by increasing glucose uptake into heart and skeletal muscle independently of AMPK α 2. **Molecular Metabolism**, v. 35, p. 100949, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2020.01.013>.

GABAY, C.; KUSHNER, I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. **New England Journal of Medicine**, v. 340, n. 6, p. 448-454, 1999. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJM199902113400607>.

GETTINS, P. G. Serpin structure, mechanism, and function. **Chemical Reviews**, v. 102, n. 12, p. 4751-4804, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1021/cr010170+>.

GUO, R. F.; WARD, P. A. Role of C5a in inflammatory responses. **Annual Review of Immunology**, v. 23, p. 821-852, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.23.021704.115835>.

HALL, A. Rho GTPases and the actin cytoskeleton. **Science**, v. 279, n. 5350, p. 509-514, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.279.5350.509>.

HEISENBERG, C. P.; BELLAÏCHE, Y. Forces in tissue morphogenesis and patterning. **Cell**, v. 153, n. 5, p. 948-962, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.05.008>.

HORNICK, J. L.; VAN EENAEME, C.; DIEZ, M.; MINET, V.; ISTASSE, L. Different periods of feed restriction before compensatory growth in Belgian Blue bulls: II. Plasma metabolites and hormones. **Journal of Animal Science**, v. 76, n. 1, p. 260–271, 1998. DOI: <https://doi.org/10.2527/1998.761260x>.

HU, W. S.; HO, T. J.; PAI, P.; CHUNG, L. C.; KUO, C. H.; CHANG, S. H.; TSAI, F. J.; TSAI, C. H.; JIE, Y. C.; LIOU, Y. M.; HUANG, C. Y. Gelsolin (GSN) induces cardiomyocyte hypertrophy and BNP expression via p38 signaling and GATA-4 transcriptional factor activation. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 390, n. 1-2, p. 263-270, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11010-014-1977-7>.

HUANG, Y. Z.; SHI, Q. T.; SHI, S. Y.; YANG, P.; ZHANG, Z. J.; LYU, S. J.; CHEN, F. Y.; XU, J. W.; LIU, X.; LI, Z.; RU, B.; CAI, C.; XIE, J.; LEI, C.; CHEN, H.; XU, Z.; WANG, E. Association between copy number variation of SERPINA3-1 gene and growth traits in Chinese cattle. **Animal Biotechnology**, v. 34, n. 4, p. 1524-1531, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1080/10495398.2022.2038183>.

HWA, V.; OH, Y.; ROSENFELD, R. G. The insulin-like growth factor-binding protein (IGFBP) superfamily. **Endocrine Reviews**, v. 20, n. 6, p. 761-787, 1999. DOI: <https://doi.org/10.1210/edrv.20.6.0382>.

IKEDA, Y.; AIHARA, K.; YOSHIDA, S.; IWASE, T.; TAJIMA, S.; IZAWA-ISHIZAWA, Y.; KIHARA, Y.; ISHIZAWA, K.; TOMITA, S.; TSUCHIYA, K.; SATA, M.; AKAIKE, M.; KATO, S.; MATSUMOTO, T.; TAMAKI, T. Heparin cofactor II, a serine protease inhibitor, promotes angiogenesis via activation of the AMP-activated protein kinase-endothelial nitric-oxide synthase signaling pathway. **Journal of Biological Chemistry**, v. 287, n. 41, p. 34256-34263, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.353532>.

JAFFE, A. B.; HALL, A. Rho GTPases: biochemistry and biology. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, v. 21, p. 247-269, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.21.020604.150721>.

JONES, J. I.; CLEMMONS, D. R. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. **Endocrine Reviews**, v. 16, n. 1, p. 3-34, 1995. DOI: <https://doi.org/10.1210/edrv-16-1-3>.

KEGG **Database** 2025. Disponível em: https://www.kegg.jp/kegg-bin/show_pathway?bta04810+507339+512045+526766+535077. Acesso em: 29 maio 2025.

KOHN, R. A.; DINNEEN, M. M.; RUSSEK-COHEN, E. Using blood urea nitrogen to predict nitrogen excretion and efficiency of nitrogen utilization in cattle, sheep, goats, horses, pigs, and rats. **Journal of Animal Science**, v. 83, n. 4, p. 879-889, 2005. DOI: <https://doi.org/10.2527/2005.834879x>.

KONTUSH, A.; CHAPMAN, M. J. Antiatherogenic small, dense HDL—guardian angel of the arterial wall?. **Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine**, v. 3, n. 3, p. 144-153, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1038/ncpcardio0500>.

KWIATKOWSKI, D. J. Functions of gelsolin: motility, signaling, apoptosis, cancer. **Current Opinion in Cell Biology**, v. 11, n. 1, p. 103-108, 1999. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0955-0674\(99\)80012-X](https://doi.org/10.1016/S0955-0674(99)80012-X).

KWIATKOWSKI, D. J.; MEHL, R.; IZUMO, S.; NADAL-GINARD, B.; YIN, H. L. Muscle is the major source of plasma gelsolin. **Journal of Biological Chemistry**, v. 263, n. 17, p. 8239–8243, 1988.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v. 227, n. 5259, p. 680–685, 1970.

LÄMMERMANN, T.; SIXT, M. Mechanical modes of “amoeboid” cell migration. **Current Opinion in Cell Biology**, v. 21, n. 5, p. 636-644, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2009.05.003>.

LANG, T. J.; BADEA, T. C.; WADE, R.; SHIN, M. L. Sublytic terminal complement attack on myotubes decreases the expression of mRNAs encoding muscle-specific proteins. **Journal of Neurochemistry**, v. 68, n. 4, p. 1581-1589, 1997. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1997.68041581.x>.

LARDY, G. P.; MADDOCK, T. D. Creep feeding nursing beef calves. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 23, n. 1, p. 21-28, 2007.

LE ROITH, D.; BONDY, C.; YAKAR, S.; LIU, J. L.; BUTLER, A. The somatomedin hypothesis: 2001. **Endocrine Reviews**, v. 22, n. 1, p. 53-74, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1210/edrv.22.1.0419>.

LEBRETON, J. P.; JOISEL, F.; RAOULT, J. P.; LANNUZEL, B.; ROGEZ, J. P.; HUMBERT, G. Serum concentration of human alpha 2 HS glycoprotein during the inflammatory process: evidence that alpha 2 HS glycoprotein is a negative acute-phase reactant. **Journal of Clinical Investigation**, v. 64, n. 4, p. 1118-1129, 1979. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI109551>.

LEE, W. M.; GALBRAITH, R. M. The extracellular actin-scavenger system and actin toxicity. **New England Journal of Medicine**, v. 326, n. 20, p. 1335-1341, 1992. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJM199205143262006>.

LEFCOURT, A. M.; ELSASSER, T. H. Adrenal responses of Angus × Hereford cattle to the stress of weaning. **Journal of Animal Science**, v. 73, n. 9, p. 2669-2676, 1995.

LENTH, R. emmeans: estimated marginal means, aka least-squares means. **R package version 1.10.6-090003**, 2025. Disponível em: <https://rvlenth.github.io/emmeans/>. Acesso em: 29 maio 2025.

MAHLEY, R. W.; INNERARITY, T. L.; RALL, S. C. Jr; WEISGRABER, K. H. Plasma lipoproteins: apolipoprotein structure and function. **Journal of Lipid Research**, v. 25, n. 12, p. 1277-1294, 1984.

MORIEL, P.; JOHNSON, S. E.; VENDRAMINI, J. M. B.; MERCADANTE, V. R. G.; HERSOM, M. J.; ARTHINGTON, J. D. Effects of calf weaning age and subsequent management system on growth and reproductive performance of beef heifers. **Journal of Animal Science**, v. 92, n. 7, p. 3096-3107, 2014.

NEWGARD, C. B.; AN, J.; BAIN, J. R.; MUEHLBAUER, M. J.; STEVENS, R. D.; LIEN, L. F.; HAQQ, A. M.; SHAH, S. H.; ARLOTTO, M.; SLENTZ, C. A.; ROCHON, J.; GALLUP, D.; ILKAYEVA, O.; WENNER, B. R.; YANCY, W. S. Jr; EISENSON, H.; MUSANTE, G.; SURWIT, R. S.; MILLINGTON, D. S.; BUTLER, M. D.; SVETKEY, L. P. A branched-chain amino acid-related metabolic signature that differentiates obese and lean humans and contributes to insulin resistance. **Cell Metabolism**, v. 9, n. 4, p. 311-326, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2009.02.002>.

NGUYEN, D. V.; NGUYEN, O. C.; MALAU-ADULI, A. E. O. Main regulatory factors of marbling level in beef cattle. **Veterinary and Animal Science**, v. 14, p. 100219, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vas.2021.100219>.

O'LOUGHLIN, A.; MCGEE, M.; WATERS, S. M.; DOYLE, S.; EARLEY, B. Examination of the bovine leukocyte environment using immunogenetic biomarkers to assess immunocompetence following exposure to weaning stress. **BMC Veterinary Research**, v. 7, p. 1–13, 2011.

OWENS, F. N.; GILL, D. R.; SECRIST, D. S.; COLEMAN, S. W. Review of some aspects of growth and development of feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v. 73, n. 10, p. 3152-3172, 1995. DOI: <https://doi.org/10.2527/1995.73103152x>.

PASSAFARO, T. L.; CARRERA, J. P.; DOS SANTOS, L. L.; RAIDAN, F. S.; DOS SANTOS, D. C.; CARDOSO, E. P.; LEITE, R. C.; TORAL, F. L. Genetic analysis of resistance to ticks, gastrointestinal nematodes and *Eimeria spp.* in Nellore cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 210, n. 3-4, p. 224-234, 2015.

PATEL, M. S.; SRINIVASAN, M. Metabolic programming in the immediate postnatal life. *Annals of Nutrition and Metabolism*, v. 58, p. 18-28, 2011.

QI, A.; RU, W.; LIU, Y.; YANG, Y.; TANG, J.; YANG, H.; YANG, S.; QU, K.; LAN, X.; LEI, C.; HUANG, B.; CHEN, H. Deletions in GSN gene associated with growth traits of four Chinese cattle breeds. **Molecular Genetics and Genomics**, v. 297, n. 5, p. 1269-1275, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00438-022-01915-0>.

RAMÍREZ-ZAMUDIO, G. D.; GANGA, M. J. G.; PEREIRA, G. L.; NOCITI, R. P.; CHIARATTI, M. R.; COOKE, R. F.; CHARDULO, L. A. L.; BALDASSINI, W. A.; MACHADO-NETO, O. R.; CURI, R. A. Effect of cow-calf supplementation on gene expression, processes, and pathways related to adipogenesis and lipogenesis in *Longissimus thoracis* muscle of F1 Angus × Nellore cattle at weaning. **Metabolites**, v. 13, n. 2, p. 160, 2023.

REACTOME Database 2024. Disponível em: <https://reactome.org/PathwayBrowser/#/R-BTA-381426>. Acesso em: 29 maio 2025.

RICKLIN, D.; HAJISHENGALLIS, G.; YANG, K.; LAMBRIS, J. D. Complement: a key system for immune surveillance and homeostasis. **Nature Immunology**, v. 11, n. 9, p. 785-797, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1038/ni.1923>.

RIDLEY, A. J. Rho GTPase signalling in cell migration. **Current Opinion in Cell Biology**, v. 36, p. 103-112, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2015.08.005>.

ROTTA, P. P.; PRADO, R. M. D.; PRADO, I. N. D.; VALERO, M. V.; VISENTAINER, J. V.; SILVA, R. R. The effects of genetic groups, nutrition, finishing systems and gender of Brazilian cattle on carcass characteristics and beef composition and appearance: a review. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 22, n. 12, p. 1718-1734, 2009. DOI: <https://doi.org/10.5713/ajas.2009.90071>.

SCHEFFLER, J.; MCCANN, M.; GREINER, S.; JIANG, H.; HANIGAN, M.; BRIDGES, G.; LAKE, S.; GERRARD, D. Early metabolic imprinting events increase marbling scores in fed cattle. **Journal of Animal Science**, v. 92, p. 320-324, 2014.

SHAH, D. S.; MCNEILLY, A. D.; MCCRIMMON, R. J.; HUNDAL, H. S. The C5aR1 complement receptor: a novel immunomodulator of insulin action in skeletal muscle. **Cell Signalling**, v. 113, p. 110944, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2023.110944>.

SILVA, G. M.; POORE, M. H.; RANCHES, J.; MORIEL, P. Effects of timing of vaccination relative to weaning and post-weaning frequency of energy supplementation on growth and immunity of beef calves. **Journal of Animal Science**, v. 96, n. 1, p. 318-330, 2018.

SMITH, S. B.; CROUSE, D. J. Relative contributions of acetate, lactate and glucose to lipogenesis in bovine intramuscular and subcutaneous adipose tissue. **The Journal of Nutrition**, v. 114, p. 792-800, 1984.

SRINIVAS, P. R.; WAGNER, A. S.; REDDY, L. V.; DEUTSCH, D. D.; LEON, M. A.; GOUSTIN, A. S.; GRUNBERGER, G. Serum alpha 2-HS-glycoprotein is an inhibitor of the human insulin receptor at the tyrosine kinase level. **Molecular Endocrinology**, v. 7, n. 11, p. 1445-1455, 1993. DOI: <https://doi.org/10.1210/mend.7.11.7906861>.

STEFAN, N.; HÄRING, H. U. The role of hepatokines in metabolism. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 9, n. 3, p. 144-152, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrendo.2012.258>.

STEWART, L. **Creep feeding beef calves**. UGA Cooperative Extension Bulletin, n. 1315, 2017.

STOCKER, R.; KEANEY, J. F. Jr. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. **Physiological Reviews**, v. 84, n. 4, p. 1381-1478, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1152/physrev.00047.2003>.

SUN, H.; ZHU, T.; DING, F.; HU, N.; GU, X. Proteomic studies of rat tibialis anterior muscle during postnatal growth and development. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 332, n. 1-2, p. 161-171, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11010-009-0186-2>.

SWANSON, J. A. Shaping cups into phagosomes and macropinosomes. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 9, n. 8, p. 639-649, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrm2447>.

TANG, S.; TABET, F.; COCHRAN, B. J.; CUESTA TORRES, L. F.; WU, B. J.; BARTER, P. J.; RYE, K. A. Apolipoprotein A-I enhances insulin-dependent and insulin-independent glucose uptake by skeletal muscle. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1350, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37812-0>.

THURMAN, J. M.; HOLERS, V. M. The central role of the alternative complement pathway in human disease. **Journal of Immunology**, v. 176, n. 3, p. 1305-1310, 1 fev. 2006. DOI: 10.4049/jimmunol.176.3.1305. PMID: 16424154.

TJONDROKOESOEMO, A.; SCHIPS, T.; KANISICAK, O.; SARGENT, M. A.; MOLKENTIN, J. D. Genetic overexpression of Serpina3n attenuates muscular dystrophy in mice. **Human Molecular Genetics**, v. 25, n. 6, p. 1192-1202, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddw005>.

WANG, H. A.; LEE, J. D.; LEE, K. M.; WOODRUFF, T. M.; NOAKES, P. G. Complement C5a-C5aR1 signalling drives skeletal muscle macrophage recruitment in the hSOD1G93A mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. **Skeletal Muscle**, v. 7, n. 1, p. 10, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13395-017-0128-8>.

WANG, J.; VASAIKAR, S.; SHI, Z.; GREER, M.; ZHANG, B. WebGestalt 2017: a more comprehensive, powerful, flexible and interactive gene set enrichment analysis toolkit. **Nucleic Acids Research**, v. 45, p. W130–W137, 2017.

WANG, S.; LIU, T.; PENG, P.; FU, Y.; SHI, S.; LIANG, S.; CHEN, X.; WANG, K.; ZHOU, R. Integrated transcriptomic analysis of liver and muscle tissues reveals candidate genes and pathways regulating intramuscular fat deposition in beef cattle. **Animals**, v. 15, p. 1306, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani15091306>.

WEBER, K. L.; WELLY, B. T.; VAN EENENNAAM, A. L.; YOUNG, A. E.; PORTO-NETO, L. R.; REVERTER, A.; RINCON, G. Identification of gene networks for residual feed intake in Angus cattle using genomic prediction and RNA-seq. **PLoS One**, v. 11, n. 3, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152274>.

- WICKERSHAM, T.; TITGEMEYER, E.; COCHRAN, R.; WICKERSHAM, E.; GNAD, D. Effect of rumen-degradable intake protein supplementation on urea kinetics and microbial use of recycled urea in steers consuming low-quality forage. **Journal of Animal Science**, v. 86, n. 11, p. 3079-3088, 2008. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0325>.
- YANG, S.-Z.; HE, H.; ZHANG, Z.-J.; NIU, H.; CHEN, F.-Y.; WEN, Y.-F.; XU, J.-W.; DANG, R.-H.; LAN, X.-Y.; LEI, C.-Z.; CHEN, H.; HUANG, B.-Z.; HUANG, Y.-Z. Determination of genetic effects of SERPINA3 on important growth traits in beef cattle. **Animal Biotechnology**, v. 30, n. 2, p. 164-173, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1080/10495398.2018.1560306>.
- YI, X.; YI, S.; WANG, J.; YE, B.; ZHU, X.; MENG, Q.; WU, H.; ZHOU, Z. Differential lipid metabolism in beef cattle: a comparative study of high and low residual feed intake bulls. **Animal Nutrition**, v. 22, p. 214-229, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2025.03.019>.
- ZHANG, D.; ZHANG, Q.; WU, X.; WANG, L.; ZHANG, X.; LIU, D.; YANG, X. Integrative analysis of chromatin accessibility and transcriptional landscape identifies key genes during muscle development in pigs. **Cells**, v. 13, n. 24, p. 2118, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells13242118>.
- ZHANG, N. Epigenetic modulation of DNA methylation by nutrition and its mechanisms in animals. **Animal Nutrition**, v. 1, p. 144-151, 2015.
- ZHANG, N.; TENG, Z.; LI, P.; FU, T.; LIAN, H.; WANG, L.; GAO, T. Oscillating dietary crude protein concentrations increase N retention of calves by affecting urea-N recycling and nitrogen metabolism of rumen bacteria and epithelium. **PLoS ONE**, v. 16, e0257417, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0257417>.
- ZHAO, L.; WANG, W.; WANG, X.; ZHANG, D.; LI, X.; ZHAO, Y.; ZHANG, Y.; XU, D.; CHENG, J.; WANG, J.; LI, W.; LIN, C.; WU, W.; ZHANG, X.; ZHENG, W. Identification of SNPs and expression patterns of ALB, AHSG and GC genes and their association with growth traits in Hu sheep. **Gene**, v. 853, p. 147100, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2022.147100>.
- ZHOU, Y.; LI, C.; CAI, H.; XU, Y.; LAN, X.; LEI, C.; CHEN, H. Novel polymorphisms of the APOA2 gene and its promoter region affect body traits in cattle. **Gene**, v. 531, n. 2, p. 288-293, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2013.08.081>.
- ZIPFEL, P. F.; SKERKA, C. Complement regulators and inhibitory proteins. **Nature Reviews Immunology**, v. 9, n. 10, p. 729-740, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1038/nri2620>.