

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE JABOTICABAL

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO NA FASE DE CRIA SOBRE A
EXPRESSÃO GÊNICA, PROCESSOS E VIAS
RELACIONADAS À ADIPOGÊNESE E LIPOGÊNESE DO
MÚSCULO *LONGISSIMUS THORACIS* AO DESMAME EM
BOVINOS F1 ANGUS-NELORE.**

Maria Júlia Generoso Ganga

Zootecnista

2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE JABOTICABAL

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO NA FASE DE CRIA SOBRE A
EXPRESSÃO GÊNICA, PROCESSOS E VIAS
RELACIONADAS À ADIPOGÊNESE E LIPOGÊNESE DO
MÚSCULO *LONGISSIMUS THORACIS* AO DESMAME EM
BOVINOS F1 ANGUS-NELORE.**

Maria Júlia Generoso Ganga

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

2023

G197e

Ganga, Maria Júlia Generoso

Efeito da suplementação na fase de cria sobre a expressão gênica, processos e vias relacionadas à adipogênese e lipogênese do músculo longissimus thoracis ao desmame em bovinos f1 angus-nelore. / Maria Júlia Generoso Ganga. -- Jaboticabal, 2023
99 p. : tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Rogério Abdallah Curi

Coorientador: Guilherme Luís Pereira

1. Expressão gênica diferencial. 2. Qualidade de carne. 3. Nutrigenômica. 4. Adipogênese. 5. Creep-feeding. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO NA FASE DE CRIA SOBRE A EXPRESSÃO GÊNICA, PROCESSOS E VIAS RELACIONADAS À ADIPOGÊNESE E LIPOGÊNESE DO MÚSCULO *Longissimus thoracis* AO DESMAME EM BOVINOS F1 ANGUS-NELORE

AUTORA: MARIA JÚLIA GENEROSO GANGA
ORIENTADOR: ROGERIO ABDALLAH CURI
COORIENTADOR: 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:

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

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

Profa. Dra. PRISCILLA DUTRA TEIXEIRA (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia / Universidade Federal de Lavras UFLA Lavras/MG

Jaboticabal, 28 de fevereiro de 2023

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Maria Júlia Generoso Ganga, nascida em 25 de setembro de 1998, na cidade de Catanduva, São Paulo, Brasil. Filha de Clóvis César Ganga e Michele Karina Generoso Rossi Ganga. Possui graduação em Zootecnia (2016-2020), pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal. Durante a graduação foi bolsista de iniciação científica CNPq e FAPESP sob orientação da Prof^a Dr^a Telma Teresinha Berchielli. Em janeiro de 2021 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 CNPq.

Aos meus pais, Clóvis César Ganga e Michele Karina Generoso Rossi Ganga, e aos meus irmãos, João Pedro Generoso Ganga e João Lucas Generoso Ganga,

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter ouvido as orações que foram feitas e a Nossa Senhora, pela interseção. Foi o que me manteve firme até o fim.

Aos meus pais e meus irmãos, que sempre me apoiaram em todas as decisões relacionadas a vida profissional, e me deram suporte quando as coisas pareciam não estar funcionando.

Aos meus avós e meus tios, pelas ações, palavras de carinho e por toda torcida que tem por mim.

Ao meu orientador, Prof. Rogério A. Curi, pelos ensinamentos, pela oportunidade da realização do mestrado e pela paciência.

Ao meu coorientador, Prof. Guilherme Pereira e aos Prof. Luis Artur Chardulo e Prof. Welder Baldassini, pelos ensinamentos e por toda ajuda no desenvolvimento desta pesquisa.

A Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (Capes) pela bolsa concedida durante todo o mestrado. E a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão do auxílio ao projeto (processo nº 2019/22621-3).

Aos amigos que fiz neste período de mestrado, que me ouviram, tiveram muita paciência e empatia, e com quem ri muito: Murilo, Rafaela, Ryan, Mariana, Lara e Arthur. E aos amigos que mesmo distantes, mantiveram o contato e os votos de felicidade e dias melhores: Gabriella, Elisabeth, Maria Beatriz e Flávia.

A todos que contribuíram para a realização deste trabalho em todas as suas vertentes.

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

SUMÁRIO

RESUMO.....	iii
ABSTRACT.....	iv
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1.1 Introdução.....	1
1.2 Revisão Bibliográfica	3
1.2.1 Qualidade de carne.....	3
1.2.2 Metilação do DNA.....	5
1.2.3 Efeitos da dieta sobre a expressão gênica.....	6
1.2.4 Suplementação de bezerros na fase de cria por meio de <i>creep feeding</i>	8
1.2.5 Expressão gênica e metabolismo lipídico em bovinos.....	10
1.3 Objetivos.....	12
1.3.1 Objetivo Geral.....	12
1.3.2 Objetivo Específico.....	12
1.4 Referências Bibliográficas.....	13
CAPÍTULO 2 - EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO NA FASE DE CRIA SOBRE A EXPRESSÃO GÊNICA, PROCESSOS E VIAS RELACIONADAS À ADIPOGÊNESE E LIPOGÊNESE DO MÚSCULO <i>LONGISSIMUS THORACIS</i> AO DESMAME EM BOVINOS F1 ANGUS-NELORE.....	20
Resumo.....	22
Abstract.....	23
2.1 Introdução.....	24
2.2 Materiais e Métodos.....	24
2.2.1 Animais.....	25
2.2.2 Coleta de tecido à desmama, ao abate e análises de qualidade da carcaça	26
2.2.3 Análises de qualidade da carne.....	26
2.2.4 Análises estatísticas dos dados de peso, ganho de peso, carcaça e carne	26
2.2.5 Análises da expressão gênica diferencial.....	27
2.2.5.1. Extração do RNA e sequenciamento.....	27
2.2.5.2. Mapeamento das sequencias do genoma referência e identificação de genes diferencialmente expressos	28
2.2.5.3. Análises funcionais dos genes diferencialmente expressos.....	29
2.3 Resultados.....	31
2.3.1 Desempenho pré- e pós-desmama e qualidade da carne e da carcaça.....	31
2.3.2 Análise da expressão gênica diferencial.....	32

2.3.2.1 Concentração e integridade do RNA total.....	32
2.3.2.2 Sequenciamento de RNA e mapeamento das “reads” do genoma referência.....	33
2.3.2 Identificação de genes diferencialmente expressos.....	37
2.3.4 Análise de enriquecimento funcional dos genes diferencialmente expressos.....	39
2.4 Discussão.....	46
2.5 Conclusão.....	56
2.6 Referências Bibliográficas	57
APÊNDICES.....	69
Apêndice S1.....	69
Apêndice S2.....	70
Apêndice S3.....	85
Apêndice S4.....	86
Apêndice S5.....	87
Apêndice S6.....	88

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO NA FASE DE CRIA SOBRE A EXPRESSÃO
GÊNICA, PROCESSOS E VIAS RELACIONADAS À ADIPOGÊNESE E
LIPOGÊNESE DO MÚSCULO *LONGISSIMUS THORACIS* AO DESMAME EM
BOVINOS F1 ANGUS-NELORE**

RESUMO – Diferentes estratégias têm sido utilizadas para aumentar a deposição de gordura intramuscular na carne produzida no Brasil, a partir, principalmente do Nelore (*Bos indicus*) e de seus cruzamentos, visando melhorar a qualidade do produto final e, dessa forma, atender mercados mais exigentes. Uma dessas estratégias é a suplementação na fase de cria por meio de *creep feeding*. Entretanto, são poucas as pesquisas que avaliaram o efeito do *creep feeding* sobre a expressão gênica no tecido muscular à desmama de bovinos Nelore e em seus cruzamentos com raças taurinas (*Bos taurus*). Assim, este estudo teve como objetivo identificar, a partir de análise do transcriptoma, genes diferencialmente expressos, processos biológicos e vias metabólicas relacionadas à adipogênese e lipogênese em biópsias musculares colhidas à desmama de bovinos cruzados submetidos à diferentes dietas entre o nascimento e os 210 dias de vida. Foram utilizados 48 bovinos cruzados F1 Angus-Nelore machos, não castrados, meio-irmãos, mantidos a partir dos 30 dias de idade até o desmame sob dois diferentes tratamentos (n = 24/tratamento): grupo 1 (G1) – sem suplementação em *creep feeding*; e G2 – com suplementação em *creep feeding*. Os animais foram desmamados aos 210 dias, e, em seguida, foram confinados por 180 dias em baias coletivas (três animais/baia) recebendo dieta contendo 12,6% de volumoso e 87,4% de concentrado a base de milho. À desmama foi realizada coleta de alíquotas do músculo *Longissimus thoracis* (LT) por meio de biópsia. Ao longo do abate foram coletadas amostras (bifes de contra-filé) do LT entre as 12^a e 13^a costelas da meia-carcaça esquerda, a partir das quais foram determinados: área de olho de lombo (AOL), espessura de gordura subcutânea (EGS), índice de marmorização (IMF), lipídeos totais/porcentagem de gordura (%G) e força de cisalhamento aos sete e 14 dias de maturação (SF7 e SF14). A partir das alíquotas do LT das biópsias foram analisadas diferenças na expressão gênica global entre os tratamentos (G1 vs G2 – 12 indivíduos/grupo) no momento da desmama por meio da técnica de sequenciamento do RNA mensageiro (RNA-Seq). Em relação à %G e IMF, os animais de G2 apresentaram valores maiores (4,95±0,20 vs 5,80±0,23; 321,50±13,65 vs 366,11±12,39, respectivamente) quando comparados com G1 (p<0,05). Foram identificados 947 genes diferencialmente expressos (DEGs) entre G1 e G2 à desmama, dos quais 443 foram regulados negativamente e 504 foram regulados positivamente no G2. As análises de enriquecimento funcional realizadas com os DEGs identificaram importantes genes, vias metabólicas (KEGG_PATHWAY) e processos biológicos (GOTERM_BP) relacionados à adipogênese e lipogênese (p<0,05), como: biossíntese de colesterol, sinalização de PPAR, metabolismo de ácidos graxos e biossíntese de ácidos graxos insaturados

Palavras chave: desmama, expressão diferencial, adipogênese, qualidade de carne, *Bos indicus*, nutrigenômica

**EFFECT OF COW-CALF SUPPLEMENTATION ON GENE EXPRESSION,
PROCESSES AND PATHWAYS RELATED TO ADIPOGENESIS AND
LIPOGENESIS IN *LONGISSIMUS THORACIS* AT WEANING IN F1 ANGUS-
NELORE CATTLE.**

ABSTRACT – Different strategies have been used to increase the intramuscular fat in beef produced in Brazil, mainly from Nellore (*Bos indicus*) and its crossings, to improve the final product. There are few researches evaluating the effect of the creep feeding, a cow-calf supplementation system, on gene expression in muscle tissue at weaning of Nellore cattle and in their crosses with taurine breeds (*Bos taurus*). Thus, this study will aim to identify, from transcriptome analysis, differentially expressed genes, biological processes and metabolic pathways related to adipogenesis and lipogenesis in muscle biopsies collected at weaning from crossbred cattle submitted to different diets in the cow-calf phase. Forty-eight male Angus-Nellore crossbred steers, not castrated, half-sibs, kept from 30 days of age until weaning under two different treatments (n = 24/treatment): group 1 (G1) - no creep feeding; G2 - creep feeding, were used. The animals were weaned at 210 days, and then finished in feedlot for 180 days receiving a diet containing 12.6% roughage and 87.4% corn based concentrate. With the Longissimus thoracis (LT) muscle samples of the left side of the carcass, collected at slaughter, were determined the fat percentage/total lipids (%F), and the marbling index (MI) of all animals of the two groups. At weaning, aliquots of LT muscle were collected by biopsy and the differences in gene expression between treatments (G1 vs G2 - 12 individuals/group) were investigated by RNA-Seq. The animals of both groups showed significant differences ($p < 0.05$) for %F (4.95 ± 0.20 vs 5.80 ± 0.23) and MI (321.50 ± 13.65 vs 366.11 ± 12.39). The weights at the beginning of the experiment and at slaughter (390 days) did not differ. Nine hundred and forty-seven differentially expressed genes (DEGs) were identified ($\log_2$ foldChange 0.5; FDR 5%) among the groups at weaning, 504 of which were up-regulated and 443 down-regulated in the G2. Regarding %Fat and MI, G2 animals related higher values (4.95 ± 0.20 vs 5.80 ± 0.23 ; 321.50 ± 13.65 vs 366.11 ± 12.39 , respectively) when compared to G1 ($p < 0.05$). We identified 947 differentially expressed genes (DEGs) between G1 and G2, of which 443 were down-regulated and 504 were up-regulated in G2. Functional enrichment analyses performed with the DEGs identified important genes, metabolic pathways (KEGG_PATHWAY) and biological processes (GOTERM_BP) related to adipogenesis and lipogenesis ($p < 0.05$), such as: cholesterol biosynthesis, PPAR signaling, fatty acid metabolism and unsaturated fatty acid biosynthesis.

Keywords: weaning, differential expressed, adipogenics, meat quality, *Bos indicus*, nutrigenomics

CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais

1.1. Introdução

Há aproximadamente 17 anos o Brasil se mantém como maior exportador mundial de carne bovina do mundo, sendo que dos 196,4 milhões de animais produzidos, 80% do rebanho é de zebuínos (*Bos indicus*), com a raça Nelore sendo a de maior destaque (ABIEC, 2022; Ferraz e Felício, 2010), além do uso de animais cruzados que recebem a denominação de anelorados. Porém, animais zebuínos apresentam baixo potencial genético para deposição de gordura intramuscular, o que contribui para que os cortes cárneos tenham menor qualidade e valor agregado.

Deste modo, animais cruzados (zebuínos x europeus – *Bos taurus*) têm sido bastantes utilizados, uma vez que podem demonstrar melhor desempenho, características de carcaça e qualidade de carne quando comparados à animais zebuínos puros (Miguel et al., 2014). Por essas razões, o uso desta estratégia é cada vez mais adotada para melhorar os ganhos genéticos e desempenho produtivo, especialmente quando os animais são terminados em confinamento.

Nota-se, assim, a crescente utilização de animais cruzados, principalmente o Angus x Nelore, para a produção de carne com maior quantidade de gordura intramuscular e mais maciez, buscando agregar valor ao produto final e atender demandas de mercados interessados em carne de maior qualidade. A deposição de gordura intramuscular na carne, conhecida como marmoreio, pode influenciar positivamente nos atributos sensoriais incluindo sabor, suculência e maciez (Hocquette et al., 2010).

Na produção de bovinos de corte, além da questão do grupo genético, entre outros, algumas formas de manejo que visam incrementar a deposição de gordura intramuscular têm sido utilizadas. A desmama precoce e a suplementação na fase de cria são manejos que podem proporcionar adaptações metabólicas diferentes em comparação aos animais que são desmamados de forma convencional (Scheffler et al., 2014). A técnica denominada como *creep feeding* consiste na utilização de suplementação alimentar em animais antes do desmame, ou seja, ao longo do período de cria, a fim de proporcionar indivíduos mais pesados ao desmame,

encurtando o tempo de acabamento da carcaça para o abate e fornecer descanso para a matriz (Dantas et al., 2010).

No momento atual, é bem conhecido que organismos podem responder a diferentes fatores ambientais e nutricionais, exibindo plasticidade fenotípica em decorrência de alterações nos padrões de expressão gênica (Zhang, 2015). Desta forma, características dos animais podem ser modificadas por modulações nutricionais, o que significa que as exposições dietéticas podem ter consequências para o crescimento e para a saúde (McKay e Mathers, 2011). A toda hora surgem novas evidências de que estímulos nutricionais podem modificar a metilação do DNA e, portanto, afetar a expressão de genes e o fenótipo dos indivíduos (Farias et al., 2015; Farkas et al., 2015; Day et al., 2015). Estas modificações no padrão de metilação do DNA podem ocorrer em pontos específicos ou ao longo de todos os cromossomos do genoma (Vucetic et al., 2010; Bogdarina et al., 2010; Jousse et al., 2011; Dudley et al., 2011; Altmann et al., 2012).

Até os dias de hoje, poucos estudos apresentaram e descreveram de forma ampla os mecanismos genéticos e fisiológicos ligados a adipogênese em bovinos. Aspectos ligados a deposição de gordura nas fases gestacional, neonatal, ao desmame e a continuidade até a vida adulta são pouco investigados, assim como os modos de regulação das expressões ligadas a este processo e a marmorização da carne em bovinos cruzados. Estas informações podem trazer benefícios econômicos para os sistemas de produção, tendo em vista que o seu uso e a manipulação de processos relacionados à deposição da gordura intramuscular poderão propiciar o melhoramento da característica além de promover a abertura para mercados mais exigentes.

Deste modo, o presente estudo teve como hipótese que a suplementação de bezerros cruzados (F1) Angus x Nelore, por meio do sistema *creep feeding*, logo após o nascimento, a fim de explorar uma janela adipogênica de grande importância para a formação dos adipócitos, poderia, em função de alterações na metilação do DNA de regiões gênicas reguladoras e consequentemente na expressão de genes adipogênicos e lipogênicos, aumentar a gordura intramuscular em animais terminados em confinamento, pelo aumento hiperplásico do tecido adiposo.

1.2. Revisão Bibliográfica

1.2.1. Qualidade da carne

A deposição de gordura na carcaça é condição de fundamental importância para a qualidade dos cortes cárneos de bovinos. Para o consumidor, os principais aspectos a serem considerados na compra de carne no varejo são, por ordem de importância, segurança alimentar (onde a origem e a marca do produto são fundamentais), tipo e tamanho de corte, coloração e gordura de cobertura (Chardulo et al., 2013).

Frigoríficos exigem animais que apresentem cobertura de gordura de no mínimo quatro milímetros. Carcaças leves e com pouca gordura subcutânea seriam mais sujeitas ao encurtamento das fibras pelo frio (*cold shortening*), resultando em menor maciez da carne, principalmente quando resfriadas rapidamente (Tait et al., 2005; Chardulo et al., 2013).

Em estudo conduzido com amostras do músculo *Longissimus thoracis* de 1652 bovinos Nelores, foram descritos importantes resultados sobre espessura de gordura subcutânea e as características de qualidade de carne num contexto multifatorial (Baldassini et al., 2017). Neste estudo, os autores constataram que apenas 11,2% das amostras foram consideradas macias (força de cisalhamento $\leq$ 4,9 kg) e com menores perdas por cocção. Esta é uma característica muito associada também à condição nutricional e o grupo genético utilizado para a produção de carne (Ladeira et al., 2016). Ademais, quando destinados à produção de carne, os animais têm sido castrados com o objetivo principal de assegurar a deposição de gordura na carcaça, aumentando a gordura subcutânea.

Além da gordura subcutânea, a gordura intramuscular é uma característica bastante valorizada em diversos países com consumidores mais exigentes, como Coreia, Japão, Austrália e Estados Unidos (Park et al., 2018). Entretanto, mais recentemente, com o aumento da utilização do cruzamento industrial na produção de carne nacional, a quantidade de gordura intramuscular tem recebido maior atenção do consumidor e da indústria, uma vez que animais zebuínos, os quais são predominantes no país, produzem carne com pouca, ou mesmo completa ausência

de marmoreio (Garrido Rubiano et al., 2009). Em bovinos, a deposição do tecido adiposo intramuscular é o resultado do manejo alimentar, nutrição, sexo, idade e genótipo (grupo genético) (Pflanzer e Felício, 2011).

A marmorização (gordura intramuscular) está intimamente relacionada com a satisfação do consumidor, e, a aceitação global, parece atingir um patamar considerado ótimo quando o teor de lipídios na porção intramuscular encontra-se entre 3 e 7% (Hocquette et al., 2010). A concentração de gordura intramuscular avaliada no *Longissimus thoracis* em animais Nelore, por exemplo, pode variar com o grau de maturidade do indivíduo, atingindo comumente teores entre 2 e 3% (Oliveira et al., 2012; Baldassini et al., 2017), embora valores acima de 4% já tenham sido descritos na literatura (Pflanzer e Felício, 2011).

O teor de gordura intramuscular e o perfil de ácidos graxos tem relação estreita com o sabor da carne (Calkins e Hodgen, 2007), mas também tem atraído o consumidor pelo seu possível efeito na saúde, já que alguns ácidos graxos são apontados como benéficos (Hocquette et al., 2012). É crescente o interesse na produção de ácidos graxos *trans* por ruminantes, nos quais já é conhecido que o de maior prevalência é o ácido vacênico, de grande importância principalmente pelo seu potencial efeito contra o desenvolvimento de doenças coronarianas, diferindo dos ácidos graxos *trans industriais* (Salter, 2013; Wang et al., 2021; Moloney et al., 2014).

Em laboratório, a quantidade de gordura intramuscular da carne bovina pode ser medida pelo método químico (Bligh e Dyer, 1959), por determinação da composição centesimal (AOAC, 2000) ou por meio de escores de marmorização com escalas que variam, por exemplo, de zero a 10, desenvolvida nos Estados Unidos (USDA, 1997), ou de 100 a 1100 (adaptada da AUS-MEAT, Austrália, 2018). Desta forma, métodos precisos para determinar o teor de gordura intramuscular da carne só podem ser realizados após o abate dos animais, o que leva tempo e limita a sua utilização em programas de seleção e melhoramento genético. Além disto, a mensuração destas características envolve muita mão de obra (coleta de amostras durante o abate dos animais, transporte, treinamento pessoal e análises laboratoriais), o que encarece e dificulta todo o processo. Por esses motivos, formas alternativas de avaliar animais superiores para marmoreio devem ser desenvolvidas.

Neste sentido, o estudo dos genes, proteínas e mecanismos de regulação envolvidos com esta característica podem trazer informações relevantes que venham a auxiliar. Esses estudos podem proporcionar a ligação entre genes do genoma e os processos biológicos e vias metabólicas que dão origem ao fenótipo (Hocquette et al., 2007).

1.2.2. Metilação do DNA

Uma forma de o organismo realizar mudanças nas funções gênicas e, consequentemente, nos fenótipos, sem que haja alterações nas sequências bases do DNA é denominada epigenética (Heard e Martienssen, 2014). Neste sentido, os mecanismos epigenéticos têm papel central na programação da expressão gênica e incluem um grande número de modificações pós-traducionais de histonas (acetilação e metilação, entre outras), variantes de histonas, metilação de DNA e RNAs de interferência (Margueron e Reinberg, 2010).

Apesar da ocorrência de todos estes mecanismos de regulação epigenética, somente a metilação de DNA foi demonstrada como hereditária na divisão celular (Wigler et al., 1981). Assim, a metilação do DNA é a modificação epigenética mais estável quando, comparada com as modificações das histonas (consideradas mais facilmente reversíveis), e, desta forma, regulam a plasticidade da transcrição do genoma (Wong et al., 2011). Esta alteração no DNA, catalizada pelas enzimas DNA metiltransferases (DNMTs), consiste na adição de um grupamento metil (CH₃) ao carbono da posição cinco da base nitrogenada da citosina (C) em dinucleotídeos CpG, que são regiões em que uma C precede uma G na sequência do DNA (C - fosfato de ligação - G) (Fragou et al., 2013).

A metilação é comum em todo o genoma, com aproximadamente 3% de todas as citosinas no DNA humano e cerca de 70% dos dinucleotídeos CpG metilados. Estes dinucleotídeos se agrupam no genoma, em regiões conhecidas como ilhas CpG, que contém pelo menos 200 pares de base e um conteúdo G+C maior que 50%. Em humanos existem aproximadamente 45.000 ilhas CpG, que estão localizadas, em sua maioria, nas regiões promotoras, as quais juntamente com as regiões moduladoras, compõem as regiões regulatórias dos genes. A metilação

nessas regiões está associada ao silenciamento gênico e, assim, quando essas ilhas não estão metiladas ocorre a expressão gênica (Oliveira et al., 2010; Portela e Esteller, 2010; Yuferov et al., 2010). Dinucleotídeos CpG encontrados fora de ilhas, em regiões conhecidas como "margens da ilha CpG" são menos metilados quando comparadas com as ilhas em si (Tsankova et al., 2007; Robison e Nestler, 2011), mas também podem estar associados à inativação transcricional. Quando a metilação ocorre no corpo do gene (exons e introns), também pode estar correlacionada com a sua expressão (Doi et al., 2009; Irizarry et al., 2009; Portela e Esteller, 2010). Por fim, uma fração de CpGs, que estão profundamente metiladas, encontradas em elementos repetitivos, são responsáveis pela proteção da integridade genômica e evitam a instabilidade cromossômica, translocações e quebras gênicas (Esteller, 2007).

Existem três DNMTs com funções diferentes: as DNMT3A e DNMT3B são responsáveis pela adição do grupo metil *de novo*, ou seja, durante a embriogênese, enquanto a DNMT1 é responsável pela manutenção dos padrões de metilação do DNA durante a multiplicação celular. Assim, a DNMT1 copia as marcas de metilação no filamento parental para o filamento recém-sintetizado após a replicação do DNA. Ainda ao longo do processo de duplicação do DNA, o qual precede a multiplicação celular, as DNMT3A e DNMT3B completam o processo de metilação ao corrigir erros deixados pela DNMT1 (Jones e Liang, 2010).

Até recentemente acreditava-se que o processo de metilação do DNA seria irreversível. No entanto, atualmente é conhecido que a citosina metilada pode ser oxidada pela família de dioxigenases Tet α -KG dependentes para produzir 5-hidroximetilcitosina (hmC) (Tahiliani et al., 2009; Day et al., 2015). A marca hidroximetil em si é estável, no entanto, é o primeiro passo na desmetilação ativa, e também para a oxidação pela família de proteínas Tet para aldeído ou produtos de carboxilato ou para mecanismos de desaminação, seguidos de excisão de bases que então apagam a alquilação/metilação de citosinas (Ito et al., 2011; Song et al., 2013).

1.2.3. Efeitos da dieta sobre a expressão gênica

Atualmente, é bem conhecido que muitos organismos podem responder a diferentes fatores ambientais/nutricionais, exibindo plasticidade fenotípica em decorrência de alterações nos padrões de expressão gênica (Zhang, 2015). Neste sentido, o fenótipo dos animais pode ser modificado por modulações nutricionais por meio de alterações em mecanismos biológicos e vias metabólicas, o que significa que as exposições dietéticas podem ter consequências importantes para o crescimento e para a saúde (McKay e Mathers, 2011).

Nos últimos anos, surgiram cada vez mais comprovações de que estímulos ambientais (nutricionais) podem modificar a metilação do DNA e, portanto, afetar a expressão de genes (Lillicrop et al., 2005; Van Straten et al., 2010; Day et al., 2015; Farias et al., 2015; Farkas et al., 2015). Assim, a metilação do DNA é considerada componente chave de uma rede epigenética complexa que afeta o transcriptoma de um determinado conjunto de células ou tecido (Kucharski et al., 2008). Existem evidências crescentes que sustentam que nutrientes podem modificar o padrão de metilação do DNA, seja em locos específicos do genoma ou em escala global, se estendendo a todos os cromossomos (Vucetic et al., 2010; Bogdarina et al., 2010; Dudley et al., 2011; Jousse et al., 2011; Altmann et al., 2012).

São, até o momento, conhecidas três formas distintas pelas quais a nutrição influencia os padrões de metilação do DNA, entre as quais, pelo fornecimento de substratos necessário para a metilação adequada do DNA; e pela provisão de cofatores que modulam a atividade enzimática das DNA metil transferases (DNMTs). Como metil-doador universal para proteínas metiltransferases (Loenen, 2006), a S-denosilmetionina (SAM) é sintetizada no ciclo da metionina a partir de vários precursores presentes na dieta (McKay & Mathers, 2011; Feil e Fraga, 2012).

Todos estes precursores entram em pontos diferentes na via da metionina e contribuem para a síntese líquida do SAM. Assim, a disponibilidade reduzida de SAM resulta na hipometilação global do DNA, e vice-versa (Zhang, 2015). É bem conhecido que as DNMTs exigem o SAM como um co-fator para sua ativação total. Doadores de metila da dieta podem contribuir para modular a atividade das DNMTs alterando a concentração intracelular de SAM. Além de uma regulação indireta dos padrões de metilação do DNA por meio da modulação de SAM, vários outros

compostos da dieta podem também influenciar diretamente a expressão ou atividade das DNMTs (Mukherjee et al., 2015).

O modo como um estímulo nutricional pode influenciar a epigenética é chamado de 4Rs dos epigenomas nutricionais, onde o primeiro animal recebeu (*received*) o estímulo nutricional e este foi registrado (*recorded*) por seu genoma, e, então, a exposição ao estímulo é lembrada (*remembered*) pelas células das gerações seguintes e a expressão gênica alterada é revelada (*revealed*) (Mathers, 2008; Ladeira et al., 2018).

1.2.4. Suplementação de bezerros na fase de cria por meio de *creep feeding*

O crescimento dos adipócitos, tanto por hiperplasia como por hipertrofia, ocorre primariamente no tecido adiposo visceral seguido pelo subcutâneo, intermuscular e, por último, no intramuscular (Zhao e Du, 2019). O crescimento destes tecidos ocorre por meio da proliferação dos pré-adipócitos, o que influencia a formação de novos adipócitos maduros (hiperplasia), e, por fim, pelo aumento do tamanho e da capacidade de armazenamento de lipídeos nos adipócitos maduros, a hipertrofia (Gomide et al., 2013).

A hiperplasia dos adipócitos ocorre principalmente durante o final do desenvolvimento fetal e início da vida do animal (Zhu et al., 2007). Após o nascimento observa-se o aumento do número de adipócitos intramusculares, com alterações significativas na transcrição de genes envolvidos no metabolismo lipídico em geral, incluindo a adipogênese, a síntese/esterificação (lipogênese) e oxidação de ácidos graxos (Jeong et al., 2013).

Quando começa ocorrer a hipertrofia dos adipócitos, o que se dá em razão da ativação de ações metabólicas, como a lipogênese e a lipólise, que acontecem armazenando ou liberando lipídios, de modo que a deposição dos ácidos graxos no tecido adiposo pode ser influenciada pela interação dos nutrientes e nível de expressão dos genes no metabolismo de lipídios (Hiller et al., 2011).

Segundo Patel e Srinivasan (2011), a nutrição adequada induz positivamente o metabolismo da glicose nos primeiros meses após nascimento, pelo acoplamento

do eixo somatotrópico, e causa efeitos a longo prazo na saúde e desempenho devido a alterações epigenéticas conhecidas como *imprinting* metabólico. Este processo epigenético, como já mencionado, inclui modificações na expressão dos genes que não são explicadas por alteração de nucleotídeos na sequência do DNA e podem ocorrer durante períodos ou janelas de reprogramação genética como, por exemplo, na embriogênese, em que tecidos, como o muscular e o adiposo são formados. Isto pode, também, ocorrer em um curto período pós-parto estimado entre 60 e 240 dias de idade, aproximadamente (Arthington e Moriel, 2014; Zhang, 2015).

Deste modo, a nutrição adequada, de alto valor energético, nestes períodos críticos pode favorecer o crescimento do tecido muscular, a deposição de gordura intramuscular, bem como, o desenvolvimento do trato reprodutivo, melhorando a qualidade da carcaça de machos e antecipando a puberdade em novilhas. Neste sentido, manejos como a suplementação em *creep feeding* durante a fase de cria (nascimento ao desmame), bem como a desmama precoce podem levar à adaptações metabólicas diferentes nos animais em comparação a aqueles que são desmamados de forma convencional (aos 210 dias de idade) (Scheffler et al., 2014).

O *creep feeding* consiste em fornecer alimentação suplementar, que pode ser grãos ou forragem, para bezerros durante a fase de amamentação (Stewart, 2017). Moisé et al. (2013) relataram que bovinos que receberam *creep feeding* com amido apresentaram maior deposição de gordura na carcaça em relação aos animais que foram submetidos ao desmame precoce e receberam suplementação com amido e em relação aos animais que foram desmamados de modo convencional sem *creep feeding*. Ademais, de acordo com Stewart (2017) foi demonstrado por meio de diversos estudos que o uso de *creep feeding* aumenta o marmoreio da carne, e, para manter este aumento, é necessário que os animais permaneçam sendo alimentados com dietas à base de grãos, ricas em energia e proteína, após o desmame e sejam introduzidos em dieta de confinamento em até 28 dias. Como principal base dessas adaptações metabólicas, podem estar os mecanismos epigenéticos que atuam na modulação, ativação ou silenciamento de genes em diferentes fases do desenvolvimento e/ou sob estímulos ambientais diferenciados (Chen e Riggs, 2011).

1.2.5 Expressão gênica e metabolismo lipídico em bovinos

De acordo com Ladeira et al. (2018), a quantidade ofertada de glicose (energia) tem relação direta com a lipogênese, o marmoreio e qualidade da carne nos ruminantes. Em *Bos taurus* foi constatado que a glicose é a melhor precursora para síntese de ácidos graxos no tecido adiposo intramuscular e o único composto carbônico com maior concentração de seus carbonos no tecido adiposo intramuscular em relação ao subcutâneo e, além disso, notou-se também a menor incorporação da glicose em animais pós-púbere, fato que parece ser devido à alta incorporação de acetato e lactato (e não a glicose) nestes animais, havendo concorrência por coenzima A (Smith e Crouse, 1984). Portanto, no período de cria, o aporte correto de concentrado, principalmente rico em amido, favorece a proliferação e o crescimento dos adipócitos.

O incremento do metabolismo da glicose pode levar ao aumento do marmoreio sem, contudo, aumentar gordura nas vísceras, o que contribui para qualidade geral da carne e para o maior rendimento de carcaça. Somando-se a isso, a elevação do nível de proteína na dieta dos animais pode também incrementar a deposição de gordura intramuscular. Foi proposto por Lopez et al. (2001) que maiores níveis de proteína bruta na dieta elevam a digestão e a absorção intestinal do amido, e promovem a elevação plasmática de insulina e glicose, o que, por consequência, aumenta a deposição de tecido adiposo intramuscular, por favorecer precursores dos ácidos graxos.

A síntese de mRNA na expressão gênica é controlada, entre outros (p. ex.: metilação do DNA e modificações covalentes das histonas), pela ligação de determinados fatores de transcrição em sequências específicas do DNA. A expressão destes fatores e, conseqüentemente a sua atuação, é dependente da situação fisiológica e do estágio de desenvolvimento do organismo. Assim, alguns genes são expressos apenas em momentos específicos (Harper et al., 2014).

Na regulação de alguns genes responsáveis pela lipogênese, destacam-se os fatores de transcrição da família dos receptores ativados por proliferadores de peroxissoma (PPAR), responsáveis pelo controle de utilização da glicose e regulação lipídica (Bionaz et al., 2013). Dentre esses fatores de transcrição, os

PPAR α parecem ativar os genes responsáveis pela oxidação dos ácidos graxos, enquanto o PPAR γ tem efeito antagonista, ativando genes adipogênicos e lipogênicos, sendo mais expresso em indivíduos obesos (Gervois et al., 2000). O complexo enzimático ácido graxo sintase tem ação direta sobre a regulação dos PPAR γ e a adipogênese, sendo que quanto menor a síntese dessas enzimas, menor a expressão da PPAR γ e, como consequência, tem-se redução no tecido adiposo (Lodhi et al., 2012). Mesmo aumentando a lipogênese, o PPAR γ também pode exercer função sobre os genes que estimulam a oxidação dos ácidos graxos, tendo como principal alvo o gene *CPT2*, gene este que codifica a enzima carnitina palmitotransferase II, mostrando que à medida que a PPAR γ é silenciada, ocorre redução na expressão gênica do *CPT2* (Sharma et al., 2012). O gene *SCD1* codifica a enzima estearoil-CoA dessaturase e tem como principal função a dessaturação dos ácidos graxos, assim transformando saturados em insaturados na carne bovina.

Entre outros genes e genes codificadores de fatores de transcrição sabidamente envolvidos no metabolismo adipogênico destaca-se o *BMP4*, membro do fator de crescimento TGF β , responsável por estimular a diferenciação de células mesenquimais para linhagem de adipócitos. Já os elementos reguladores de esteroide ligados a proteína 1c (SREBP-1c) são fatores de transcrição estimulados durante a fase inicial da diferenciação dos adipócitos (Ladeira et al., 2016). O estágio final da diferenciação é caracterizado pelo aumento da expressão de proteínas envolvidas na lipogênese como a FABP4, expressa por gene de igual nomenclatura (*FABP4*). A FABP4 é um transportador de lipídeos e tem uma baixa expressão no início da lipogênese e aumenta com o processo de diferenciação dos pré-adipócitos (Hausman et al., 2014). Assim, a maior expressão do gene *FABP4* pode ser um indicador do maior número de adipócitos dentro do tecido muscular.

Segundo Ladeira et al. (2016), entre os muitos genes supostamente envolvidos no metabolismo lipídico em bovinos, alguns poucos, como os fatores de transcrição PPAR γ (*Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma*) e SREBF (*Sterol Regulatory Element Binding Factor 1*), ACACA (*acetyl-CoA carboxylase alpha*) e FAS (*fatty acid synthase*) já foram identificados e parecem ser particularmente relevantes. Pesquisas mais recentes mostraram os genes/proteínas RUNX1T1 (*RUNX1 partner transcriptional co-repressor 1*), BCL6 (*B-cell lymphoma*), STAT1

(*signal transducer and activator of transcription*) *C/EBP β* e *C/EBP δ* (*cytidine-cytidine-adenosine-thymidine enhancer binding protein β e δ*), *EBF1* (*B-cell factor 1*), *KLF5* e *KLF6* (*Kruppel like factor 5 e 6*), *SOX6* (*SRY-box transcription factor 6*) e *STAT5* como também relacionados à adipogênese e ao metabolismo do tecido adiposo em humanos e/ou em ruminantes (Urrutia et al., 2020; Ambele et al., 2020).

Embora, como já reportado, alguns genes, mecanismos de controle, processos biológicos e vias metabólicas tenham sido estudados e ligados de forma contundente ao metabolismo de lipídios, assim como a adipogênese e lipogênese, estes processos fisiológicos, assim como muitos outros relacionados às características quantitativas, são, seguramente, controlados por número muito maior de fatores internos e externos ainda não elucidados. Por fim, poucos estudos têm avaliado a expressão destes e investigado a ação de outros fatores sobre a adipogênese e lipogênese em bovinos cruzados.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo Geral

Dada a falta de informação a respeito de alterações da expressão gênica em bezerros cruzados Nelore x *Bos taurus* submetidos à suplementação na fase de cria em sistema de *creep feeding*, este estudo terá como objetivo geral avaliar o efeito de diferentes dietas na fase de cria – sem suplementação em *creep feeding*, e com suplementação em *creep feeding* – sobre a expressão gênica, processos biológicos e vias metabólicas relacionadas à adipogênese e lipogênese em biópsias do músculo *Longissimus thoracis* colhidas ao desmame em bovinos F1 Angus-Nelore.

1.3.2. Objetivos específicos

A partir de animais F1 Angus-Nelore submetidos a dois tratamentos experimentais – sem suplementação em *creep feeding* e com suplementação em *creep feeding*, os objetivos específicos deste trabalho serão:

- 1) analisar a ocorrência de diferenças nas características de carcaça e da carne, em especial aquelas relacionadas à deposição de gordura;
- 2) identificar por meio de análise da expressão gênica ampla (técnica de RNA-Seq), genes diferencialmente expressos em biópsias do músculo *Longissimus thoracis* colhidas ao desmame;
- 3) identificar por meio de análises de *over representation* de genes diferencialmente expressos em biópsias do músculo *Longissimus thoracis* colhidas ao desmame, processos biológicos e vias metabólicas enriquecidas potencialmente relacionadas à adipogênese e lipogênese intramuscular.

1.4. Referências bibliográficas

ABIEC. 2022. Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes. BeefReport: Perfil da Pecuária no Brasil. Disponível em <http://www.abiec.com.br/control/uploads/arquivos/sumario2022portugues.pdf>.

Altmann S, Murani E, Schwerin M, Metges Cc, 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. ***Brit J Nutr.*** 107:791–9. 2012.

Ambele MA, Dhanraj P, Giles R, e Pepper MS. Adipogenesis: a complex interplay of multiple molecular determinants and pathways. ***International Journal of Molecular Sciences,*** 21, 4283. 2020. <https://doi.org/10.3390/ijms21124283>.

AOAC. The Association of Official Analytical Chemists. Off. Methods Anal. (17th ed.) 2000.

Arthington JD, Moriel P. Impressão Metabólica De Bezerros Desmamados Precocemente: Efeitos no Desempenho Pós Desmama em Machos e Fêmeas. ***In Anais...XVIII Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos.Uberlândia.*** 2014.

Baldassini WA, Chardulo LAL, Silva JAV, Malheiros JM, Dias VAD, Espigolan R, Baldi FS, Albuquerque LG, Fernandes TT, Padilha PM. Meat quality traits of Nellore bulls according to different degrees of backfat thickness: A multivariate approach. ***Anim. Prod. Sci.*** 57:363–370. 2017.

Bionaz M, Chen S, Khan MJ, Loor JJ. Functional role of PPARs in ruminants: Potential targets for fine-tuning metabolism during growth and lactation. **PPAR Res.** 2013.

Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction. **Can. J. Biochem. Physiol.** 1959

Bogdarina I, Haase A, Langley-Evans S, Clark AJL. Glucocorticoid effects on the programming of AT1B angiotensin receptor gene methylation and expression in the rat. **Plos One** 5:e9237. 2010.

Calkins CR, Hodgen JM. A fresh look at meat flavor. **Meat Science.** 77:63-80. 2007.

Chardulo LAL, Silveira AC, Vianello F. Analytical aspects for tropical meat quality assessment. In: G. P. P. Lima and F. Vianello, editors. **Food Quality, Safety and Technology.** Springer-Verlag Wien. 53–62. 2013.

Chen ZX, e Riggs AD. DNA methylation and demethylation in mammal. **J. Biol. Chem.** 2011.

Dantas CCO, Negrão FM, Geron LJV, Mexia AA. O uso da técnica do Creep-feeding na suplementação de bezerros. **PUBVET.** V.4, N. 28, Ed. 133, Art. 902. 2010.

Day JJ, Kennedy AJ, Sweatt JD. DNA methylation and its implications and accessibility for neuropsychiatric therapeutics. **Annu Rev Pharmacol.** 55:591–611. 2015.

Dudley KJ, Sloboda DM, Connor KL, Beltrand J, Vickers MH. Offspring of mothers fed a high fat diet display hepatic cell cycle inhibition and associated changes in gene expression and DNA methylation. **Plos One.** 6:e21662. 2011.

Doi A, Park IH, Wen B, Murakami P, Aryee MJ, Irizarry R, Herb B, Ladd-Acosta C, Rho J, Loewer S, Miller J, Schlaeger T, Daley GQ, Feinberg AP. Differential methylation of tissue- and cancer-specific CpG island shores distinguishes human induced pluripotent stem cells, embryonic stem cells and fibroblasts. **Nat. Genet.** 41(12):1350-1353. 2009.

Esteller M. Cancer epigenomics: DNA methylomes and histone-modification maps. **Nat Rev Genet.** 8(4):286-98. 2007.

Farias N, Ho N, Butler S, Delaney L, Morrison J, Shahrzad S, Coomber BL. The effects of folic acid on global DNA methylation and colonosphere formation in colon cancer cell lines. **J Nutr Biochem.** 26:818–26. 2015.

Farkas SA, Befekadu R, Hahn-Strö Mberg V, Nilsson TK. DNA methylation and expression of the folate transporter genes in colorectal cancer. **Tumor Biol** 36:5581–90. 2015.

Feil R, Fraga MF. Epigenetics and the environment: emerging patterns and implications. **Nat Rev Genet.** 13:97–109. 2012.

Ferraz JBS, Fecilio PE. Production systems – An example from Brazil. **Meat Sci.** 84:238–243.2010.

Fragou D, Zanos P, Kouidou S, Njau S, kitchen I, Bailey A, Kovatsi L. Effect of chronic heroin and cocaine administration on global DNA methylation in brain and liver. **Toxicol Lett.** 218(3):260-265. 2013.

Garrido Rubiano GA, De Beni Arrigoni M, Martins CL, Rodrigues É, Gonçalves HC, Angerami CN. Desempenho, características de carcaça e qualidade da carne de bovinos superprecoces das raças Canchim, Nelore e seus mestiços. **Rev. Bras. Zootec.** 2009.

Gervois P, Torra IP, Fruchart JC, Staels B. Regulation of lipid and lipoprotein metabolism by PPAR activators. **Clin. Chem. Lab. Med.** 2000.

Gomide LAM, Ramos EM, Fontes PR. Ciência e qualidade da carne - Fundamentos. (UFV, editor.). Viçosa-MG. 2013.

Harper HA, Murray RK, Gonzales HRP. Harper: bioquímica ilustrada. In: Harper. **Bioquímica ilustrada.** 2014.

Hausman GJ, basu U, Wei S, Hausman DB, Dodson MV. Preadipocyte and Adipose Tissue Differentiation in Meat Animals: Influence of Species and Anatomical Location. **Annu. Rev. Anim. Biosci.** 2:323–351. 2014.

Hiller B, Herdmann A e Nuernberg K. Dietary n-3 fatty acids significantly suppress lipogenesis in bovine muscle and adipose tissue: a functional genomics approach. **Lipids** 46, 557-567. 2011.

Hocquette JF, Lehnert S, Barendse W, Cassar-Mallek I, Picard B. Recent advances in cattle functional genomics and their application to beef quality. **Animal.** 2007.

Hocquette JF, Gondret F, Baza E, Mdale F, Jurie C, Pethick DW. Intramuscular fat content in meat-producing animals: Development, genetic and nutritional control, and identification of putative markers. **Animal.** 2010.

Huang DW, Sherman BT, Tan Q, Kir J, Liu D, Bryant D, Guo Y, Stephens R, Baseler MW, Lane HC, Lempicki RA. David Bioinformatics Resources:

expanded annotation database and novel algorithms to better extract biology from large gene lists. **Nucleic Acids Res.** 35:W169-W175. 2007.

Irizarry RA, Ladd-Acosta C, Wen B, Wu Z, Montano C, Onyango P, Cui H, Gabo K, Rongione M, Webster M, Ji H, Potash J, Sabunciyan S, Feinberg AP. The human colon cancer methylome shows similar hypo- and hypermethylation at conserved tissue-specific CpG island shores. **Nat Genet.** 41(2): 178-186, 2009.

Ito S, Shen L, Dai Q, Wu SC, Collins LB, Swenberg JA, Et AL. Tet proteins can convert 5-methylcytosine to 5-formylcytosine and 5-carboxylcytosine. **Science.** 333:1300–3. 2011.

Jeong J, Bong J, Kim GD, Joo ST, Lee HJ, Baik M. Transcriptome changes favoring intramuscular fat deposition in the longissimus muscle following castration of bulls. **J. Anim. Sci.** 91:4692–4704. 2013.

Jones PA, Liang G. Rethinking how DNA methylation patterns are maintained. **Nat Rev Genet.** 10:805–11.2010.

Jousse C, Parry L, Lambert-Langlais S, Maurin AC, Averous J, Bruhat A, Carraro V, Tost J, Letteron P, Chen P, Jockers R, Launay JM, 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 J.** 25:3271–8. 2011.

Kucharski R, Maleszka J, Foret S, Maleszka R. Nutritional control of reproductive status in honeybees via DNA methylation. **Science.** 319:1827–30. 2008.

Ladeira MM, Schoonmaker JP, Gionbelli MP, Dias JCO, Gionbelli TRS, Carvalho JRR, Teixeira PD. Nutrigenomics and beef quality: A review about lipogenesis. **Int. J. Mol. Sci.** 17. 2016.

Lillicrop KA, Phillips ES, Jackson AA, Hanson MA, Burdge GC. Dietary protein restriction of pregnant rats induces and folic acid supplementation prevents epigenetic modification of hepatic gene expression in the offspring. **J Nutr.** 135:1382–6. 2005.

Iodhi IJ, Yin L, Jensen-Urstad APL, Funai K, Coleman T, Baird JH, El Ramahi MK, Razani B, Song H, Fu-Hsu F, Turk J, Semenkovich CF. Inhibiting adipose tissue lipogenesis reprograms thermogenesis and PPAR γ activation to decrease diet-induced obesity. **Cell Metab.** 2012.

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. **J. Dairy Sci**, 84, 161, 2001

Margueron R, Reinberg D. Chromatin structure and the inheritance of epigenetic information. **Nat Rev Genet** 11(4): 285-296. 2010.

Mckay JA, Mathers JC. Diet induced epigenetic changes and their implications for health. **Acta Physiol**. 202:103–18. 2011.

Miguel GZ, Faria MH, Roça RO, Santos CT, Suman SP, Faitarone ABG, Delbem NLC, Girão LVC, Homem JM, Barbosa EK, Su LS, Resende FD, Siqueira GR, Savian TV, Moreira AD. Immunocastration improves carcass traits and beef color attributes in Nellore and Nellore × Aberdeen Angus crossbred animals finished in feedlot. **Meat Science**, 96:884–891. 2014.

Moisá SJ, Shike DW, Meteer WT, Faulkner DB, Loor JJ. Yin Yang 1 and adipogenic gene network expression in longissimus muscle of beef cattle in response to nutritional management. **Gene Regulation and Systems Biology**. 7: 71.83. 2013.

Mukherjee N, Kumar AP, Ghosh R. DNA methylation and flavonoids in genitourinary cancers. **Curr Pharmacol Rep**. 1:112–20.2015.

Oliveira EA, Sampaio AAM, Henrique W, Pivaro TM, Rosa BL, Fernandes ARM, Andrade AT. Quality traits and lipid composition of meat from Nellore young bulls fed with different oils either protected or unprotected from rumen degradation. **Meat Sci**. 2012.

Oliveira NFP, Planello ACP, Andia DC, Pardo APS. Metilação de DNA e Câncer. **Revista Brasileira de Cancerologia**. 56(4):493-499. 2010.

Patel MS, Srinivasan M. Metabolic programing in the immediate postnatal life. **Ann. Nutr. Metab**. 58: 18-28. 2011.

Park SJ, Beak S, Jin D, Jung S, Kim SY, Jeong IH, Piao MY, Kang HJ, fassah DM, Na SW, Yoo SP, Baik M. Genetic , management , and nutritional factors affecting intramuscular fat deposition in beef cattle — A review. **Asian-Australas J Anim Sci** 31:1043–1061. 2018.

Pflanzer SB, De Felicio PE. Moisture and fat content, marbling level and color of boneless rib cut from Nellore steers varying in maturity and fatness. 2011.

Portela A, Esteller M. Epigenetic modifications and human disease. **Nat Biotechnol**. 28(10):1057-68. 2010.

Robison AJ, Nestler EJ. Transcriptional and epigenetic mechanisms of addiction. **Nat. Rev. Neurosci**. 2011.

Scheffler JM, Mccann MA, Greiner SP, Jiang H, Hanigan MD, Bridges GA, Lake SL, Gerrard DE. Early metabolic imprinting events increase marbling scores in fed cattle. **J. Anim. Sci.** 2014.

Smith SB, Crouse DJ. Relative contributions of acetate, lactate and glucose to lipogenesis in bovine intramuscular and subcutaneous adipose tissue. **The Journal of Nutrition.** 114:792-800. 1984.

Sharma S, Sun X, Rafikov R, Kumar S, Hou Y, Oishi PE, Datar SA, Raff G, Fineman JR, Black SM. PPAR- γ Regulates Carnitine Homeostasis and Mitochondrial Function in a Lamb Model of Increased Pulmonary Blood Flow. **PLOS ONE.** 2012.

Song C, Szulwach KE, Dai Q, Fu Y, Mao S, Lin L, Street C, Li Y, Poidevin M, Wu H, Gao J, Liu P, Li L, Xu GL, Jin P, He C. Genome-wide profiling of 5-formylcytosine reveals its roles in epigenetic priming. **Cell.** 153:678–91. 2013.

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

Tahiliani M, Koh KP, Shen Y, Pastor WA, Bandukwala H, Brudno Y, Agarwal S, Iyer LM, Liu DR, Aravind L, Rao A. Conversion of 5-methylcytosine to 5-hydroxymethylcytosine in mammalian DNA by MLL partner TET1. **Science.** 324:930–5. 2005.

Tait RG, Wilson DE, Rouse GH. Prediction of retail product and trimmable fat yields from the four primal cuts in beef cattle using ultrasound or carcass data. **J. Anim. Sci.** 2005.

Tsankova N, Renthal W, Kumar A, Nestler EJ. Epigenetic regulation in psychiatric disorders. **Nat Rev Neurosci.** 8(5):355-367. 2007.

Urrutia O, MendizabaL JA, AlfonsoL, Soret B, Insausti K, Arana A. Adipose tissue modification through feeding strategies and their implication on adipogenesis and adipose tissue metabolism in ruminants. **International Journal of Molecular Sciences,** 21, 3183. 2020. <https://doi.org/10.3390/ijms21093183>.

USDA. 1997. United States standards for grades of carcass beef. US Dep. Agric. Available from: <http://www.ams.usda.gov/AMSv1.0/getfile?dDocName=STELDEV3002979>

Van Straten E, Bloks VW, Huijkman NCA, Baller JFW, Meer HV, Lutjohann D, Kuipers F, Plösch T. The liver X-receptor gene promoter is hypermethylated in a mouse model of prenatal protein restriction. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.** 298:R275–82. 2010.

Vucetic Z, Kimmel J, Totoki K, Hollenbeck E, Reyes TM. Maternal high-fat diet alters methylation and gene expression of dopamine and opioid-related genes. **Endocrinology**. 151:4756–64. 2010.

Wigler M, Levy D, Perucho M. The somatic replication of DNA methylation. **Cell**. 1981.

Wong CCY, Mill J, fernandes C. Drugs and addiction: An introduction to epigenetics. **Addiction**. 2011.

Yuferov V, Levran O, Proudnikov D, Nielsen DA, Kreek MJ. Search for genetic markers and functional variants involved in the development of opiate and cocaine addiction and treatment. **Ann N Y Acad Sci**. 1187:184-207. 2010.

Zhang N. Epigenetic modulation of DNA methylation by nutrition and its mechanisms in animals. **Anim Nutr**. 1(3):144–51. 2015.

Zhao, L.; Huang, Y.; Du, M.; Farm animals for studying muscle development and metabolism: dual purposes for animal production and human health. **Feature Article**, v. 9, p. 7, 2019

Zhu MJ, Du M, Hess BW, Means WJ, Nathanielsz PW, Ford SP. Maternal Nutrient Restriction Upregulates Growth Signaling Pathways in the Cotyledonary Artery of Cow Placentomes. **Placenta**. 2007.

2. CAPÍTULO 2 – Artículo Científico

EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO NA FASE DE CRIA SOBRE A EXPRESSÃO GÊNICA, PROCESSOS E VIAS RELACIONADAS À ADIPOGÊNESE E LIPOGÊNESE NO MÚSCULO *LONGISSIMUS THORACIS* AO DESMAME DE BOVINOS F1 ANGUS-NELORE

RESUMO - Diferentes estratégias têm sido utilizadas para aumentar a deposição de gordura intramuscular na carne produzida no Brasil, a partir, principalmente do Nelore (*Bos indicus*) e de seus cruzamentos, visando melhorar a qualidade do produto final e, dessa forma, atender mercados mais exigentes. Uma dessas estratégias é a suplementação na fase de cria por meio de *creep feeding*. Entretanto, são poucas as pesquisas que avaliaram o efeito do *creep feeding* sobre a expressão gênica no tecido muscular à desmama de bovinos Nelore e em seus cruzamentos com raças taurinas (*Bos taurus*). Assim, este estudo teve como objetivo identificar, a partir de análise do transcriptoma, genes diferencialmente expressos, processos biológicos e vias metabólicas relacionadas à adipogênese e lipogênese em biópsias musculares colhidas à desmama de bovinos cruzados submetidos à diferentes dietas entre o nascimento e os 210 dias de vida. Foram utilizados 48 bovinos cruzados F1 Angus-Nelore machos, não castrados, meio-irmãos, mantidos a partir dos 30 dias de idade até o desmame sob dois diferentes tratamentos (n = 24/tratamento): grupo 1 (G1) – sem suplementação em *creep feeding*; e G2 – com suplementação em *creep feeding*. Os animais foram desmamados aos 210 dias, e, em seguida, foram confinados por 180 dias em baias coletivas (três animais/baia) recebendo dieta contendo 12,6% de volumoso e 87,4% de concentrado a base de milho. À desmama foi realizada coleta de alíquotas do músculo *Longissimus thoracis* (LT) por meio de biópsia. Ao longo do abate foram coletadas amostras (bifes de contra-filé) do LT entre as 12^a e 13^a costelas da meia-carcaça esquerda, a partir das quais foram determinados: área de olho de lombo (AOL), espessura de gordura subcutânea (EGS), índice de marmorização (IMF), lipídeos totais/porcentagem de gordura (%G) e força de cisalhamento aos sete e 14 dias de maturação (SF7 e SF14). A partir das alíquotas do LT das biópsias foram analisadas diferenças na expressão gênica global entre os tratamentos (G1 vs G2 – 12 indivíduos/grupo) no momento da desmama por meio da técnica de sequenciamento do RNA mensageiro (RNA-Seq). Em relação à %G e IMF, os animais de G2 apresentaram valores maiores (4,95±0,20 vs 5,80±0,23; 321,50±13,65 vs 366,11±12,39, respectivamente) quando comparados com G1 (p<0,05). Foram identificados 947 genes diferencialmente expressos (DEGs) entre G1 e G2 à desmama, dos quais 443 foram regulados negativamente e 504 foram regulados positivamente no G2. As análises de enriquecimento funcional realizadas com os DEGs identificaram importantes genes, vias metabólicas (KEGG_PATHWAY) e processos biológicos (GOTERM_BP) relacionados à adipogênese e lipogênese (p<0,05), como: biossíntese de colesterol, sinalização de PPAR, metabolismo de ácidos graxos e biossíntese de ácidos graxos insaturados.

Palavras chave: desmama, expressão diferencial, adipogênese, qualidade de carne, *Bos indicus*, nutrigenômica

EFFECT OF COW-CALF SUPPLEMENTATION ON GENE EXPRESSION, PROCESSES AND PATHWAYS RELATED TO ADIPOGENESIS AND LIPOGENESIS IN *LONGISSIMUS THORACIS* AT WEANING IN F1 ANGUS-NELORE CATTLE

ABSTRACT - Different strategies have been used to increase the intramuscular fat in beef produced in Brazil, mainly from Nellore (*Bos indicus*) and its crossings, to improve the final product. There are few researches evaluating the effect of the creep feeding, a cow-calf supplementation system, on gene expression in muscle tissue at weaning of Nellore cattle and in their crosses with taurine breeds (*Bos taurus*). Thus, this study will aim to identify, from transcriptome analysis, differentially expressed genes, biological processes and metabolic pathways related to adipogenesis and lipogenesis in muscle biopsies collected at weaning from crossbred cattle submitted to different diets in the cow-calf phase. Forty-eight male Angus-Nellore crossbred steers, not castrated, half-sibs, kept from 30 days of age until weaning under two different treatments (n = 24/treatment): group 1 (G1) - no creep feeding; G2 - creep feeding, were used. The animals were weaned at 210 days, and then finished in feedlot for 180 days receiving a diet containing 12.6% roughage and 87.4% corn based concentrate. With the Longissimus thoracis (LT) muscle samples of the left side of the carcass, collected at slaughter, were determined the fat percentage/total lipids (%F), and the marbling index (MI) of all animals of the two groups. At weaning, aliquots of LT muscle were collected by biopsy and the differences in gene expression between treatments (G1 vs G2 - 12 individuals/group) were investigated by RNA-Seq. The animals of both groups showed significant differences ($p < 0.05$) for %F (4.95 ± 0.20 vs 5.80 ± 0.23) and MI (321.50 ± 13.65 vs 366.11 ± 12.39). The weights at the beginning of the experiment and at slaughter (390 days) did not differ. Nine hundred and forty-seven differentially expressed genes (DEGs) were identified ($\log_2$ foldChange 0.5; FDR 5%) among the groups at weaning, 504 of which were up-regulated and 443 down-regulated in the G2. Regarding %Fat and MI, G2 animals related higher values (4.95 ± 0.20 vs 5.80 ± 0.23 ; 321.50 ± 13.65 vs 366.11 ± 12.39 , respectively) when compared to G1 ($p < 0.05$). We identified 947 differentially expressed genes (DEGs) between G1 and G2, of which 443 were down-regulated and 504 were up-regulated in G2. Functional enrichment analyses performed with the DEGs identified important genes, metabolic pathways (KEGG_PATHWAY) and biological processes (GOTERM_BP) related to adipogenesis and lipogenesis ($p < 0.05$), such as: cholesterol biosynthesis, PPAR signaling, fatty acid metabolism and unsaturated fatty acid biosynthesis.

Keywords: weaning, differential expressed, adipogenics, meat quality, *Bos indicus*, nutrigenomics

2.1. Introdução

Algumas estratégias têm sido utilizadas em bovinos de corte para elevar a deposição de gordura intramuscular. A desmama precoce e a suplementação na fase de cria são manejos nutricionais que podem levar a adaptações metabólicas diferentes em relação aos animais que são desmamados de forma convencional (Scheffler et al., 2014). A abordagem conhecida como creep feeding consiste na utilização de suplementação alimentar na fase de cria (amamentação) com grãos ou forragem, a fim de obter indivíduos mais pesados ao desmame, encurtando o tempo de acabamento da carcaça para o abate, além de fornecer descanso para a matriz (Dantas et al., 2010; Stewart et al., 2017).

É bem conhecido que os animais podem responder a diferentes fatores ambientais e nutricionais exibindo plasticidade fenotípica como resultado de mudanças nos padrões de expressão gênica (Zhang, 2015). Assim, as características animais podem ser modificadas por modulações nutricionais, o que significa que as exposições dietéticas podem ter conseqüências para o crescimento e a saúde (McKay et al., 2011). Novas evidências estão constantemente surgindo de que alterações na expressão gênica e no fenótipo dos indivíduos, como resultado de estímulos nutricionais, podem ser devidas a fatores epigenéticos, incluindo a metilação do DNA (Farias et al., 2015; Farkas et al., 2015; Day et al., 2015). Estas modificações na expressão gênica podem ocorrer em *loci* específicos ou em uma escala genômica (Bogdarina et al., 2010; Vucetic et al., 2010; Dudley et al., 2011; Jousse et al., 2011; Altmann et al., 2012).

Em *Bos taurus*, foi identificado que a glicose é o melhor precursor para a síntese de ácidos graxos no tecido adiposo intramuscular e o único composto carbônico com maior concentração de seus carbonos no tecido adiposo intramuscular em comparação com o tecido subcutâneo e, além disso, foi observada também menor incorporação de glicose em animais pós puberes (Smith et al., 1984). Assim, a ingestão adequada de concentrado durante o período de lactação, especialmente rico em amido (grãos), favorece a proliferação e o crescimento de adipócitos. Isto se deve ao aumento do metabolismo da glicose, que pode levar ao aumento do marmoreio sem, contudo, aumentar a gordura nas vísceras, o que

contribui para a qualidade geral da carne e maior rendimento da carcaça (Baldassini et al., 2021). Além disso, Lopez et al. (2001) propuseram que níveis mais altos de proteína bruta na dieta aumentam a digestão e absorção intestinal do amido, e promovem a elevação do plasma de insulina e glicose, o que, conseqüentemente, aumenta a deposição da gordura intramuscular, favorecendo os precursores de ácidos graxos.

Nota-se no Brasil, a quase 20 anos o maior exportador mundial de carne bovina in natura (ABIEC, 2022), a crescente utilização de animais cruzados (*Bos taurus* × *Bos indicus*), sobretudo Angus × Nelore, para a produção de carne com mais maciez e maior quantidade de gordura intramuscular, buscando agregar valor ao produto final e atender demandas de mercados consumidores dispostos a pagar mais por qualidade. A deposição de gordura intramuscular na carne pode influenciar positivamente nos atributos sensoriais incluindo sabor, suculência e maciez (Hocquette et al., 2010). Do contrário, com menos gordura intramuscular (marmoreio), o que se observa em animais com predominância do genótipo *Bos indicus*, tem-se prejuízo sobre os aspectos sensoriais da carne. Isto ocorre porque à medida que se reduz a adipogênese do tecido intramuscular (marmoreio), estimula-se a fibrogênese e o aumento do conteúdo do tecido conjuntivo (Du et al., 2017). Contudo, os mecanismos moleculares que controlam o crescimento desses tecidos ainda não foram completamente estabelecidos.

Dada a falta de informação a respeito de alterações da expressão gênica em bezerros cruzados *Bos taurus* × *Bos indicus* submetidos à suplementação na fase de cria, este estudo teve como objetivo principal avaliar o efeito do creep feeding sobre a expressão gênica, processos biológicos e vias metabólicas relacionadas à adipogênese e lipogênese em biópsias do *músculo Longissimus thoracis* colhidas ao desmame em bovinos F1 (Angus × Nelore). A obtenção destas informações é de grande importância econômica para os sistemas de produção de bovinos que visam a manipulação da característica gordura entremeada e a obtenção de carne de melhor qualidade para alcançar seus objetivos, ou seja, mercados mais exigentes que pagam por qualidade.

2.2. Material e métodos

2.2.1. Animais

Foram utilizados 48 bovinos cruzados F1 Angus-Nelore, todos machos não castrados (inteiros) e filhos de um mesmo touro (meio irmãos) da raça Aberdeen Angus (*Bos taurus*).

A parte inicial do experimento a campo (fase de cria) foi conduzido em fazenda comercial, localizada no Estado de São Paulo, Brasil. Durante a maior parte da fase de cria (a partir dos 30 dias de idade até a desmama – aproximadamente 210 dias), estes animais foram submetidos a dois diferentes tratamentos, com 24 animais por tratamento: grupo 1 (G1/T1) – sem suplementação em creep feeding; G2/T2 – com suplementação em creep feeding. No sistema de cria do tipo creep feeding os animais foram mantidos com suas respectivas mães no mesmo piquete, porém com acesso exclusivo a suplemento correspondente à aproximadamente 1% do peso corporal. O suplemento que foi oferecido aos animais do grupo 2 (em creep feeding na fase de cria – 30 a 210 dias de vida) foi constituído na matéria seca (MS) de 22% de proteína bruta (PB) e 65% de nutrientes digestíveis totais (NDT), a base de milho moído (44,8%), farelo de soja (40,4%) e núcleo mineral (14,8%).

Após o desmame (média de 210 dias), os animais dos dois tratamentos foram levados ao confinamento experimental da Fazenda Lageado da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia-UNESP/Botucatu, onde permaneceram por aproximadamente 180 dias, alojados em baias coletivas cobertas (três animais/baia com 10m² por animal). Os dois grupos de animais receberam a mesma dieta contendo 12,6% de volumoso e 87,4% de concentrado a base de milho. A dieta foi formulada com software Ração de Lucro Máximo – RLM 3.3 (Lanna et al., 2011), utilizando o sistema NRC Tropicalizado ESALQ, e foi composta de milho, farelo de soja, feno de tifton, bagaço de cana-de-açúcar, uréia e suplemento vitamínico-mineral (Apêndice S1). Foi fornecida *ad libitum*, duas vezes ao dia, às 08h00 e 16h00.

Os animais foram pesados, após jejum de 16 horas, no início da fase de cria (peso inicial – PI), ao final da desmama (peso à desmama – PD) e ao término do período de confinamento (peso final – PF). A partir de PI e PD foi calculado o ganho

de peso médio diário 1 (GPMD1: do início da fase de cria à desmama) e a partir de PF e PD foi calculado o GPMD2 (da desmama até o final do confinamento).

2.2.2. Coleta de tecido à desmama, ao abate e análises de qualidade da carcaça

No momento da desmama (M1: 210 dias) foi realizada coleta de alíquotas do músculo *Longissimus thoracis* (LT), por meio de biópsia, de 12 animais sorteados de cada um dos dois tratamentos (n = 24). Para a realização da biópsia foi feita a tricotomização na região lombar e administrado um anestésico local via subcutânea. As biópsias foram realizadas na altura da 13ª costela. Após a higienização do local da biópsia, uma incisão de 1cm foi feita com bisturi, e uma agulha esterilizada de biópsia Bergstrom foi utilizada para obter 1g de tecido do músculo, que foi imediatamente armazenado em nitrogênio líquido e posteriormente em ultrafreezer a -80°C.

Após o período de confinamento, os 48 animais foram abatidos utilizando a técnica de concussão cerebral e secção da veia jugular. As carcaças foram identificadas, lavadas, divididas em duas metades, sendo estas pesadas individualmente para a obtenção do peso da carcaça quente (PCQ), e levadas à câmara fria, por aproximadamente 24 horas, à temperatura de 1°C.

Decorrido o resfriamento, as carcaças foram retiradas da câmara e pesadas. Após a pesagem, o músculo LT da meia carcaça-esquerda foi separado do restante da carcaça e antes de ser desossado foram avaliados, entre a 12ª e 13ª vertebra torácica, a espessura de gordura subcutânea (EGS) e a área de olho de lombo (AOL). Amostras do LT (bifes de contra-filé) entre as 12ª e 13ª costelas da meia-carcaça esquerda foram coletadas e utilizadas para a condução em laboratório de análises físico-químicas de qualidade.

2.2.3. Análises de qualidade da carne

As análises físico-químicas realizadas relacionadas à qualidade da carne dos 48 animais abatidos (24/tratamento) foram: índice de marmorização (MI), lipídeos

totais/porcentagem de gordura (IMF) e força de cisalhamento (FC). O MI foi determinado por avaliador único previamente treinado seguindo os padrões de referência da Brazil Beef Quality – <https://www.brazilbeefquality.com/>. Esses padrões são numerados de 1 a 11 e fornecem uma escala de pontos entre 100 e 1100 (adaptada da AUS-MEAT, 2018), sendo que quanto mais próximo de 1100 mais marmorizada é a carne, e quanto mais próxima de 100 menos marmorizada. A IMF foi determinada por meio do equipamento FoodScan Lab™ (Foss NIRSystems, Inc., EUA). Para a determinação da força de cisalhamento aos sete e 14 dias de maturação (FC7 e FC14) foi adotado o procedimento padronizado e proposto por Shackelford et al., (1999).

2.2.4. Análises estatísticas dos dados de peso, ganho de peso, carcaça e carne

Os dados relacionados à peso e ganho de peso e à características de carcaça e da carne – peso inicial (PI), peso à desmama (PD), ganho de peso médio diário entre PD e PI (GPMD1), peso final (PF), ganho de peso médio diário entre PF e PD (GPMD2), peso da carcaça quente (PCQ), área de olho de lombo (AOL), espessura de gordura subcutânea (EGS), índice de marmorização (IM), porcentagem de gordura (IMF) e força de cisalhamento (FC7 e FC14) – para as 48 amostras (n = 24/grupo) foram analisados quanto à presença de informações discrepantes, homogeneidade de variâncias e normalidade dos resíduos. Na sequência, os dados foram expressos por médias e seus respectivos erros padrão. Não foram necessárias transformações nas variáveis para providenciar uma aproximação da distribuição normal. As diferenças entre os dois tratamentos foram examinadas por análise da variância (ANOVA) e quando detectadas diferenças significativas, foram comparadas por Teste t.

2.2.5. Análises da expressão gênica diferencial

2.2.5.1. Extração do RNA e sequenciamento

Após a extração do RNA total, foram preparadas 24 bibliotecas genômicas, constituídas por 12 amostras de cada grupo/tratamento (G1 e G2) colhidas à desmama (M1). O RNA total das amostras foi extraído individualmente a partir de 100 mg do músculo LT utilizando TRIzol® (Life Technologies, EUA), de acordo com as instruções do fabricante, e analisado quanto à qualidade no Bioanalyzer 2100® (Agilent, EUA). A fim de garantir qualidade adequada do RNA total, o valor mínimo para a integridade adotado foi de sete ($RIM \geq 7$). A partir do RNA total foram purificados os RNA com cauda poli A por meio de oligo-dT beads.

As bibliotecas de cDNA, para cada amostra, foram preparadas e multiplexadas utilizando o TruSeq RNA Sample Preparation Kit (Illumina, EUA) a partir de 2 µg de RNA total, conforme o protocolo TruSeq RNA Sample Preparation kit v2 guide (Illumina, EUA). O Bioanalyzer 2100® (Agilent, EUA) foi utilizado para estimar o tamanho médio das bibliotecas e a PCR quantitativa (RT-qPCR), com o KAPA Library Quantification kit (KAPA Biosystems, EUA), foi utilizada para quantificá-las. A clusterização e o sequenciamento foram realizados em uma lane utilizando o HiSeq2500 kit v4 2x100pb (Illumina, EUA), a fim de produzir paired-end reads de 100 bp. Utilizou-se o sequenciador Illumina HiSeq 2500® (Illumina, EUA), no intuito de atingir-se uma cobertura mínima de 16 milhões de reads por amostra.

2.2.5.2. Mapeamento das sequencias no genoma de referência e identificação de genes diferencialmente expressos

Os dados de sequenciamento gerados pela plataforma HiSeq System Illumina foram convertidos ao formato FastQ e separados por bibliotecas (dados multiplexados) por meio do software Casava versão 1.8.2 (Illumina, EUA). O software FastQC v. 0.11.9 (Andrews, 2010; acessado em 02 de junho de 2022) foi utilizado para analisar a qualidade das leituras brutas (raw reads). A remoção dos adaptadores de sequenciamento e das sequências de baixa qualidade, foram realizadas por meio do programa fastp v.0.23.1 (Chen et al. 2018). Após esta etapa, a qualidade das reads foi reavaliada pela visualização gráfica conjunta de todas as saídas FastQC utilizando o programa MultiQC v.1.13 (Ewels et al., 2016) para confirmar a melhoria de qualidade. Na sequência, as reads foram mapeadas ao

genoma de referência bovino (*Bos taurus* – ARS-UCD1.3), disponível em: http://www.ensembl.org/Bos_taurus/Info/Index/, utilizando o programa STAR v. 2.7.20 (Dobin et al., 2013). O mapeamento foi realizado de forma independente para cada amostra, sendo que para cada biblioteca foi gerado um arquivo com extensão “.bam”, contendo o alinhamento dos fragmentos em relação ao genoma de referência. A contagem das features foi feita por meio do programa featurecounts v.2.0.3 (Liao, Smyth e Shi, 2014) e apenas leituras de sequências pareadas (paired-end reads: PE reads) mapeadas em local único do genoma (uniquely PE reads) e em cromossomos conhecidos foram utilizadas nas análises de expressão gênica diferencial.

As análises de expressão gênica diferencial foram realizadas entre os diferentes grupos/tratamentos dentro do momento/desmama (i.e., G1 vs G2 em M1). Inicialmente, por meio do pacote factextra (Kassambara e Mundt, 2020; acessado em 02 de junho de 2022) do software R (R Core Team, acessado em 02 de junho de 2022), realizou-se análise gráfica de componentes principais (PCA) com os dados de contagem de reads normalizadas em contagens por milhão (CPM) para agrupar/separar as amostras com base em padrões de expressão gênica, a fim de examinar o seu nível de similaridade/dissimilaridade entre os grupos. A identificação de genes diferencialmente expressos (DEGs) foi realizada pelo método implementado no pacote edgeR v.3.40.0 (Robinson, McCarthy e Smyth, 2010) do programa R (R Core Team, acessado em 02 de junho de 2022), para estimação de parâmetros por método de máxima verossimilhança utilizando modelos lineares generalizados assumindo-se distribuição binomial negativa dos dados de contagem. Para isso, foram utilizados os factors size pelo trimmed mean of M-values (TMM), realizada para cada par de amostras, e estimados os parâmetros de sobredispersão para cada gene pelo método de Cox-Reid (Robinson e Oshlack, 2010). A expressão de cada gene foi calculada como média de expressão de todas as amostras para cada grupo e apresentada como média da função logarítmica das CPM. O fold-change foi calculado como a função logarítmica da razão entre os CPM de G2 e G1 para cada gene. O p valor associado a diferença de expressão gênica entre grupos foi obtida a partir do teste de razão de verossimilhanças. O procedimento de Benjamini e Hochberg (1995) foi utilizado para o controle da taxa de falsas

descobertas (False Discovery Rate - FDR). Valores de log₂ foldChange de 0,5 e de significância ajustada para FDR < 0,05 foram utilizados para identificar os DEGs.

2.2.5.3. Análises funcionais dos genes diferencialmente expressos

A fim de entender o papel funcional dos genes identificados como DEGs entre grupos à desmama, listas dos genes up e down-regulated foram utilizadas em análises de over representation (ORA) em termos de ontologia de genes (GO terms: Processos Biológicos - BP) e vias metabólicas (KEGG Pathway Database) por meio da ferramenta online Database for Annotation, Visualization and Discovery Integrated (DAVID - <https://david.ncifcrf.gov/home.jsp>) v. 6.8 (Huang et al., 2007). Para que os BPs e pathways fossem considerados enriquecidos considerou-se o mínimo de três genes em cada processo ou via e *P-value* < 0,05.

A função Functional Annotation Clustering do DAVID e o pacote ClueGO (Bindea et al., 2009) do programa Cytoscape v. 3.9.1 foram utilizados na identificação de relações entre os processos e as vias enriquecidas. Em razão das relações que apresentam entre si e de suas relações em potencial com o teor de gordura intramuscular em bovinos, processos e vias foram destacados. Para identificar/visualizar a participação de DEGs em diferentes BPs e pathways enriquecidos e destacados, um HeatMap foi gerado a partir do pacote ComplexHeatMap (Gu, Eils e Schlesner, 2016) do programa R. Os pacotes ClueGO e CluePedia (Bindea, Galon e Mlecnik, 2013) do Cytoscape foram utilizados para gerar redes de DEGs compartilhados entre pathways e BP (FDR < 5%).

O programa online STRING (Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins) database (versão 11.5), o qual coleta e integra interações funcionais entre genes/proteínas para um grande número de organismos (Szkarczyk et al., 2016), foi utilizado para revelar e permitir a visualização gráfica de interações funcionais entre os DEGs pertencentes aos BP e pathways (KEGG) identificados como enriquecidos pelo DAVID e destacados em função das relações visualizadas no ClueGO e das relações em potencial com a adipogênese e lipogênese intramuscular. As PPIs com score de confiança > 0,4 (limite comumente utilizado) e FDR < 0,05 foram consideradas e apresentadas em gráfico. O algoritmo Markov

Cluster (MCL), um algoritmo de cluster não supervisionado para grafos baseado na simulação de fluxo estocástico, foi utilizado na clusterização dos genes (nós) utilizando o parâmetro de inflação 3 (default do STRING).

Nas análises realizadas por meio dos programas/pacotes DAVID, ClueGO/CluePedia e STRING, utilizou-se bases de dados de *Bos taurus*.

2.3. Resultados

2.3.1. Desempenho pré- e pós-desmama e qualidade da carne e da carcaça

Na Tabela 1 estão descritos os pesos dos animais nos diferentes momentos, ganhos de pesos, além de informações referentes às carcaças. Observou-se diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os grupos/tratamentos para PD e GPMD1 na fase de cria. Para PD, os animais do G1 (sem suplementação) foram os mais leves e os do G2 (creep feeding) foram os mais pesados. Para GPMD1 notou-se a mesma situação observada para PD, ou seja, $G2 > G1$. Em relação ao PF, observou-se que os animais dos G1 e G2 não diferiram. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos para PI, e PCQ.

Na Tabela 2 estão apresentados os valores relacionados à qualidade, os quais foram medidos ou estimados de forma objetiva ou subjetiva nas carcaças ou em amostras de carne dos animais por meio de análises laboratoriais. Não foram observadas diferenças significativas na comparação entre os grupos, ou seja, p foi maior que 5%, para área de olho de lombo e força de cisalhamento aos sete e 14 dias de maturação. Por outro lado, foram observadas diferenças significativas ($P < 0,05$) para espessura de gordura subcutânea (EGS), porcentagem de gordura (IMF), e índice de marmorização (MI). Para EGS, os animais do G2 (creep feeding) apresentaram na média maiores valores em relação aos animais dos G1 (sem suplementação). No que tange à IMF, uma medida objetiva para a avaliação da gordura entremeada, os animais do G2 apresentaram maiores teores/porcentagens em relação aos animais do G1. Em relação à MI, uma medida subjetiva para a

avaliação da gordura entremeada/marmoreio, os animais do G2 apresentaram escores maiores em relação aos do G1.

Tabela 1. Médias e respectivos erros-padrão para pesos dos animais no início da fase de cria, à desmama e ao final do período de confinamento, ganhos de peso médio diário na fase de cria e de terminação e rendimento da carcaça quente para os dois tratamentos.

	PI (kg)	PD (kg)	GPMD1 (kg)	PF (kg)	GPMD2 (kg)	PCQ (kg)
G1¹	61,29±2,41	228,92±5,07 ^b	0,93±0,02 ^b	484,64±5,96	1,36±0,02	269,22±8,23
G2¹	57,55±2,61	243,57±5,70 ^a	1,03±0,03 ^a	491,85±7,85	1,32±0,03	273,62±9,28

¹ G1: grupo1, G2: grupo 2, PI: peso inicial, PD: peso à desmama, GPMD1: ganho de peso médio diário entre PD e PI, PF: peso final, GPMD2: ganho de peso médio diário entre PF e PD, PCQ: peso da carcaça quente.

^{a, b} Letras distintas indicam médias diferentes ($P < 0,05$).

Tabela 2. Médias e respectivos erros-padrão para espessura de gordura subcutânea e área de olho de lombo da carcaça, porcentagem de gordura, índice de marmoreio e força de cisalhamento aos sete e 14 dias de maturação para os dois tratamentos.

	EGS (mm)	IMF (%)	MI	AOL (cm ²)	FC7 (kg)	FC14 (kg)
G1¹	10,61±0,42 ^b	4,95±0,20 ^b	321,50±13,65 ^b	67,94±1,16	4,52±0,11	3,45±0,11
G2¹	12,96±0,83 ^a	5,80±0,23 ^a	366,11±12,39 ^a	65,50±0,93	4,28±0,12	3,42±0,09

¹ G1: grupo1, G2: grupo 2, EGS: espessura de gordura subcutânea, IMF: porcentagem de gordura, MI: índice de marmoreio, AOL: área de olho de lombo, FC7: força de cisalhamento aos sete dias post-mortem, FC14: força de cisalhamento aos 14 dias post-mortem.

^{a, b} Letras distintas indicam médias diferentes ($P < 0,05$).

2.3.2. Análise da expressão gênica diferencial

2.3.2.1. Concentração e integridade do RNA total

A concentração média do RNA total obtido para as 24 amostras extraídas foi de 260,27ng/μL. As razões 260/280nm (ácido nucléico/proteína) e 260/230nm (ácido nucléico/contaminantes de extração) foram de aproximadamente 1,9, valores considerados como adequados. As contaminações por DNA genômico foram em média 1,04% (mínimo 0,73% e máximo 1,11%). O número de integridade do RNA (RIN) médio foi de 7,6 (mínimo 7,0 e máximo 8,0). Desta forma, foi confirmado que

as amostras estavam integras (todos os valores de RIN acima de 7) e livres de contaminantes.

2.3.2.2. Sequenciamento de RNA e mapeamento das reads no genoma de referência

No total foram obtidas 241,2 milhões de paired-end reads (PE reads: 2x100 pb), das quais 230,5 milhões foram mapeadas em local único do genoma (uniquely PE reads). A cobertura alcançada pelo sequenciamento foi de 37X (cobertura para todos os transcritos de todas as amostras). Em média, foram obtidas 9,6 milhões de uniquely PE reads por amostra, o que correspondeu a 95,56% do total de PE reads geradas.

As reads foram mapeadas em 27.607 genes (codificantes e não codificantes de proteínas). Entretanto, considerando a contagem maior ou igual a três (uniquely PE reads ≥ 3) em pelo menos 12 amostras, o número total de genes considerados expressos e, portanto, utilizados na análise de expressão gênica diferencial, foi de 16.604. O número de genes detectados por categoria funcional após a aplicação de filtro/treshold que exclui os genes que tiveram baixa contagem encontra-se apresentado na Figura 1. Depois dos genes codificadores de proteínas (15.672), foram sequenciados em maior número genes codificadores de fatores de transcrição (656) e genes não codificadores tais como lncRNA – long non coding RNA, snRNA – short nuclear RNA e miRNA – micro RNA, estes relacionados com o controle da expressão gênica e com o processamento de RNA mensageiros.

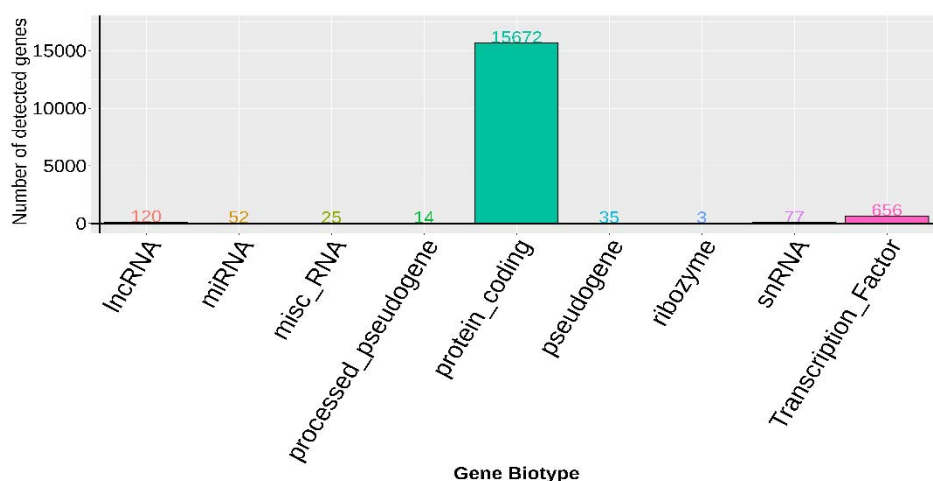


Figura 1. Número de genes detectados por categoria funcional no sequenciamento de RNA considerando a aplicação de filtro que exclui os genes que tiveram contagem relativa baixa para contagem de reads após normalização.

Nas Tabelas 3 e 4 podem ser visualizados, para as amostras coletadas dos animais dos dois grupos (sem creep e com creep – G1 e G2, respectivamente), o número e a porcentagem de transcritos/fragmentos alinhados ao genoma de referência bovino.

Tabela 3. Classificação fenotípica para porcentagem de gordura (IMF), número total de transcritos (PE reads) gerados e alinhados ao genoma de referência, e número total e porcentagem de PE reads alinhadas em local único no genoma (uniquely PE reads) para as amostras coletadas dos animais do G1 (sem creep) no M1 (à desmama).

Animal/ Amostra	Classificação fenotípica para IMF	n° total PE reads geradas	n° total PE reads mapeadas	n° uniquely PE reads	% uniquely PE reads
1/RC1	low	11.679.440	11.506.606	11.203.820	95,93
2/RC2	low	10.814.468	10.674.013	10.406.095	96,22
3/RC3	low	9.853.062	9.675.863	9.402.096	95,42
4/RC4	low	10.773.912	10.497.727	10.223.070	94,89
5/RC5	low	10.407.984	10.276.901	10.003.083	96,11
6/RC6	low	9.827.847	9.684.304	9.411.731	95,77
7/RC7	low	10.068.925	9.867.642	9.628.738	95,63
8/RC8	low	9.866.300	9.636.103	9.384.361	95,12
9/RC9	low	9.846.398	9.631.769	9.327.987	94,74
10/RC10	low	9.854.664	9.722.289	9.476.470	96,16
11/RC11	low	9.880.030	9.722.399	9.479.344	95,94
12/RC12	low	12.482.586	12.229.115	11.918.101	95,48
Média	low	10.446.301	10.260.394	9.988.741	95,62

Tabela 4. Classificação fenotípica para porcentagem de gordura (IMF), número total de transcritos (PE reads) gerados e alinhados ao genoma de referência, e número total e porcentagem de PE reads alinhadas em local único no genoma (uniquely PE reads) para as amostras coletadas dos animais do G2 (com creep) no M1 (à desmama).

Animal/ Amostra	Classificação fenotípica para IMF	n° total PE reads geradas	n° total PE reads mapeadas	n° uniquely PE reads	% uniquely PE reads
13/RC13	high	9.479.645	9.250.146	9.033.774	95,30
14/RC14	high	10.640.508	10.341.889	10.068.523	94,62
15/RC15	high	9.553.313	9.373.266	9.141.017	95,68
16/RC16	high	9.333.592	9.207.412	8.986.543	96,28
17/RC17	high	9.129.520	9.022.713	8.783.636	96,21
18/RC18	high	10.213.502	10.046.519	9.797.829	95,93
19/RC19	high	10.152.415	10.000.483	9.757.874	96,11
20/RC20	high	10.134.139	9.981.276	9.736.555	96,08
21/RC21	high	9.651.481	9.260.150	9.018.951	93,45
22/RC22	high	8.606.966	8.434.895	8.233.201	95,66
23/RC23	high	9.538.157	9.359.896	9.132.297	95,74
24/RC24	high	9.435.252	9.215.591	8.995.317	95,34
Média	high	9.655.708	9.457.853	9.223.793	95,53

Na Figura 2 pode ser observado nos boxplots dos valores das contagens de reads normalizadas pelo fator de tamanho (size fator) que a distribuição dos quartis foi consistente entre as amostras entre grupos, o que indica a boa qualidade dos dados gerados pelo sequenciamento.

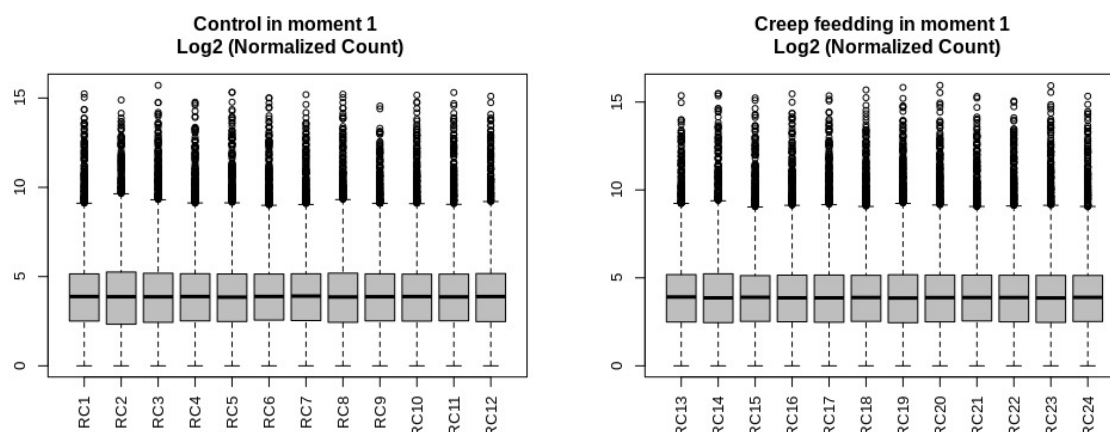


Figura 2. Boxplot do log2 da contagem de reads normalizada pelo size fator por amostra dos grupos (sem creep/control e com creep – G1 e G2, respectivamente).

Ainda com a intensão de avaliar a qualidade do sequenciamento, os perfis de expressão de 13 genes constitutivos (*ACTB*, *B2M*, *GAPDH*, *GUSB*, *HMBS*, *HPRT1*, *PGK1*, *PPIA*, *RPL13A*, *RPL0*, *SDHA*, *TBP* e *TFRC*) foram analisados e estes apresentaram padrão de expressão similar entre os grupos experimentais (Figura 3).

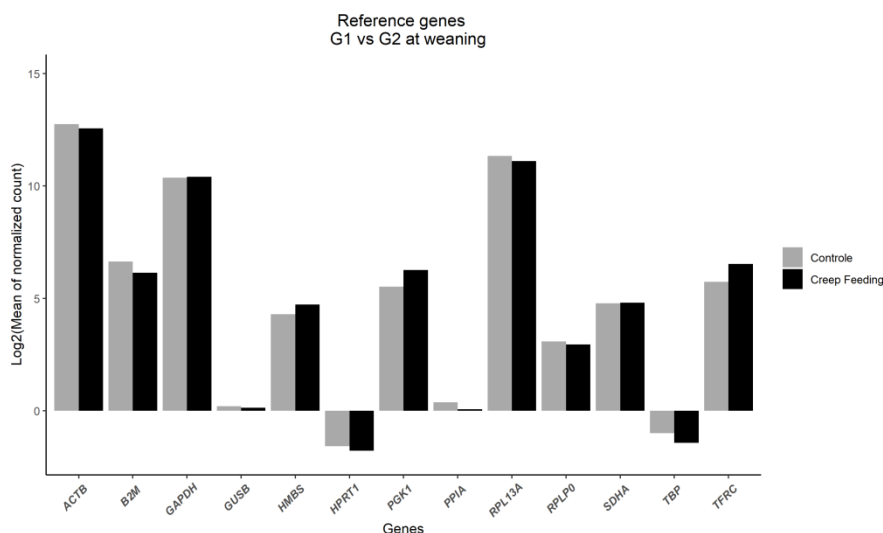


Figura 3. Perfil de expressão dos genes de referência nos grupos (sem creep/control e com creep – G1 e G2, respectivamente).

A PCA mostrou que os dois principais componentes (PCs) explicaram mais de 20% da variação entre amostras (Figura 4). Adicionalmente, observou-se a formação de grupos claramente distintos de amostras no momento do abate (T1M1, T2M1), indicando que houve evidente diferença na expressão dos genes entre os tratamentos. Este fato ilustra o efeito da suplementação na fase de cria, o creep feeding, sobre a expressão gênica à desmama.

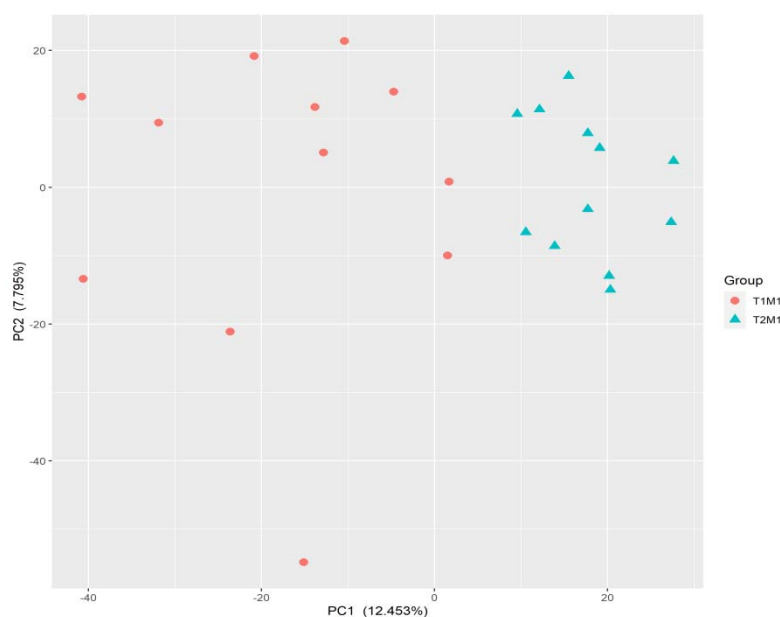


Figura 4. Análise gráfica de componentes principais (PCA) realizada com base nos dados de contagem normalizada de expressão gênica para amostras coletadas à desmama (M1) nos diferentes grupos experimentais (sem creep feeding – T1, com creep feeding – T2).

2.3.3. Identificação de genes diferencialmente expressos

A partir das alíquotas/amostras do músculo LT provenientes das biópsias, foram analisadas as diferenças na expressão gênica global entre os diferentes grupos (G1 e G2) no momento da desmama (M1). Novecentos e quarenta e sete DEGs foram identificados ($\log_2(\text{FC}) < -0,5$ ou $> 0,5$; FDR 5%) entre os grupos à desmama (M1), dos quais 443 foram regulados negativamente (down-regulated) e 504 foram regulados positivamente no G2 (fase de cria com creep feeding).

A Figura 5 mostra gráfico do tipo Volcano plot indicando genes diferencialmente expressos para $G1 \times G2$ no M1. Os top 30 DEGs para o contraste, considerando o valor de p ajustado (FDR) $< 0,05$, encontra-se apresentado na Tabela 5. Os dados com a anotação dos genes diferencialmente expressos, com o $\log_2$ foldChange, o valor de p , e o valor de p ajustado dos genes down e up-regulated para o contraste entre grupos no momento da desmama pode ser encontrada em arquivo suplementar (Apêndice S2).

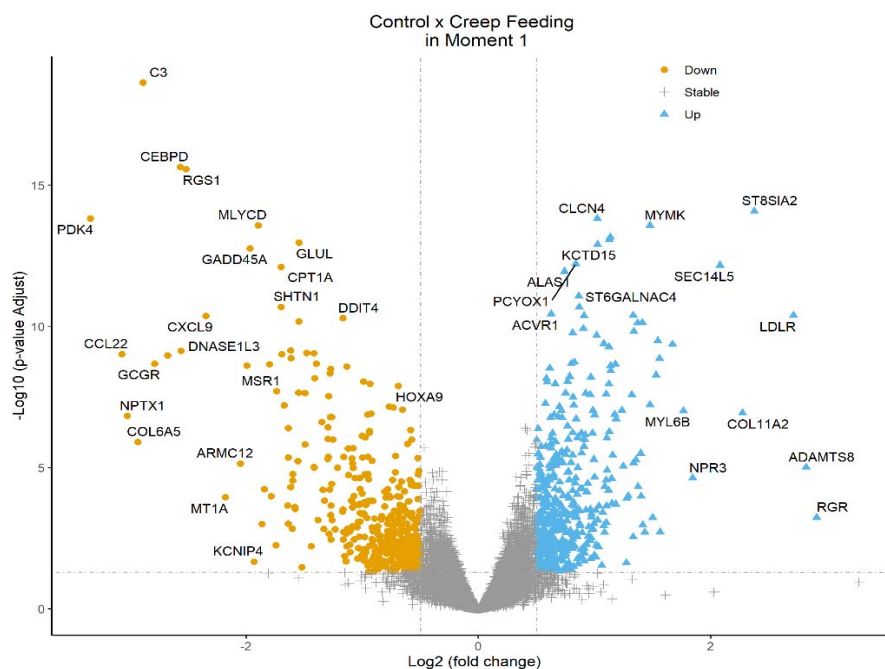


Figura 5. Volcano plot do log2 foldChange (eixo x) versus -log10 p valor (FDR, eixo y), indicando DEGs pelo método edgeR (down-regulated: log2 foldChange < -0,5 e FDR < 0,05 e up-regulated: log2 foldChange > 0,5 e FDR < 0,05) entre os grupos (G1 – control x G2 – creep feeding) à desmama (momento 1: M1).

Gene ID ensembl	Gene symbol	Regulated ¹	log2 FC ²	FDR ³
ENSBTAG00000017280	C3	Down	-2,88	2,35E-19
ENSBTAG00000046307	CEBPD	Down	-2,56	2,31E-16
ENSBTAG00000021672	RGS1	Down	-2,51	2,70E-16
ENSBTAG00000048501	ST8SIA2	Up	2,37	8,32E-15
ENSBTAG00000011121	CLCN4	Up	1,02	1,52E-14
ENSBTAG00000014069	PDK4	Down	-3,34	1,52E-14
ENSBTAG00000004248	MLYCD	Down	-1,89	2,63E-14
ENSBTAG00000013242	MYMK	Up	1,47	2,67E-14
ENSBTAG00000002834	CCDC69	Up	1,13	6,93E-14
ENSBTAG00000022989	FAM174B	Up	1,12	8,62E-14
ENSBTAG00000013631	GLUL	Down	-1,54	1,08E-13
ENSBTAG00000017956	KCTD15	Up	1,02	1,27E-13
ENSBTAG00000013860	GADD45A	Down	-1,96	1,75E-13
ENSBTAG00000002783	PCYOX1	Up	0,83	6,15E-13
ENSBTAG00000007890	SEC14L5	Up	2,07	6,85E-13
ENSBTAG00000021999	CPT1A	Down	-1,70	7,95E-13
ENSBTAG00000004118	ALAS1	Up	0,74	1,13E-12

ENSBTAG000000046548	<i>ST6GALNAC4</i>	Up	0,86	8,42E-12
ENSBTAG000000007578	<i>SHTN1</i>	Down	-1,69	2,05E-11
ENSBTAG000000050158	-----	Up	0,86	2,05E-11
ENSBTAG000000011909	<i>ACVR1</i>	Up	0,62	3,64E-11
ENSBTAG000000012314	<i>LDLR</i>	Up	2,71	4,10E-11
ENSBTAG000000015942	<i>DNAJA4</i>	Up	1,33	4,11E-11
ENSBTAG000000014265	<i>SREBF2</i>	Up	0,90	4,15E-11
ENSBTAG000000050852	<i>CXCL9</i>	Down	-2,34	4,23E-11
ENSBTAG000000000163	<i>DDIT4</i>	Down	-1,16	5,15E-11
ENSBTAG000000011437	-----	Down	-1,54	6,69E-11
ENSBTAG000000016819	<i>FABP3</i>	Up	1,41	7,36E-11
ENSBTAG000000048728	-----	Up	1,36	7,55E-11
ENSBTAG000000017280	<i>PMEPA1</i>	Up	0,90	1,19E-10

Tabela 5. Top 30 genes identificados como diferencialmente expressos (DEGs) para o contraste entre os grupos 1 e 2 (G1 × G2: sem creep versus com creep) no momento 1 (M1: à desmama).

¹ Down-regulated ou up-regulated no G2; ² log2 foldChange; ³ *P* ajustado (FDR) obtido para o edgeR, utilizado para o ranqueamento dos GDE apresentados na tabela.

2.3.4. Análise de enriquecimento funcional dos genes diferencialmente expressos

Para os genes up-regulated em G2 à desmama (*n* = 504), a análise de over representation (ORA) identificou 21 vias metabólicas KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) enriquecidas (valor de *P* < 0,05) (Apêndice S3). Dentre as identificadas, cinco foram destacadas em função das relações que apresentam entre si (identificadas no DAVID e no ClueGO) e de suas relações em potencial com a proliferação de células adiposas/adipogênese e a síntese e degradação de gordura intramuscular (lipólise/lipogênese) em bovinos: *PPAR signaling pathway* (bta03320); *Steroid biosynthesis* (bta00100); *Biosynthesis of unsaturated fatty acids* (bta01040); *Apelin signaling pathway* (bta04371) e *Fatty acid metabolism* (bta01212). Os DEGs up-regulated integrantes das vias enriquecidas e informações complementares estão disponibilizadas na Tabela 6. Em relação aos GO terms, foram identificados 34 processos biológicos (Biological Process – BP) enriquecidos (*P* < 0,05) (Apêndice S4), dos quais quatro foram destacados em razão das relações que apresentam entre si e de suas relações em potencial com o teor de gordura intramuscular em

bovinos: *Cholesterol biosynthetic process* (GO:0006695); *Unsaturated fatty acid biosynthetic process* (GO:0006636); *Sterol biosynthetic process* (GO:0016126) e *Cellular response to insulin stimulus* (GO:0032869). Os DEGs up-regulated relacionados a esses BP podem ser encontrados na Tabela 7.

Considerando os genes down-regulated no G2 à desmama ($n = 443$), identificou-se 46 vias (pathways) enriquecidas ($P < 0,05$) (Apêndice S5), das quais três foram destacadas pelas razões mencionadas anteriormente: bta04152: *AMPK signaling pathway*; bta04922: *Glucagon signaling pathway* e bta03320: *PPAR signaling pathway*. Os DEGs down-regulated participantes dessas vias e informações complementares são encontradas na Tabela 6. Em relação aos GO terms, foram identificados 52 BPs enriquecidos ($P < 0,05$) (Apêndice S6), dos quais três receberam destaque conforme as razões já mencionadas: *Positive regulation of lipid storage* (GO:0010884); *Fatty acid metabolic process* (GO:0006631) e *negative regulation of glycolytic process* (GO:0045820). Os DEGs down-regulated relacionados a esses processos estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 6. Vias metabólicas enriquecidas ($p < 0,05$) e destacadas na análise de over representation (ORA) dos genes diferencialmente expressos (DEGs – up e down-regulated) identificados no G2/tratamento para o contraste G1 × G2 à desmama.

Termo (KEGG)	Up/Down	Nº de genes	P-value	Genes
<i>PPAR signaling pathway</i>	Up	9	5,75E-4	<i>FADS2</i> , <i>FABP3</i> , <i>SLC27A1</i> , <i>SCD</i> , <i>SCD5</i> , <i>AQP7</i> , <i>DBI</i> , <i>PPARA</i> , <i>RXRG</i>
<i>Steroid biosynthesis</i>	Up	5	9,07E-4	<i>SQLE</i> , <i>EBP</i> , <i>CYP51A1</i> , <i>DHCR24</i> , <i>LSS</i>
<i>Biosynthesis of unsaturated fatty acids</i>	Up	4	0,029	<i>FADS2</i> , <i>SCD</i> , <i>SCD5</i> , <i>FADS1</i>
<i>Apelin signaling pathway</i>	Up	8	0,039	<i>PRKAB2</i> , <i>SMAD3</i> , <i>PRKAA2</i> , <i>CCND1</i> , <i>MYL2</i> , <i>MYL3</i> , <i>APLNR</i> , <i>CALM3</i>
<i>Fatty acid metabolism</i>	Up	5	0,041	<i>FADS2</i> , <i>SCD</i> , <i>FASN</i> , <i>SCD5</i> , <i>FADS1</i>

<i>AMPK signaling pathway</i>	<i>Down</i>	8	0,023	<i>PFKFB4, PFKFB3, MLYCD, FOXO1</i>	<i>CPT1A, EIF4EBP1, CPT1B, FBP1,</i>
<i>Glucagon signaling pathway</i>	<i>Down</i>	7	0,031	<i>CPT1A, CPT1B, FOXO1</i>	<i>GCGR, SIK1, FBP1, PLCB2,</i>
<i>PPAR signaling pathway</i>	<i>Down</i>	6	0,044	<i>CPT1A, CPT1B,</i>	<i>APOA1, ME3, ANGPTL4, PLIN5</i>

Tabela 7. Processos biológicos enriquecidos ($P < 0,05$) e destacados na análise de over representation (ORA) dos genes diferencialmente expressos (DEGs – up e down-regulated) identificados no G2/tratamento para o contraste G1 × G2 à desmama.

Termo (GO_BP)	Up/Down	Nº de genes	P-value	Genes
<i>Cholesterol biosynthetic process</i>	<i>Up</i>	5	0,002	<i>EBP, INSIG1, CYP51A1, DHCR24, LSS</i>
<i>Unsaturated fatty acid biosynthetic process</i>	<i>Up</i>	4	0,003	<i>FADS2, SCD, SCD5, FADS1</i>
<i>Sterol biosynthetic process</i>	<i>Up</i>	3	0,021	<i>SQLE, EBP, INSIG1</i>
<i>Cellular response to insulin stimulus</i>	<i>Up</i>	5	0,032	<i>GOT1, INSIG1, INHBB, LPIN2, HDAC9</i>
<i>Positive regulation of lipid storage</i>	<i>Down</i>	4	7,38E-4	<i>C3, IKBKE, FAM71F2, PLIN5</i>
<i>Fatty acid metabolic process</i>	<i>Down</i>	6	0,005	<i>C3, CPT1A, ACOT7, UCP3, HACL1, CPT1B</i>
<i>Negative regulation of glycolytic process</i>	<i>Down</i>	3	0,022	<i>DDIT4, NUPR1, FBP1</i>

Na Figura 6 é apresentado HeatMap mostrando a relação entre cada um dos 52 DEGs up ou down-regulated identificados em G2 à desmama e os 14 processos biológicos e vias metabólicas enriquecidos na análise de over representation e destacados em razão das relações que apresentam entre si e de suas relações em

potencial com o teor de gordura intramuscular em bovinos. Por meio desta abordagem, observa-se a participação dos DEGs em um ou mais processos ou vias, assim como a magnitude das diferenças de expressão gênica entre os tratamentos.

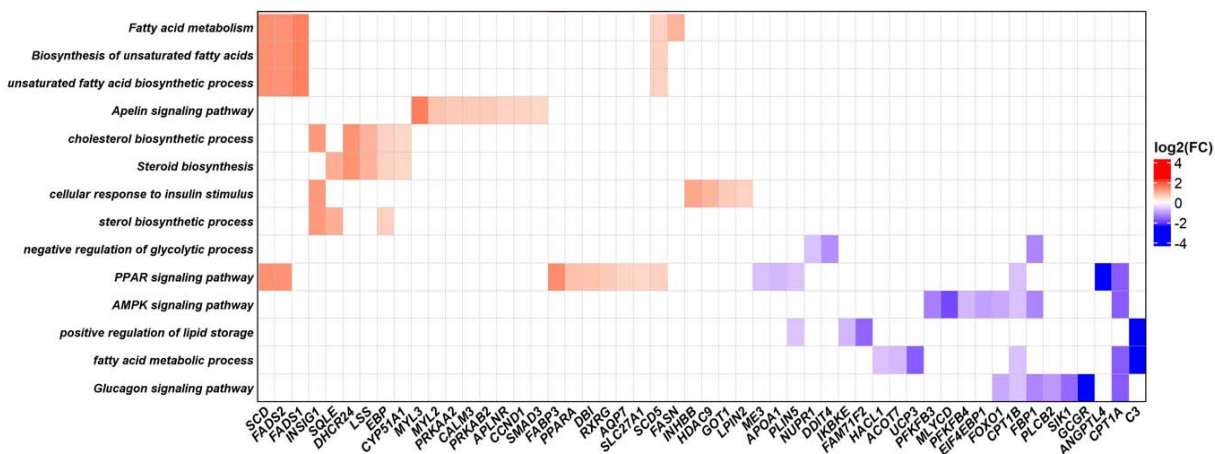


Figura 6. Relação entre os DEGs up ou down-regulated identificados no G2 no M1 (eixo x) e os BP e pathways enriquecidos e destacados em razão das relações que apresentam entre si e de suas relações em potencial com o teor de gordura intramuscular em bovinos (eixo y). Ao lado direito da figura encontra-se a escala de cores indicativa do log2 foldChange.

Redes contendo processos biológicos (GO_BP) e pathways (KEGG) compartilhados entre DEGs up e down-regulated no grupo 2 à desmama e destacados em razão das análises de over representation e da potencial relação com gordura intramuscular/marmoreio em *Bos taurus* são apresentadas nas Figuras 7 e 8, respectivamente.

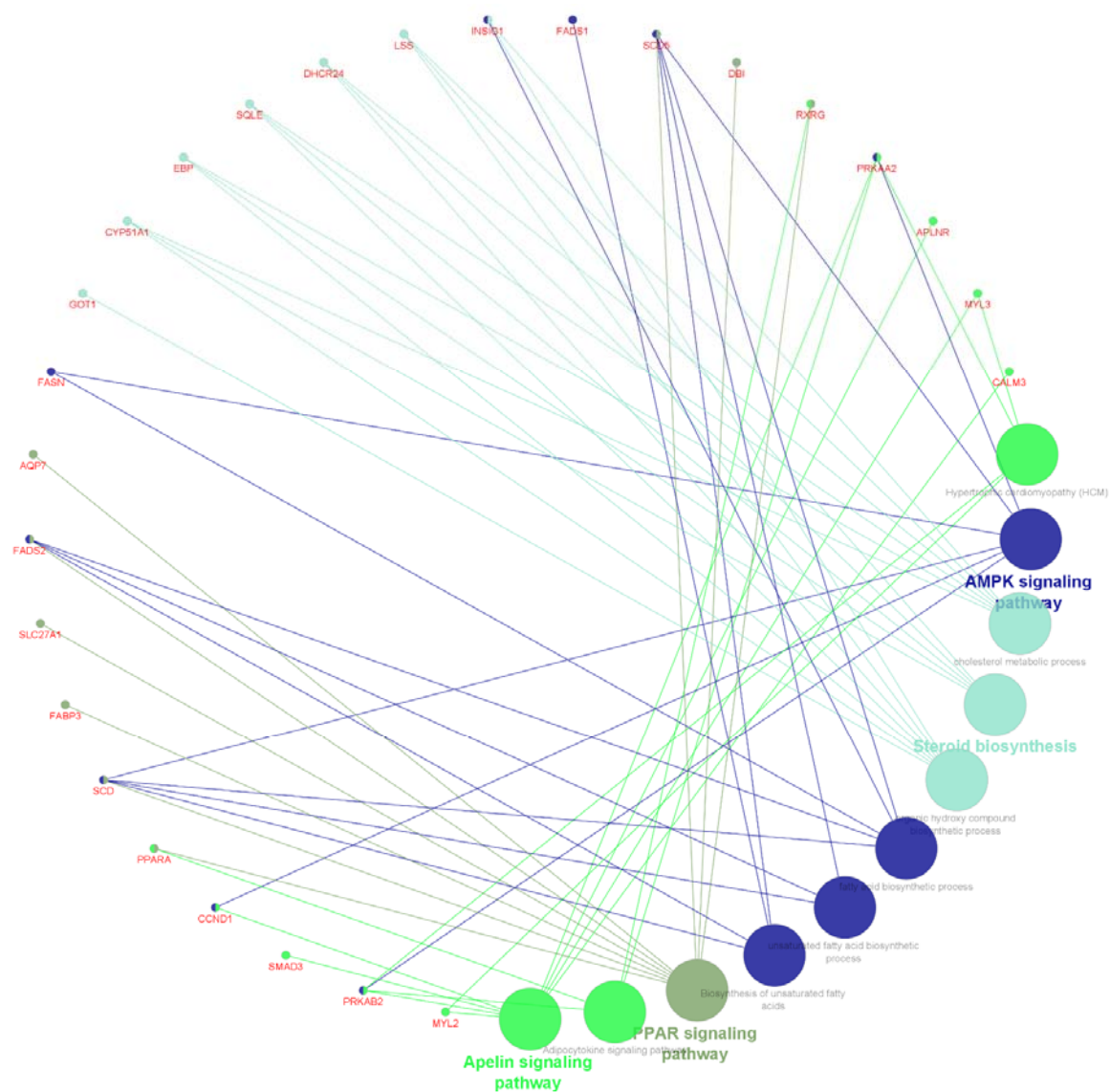


Figura 7. Rede circular contendo processos biológicos (BP) e pathways (KEGG) compartilhados entre DEGs up-regulated no G2 à desmama e destacados em razão das análises de over representation e da potencial relação com a gordura intramuscular em bovinos.



Figura 8. Rede circular contendo processos biológicos (BP) e pathways (KEGG) compartilhados entre DEGs down-regulated no G2 à desmama e destacados em razão das análises de over representation e da potencial relação com a gordura intramuscular em bovinos.

Na Figura 9 encontra-se apresentada a rede de interação proteína-proteína (PPI) dos 29 DEGs up-regulated no G2, pertencentes aos processos biológicos (GO_BP) e vias metabólicas (KEGG) identificados como enriquecidos e destacados no contraste G1 × G2 à desmama em função das relações que apresentam entre si e das suas relações em potencial com a adipogênese e lipogênese intramuscular. Foram identificadas 69 arestas (interações significativas) e seis clusters constituídos

de oito a dois genes. Os clusters vermelho e amarelo foram os maiores com oito e cinco genes, respectivamente. Três clusters (verde escuro, azul claro e azul escuro) apresentaram apenas dois genes. O coeficiente médio de clusterização encontrado foi de 0,512. Seis DEGs mostraram-se desconectados da rede.

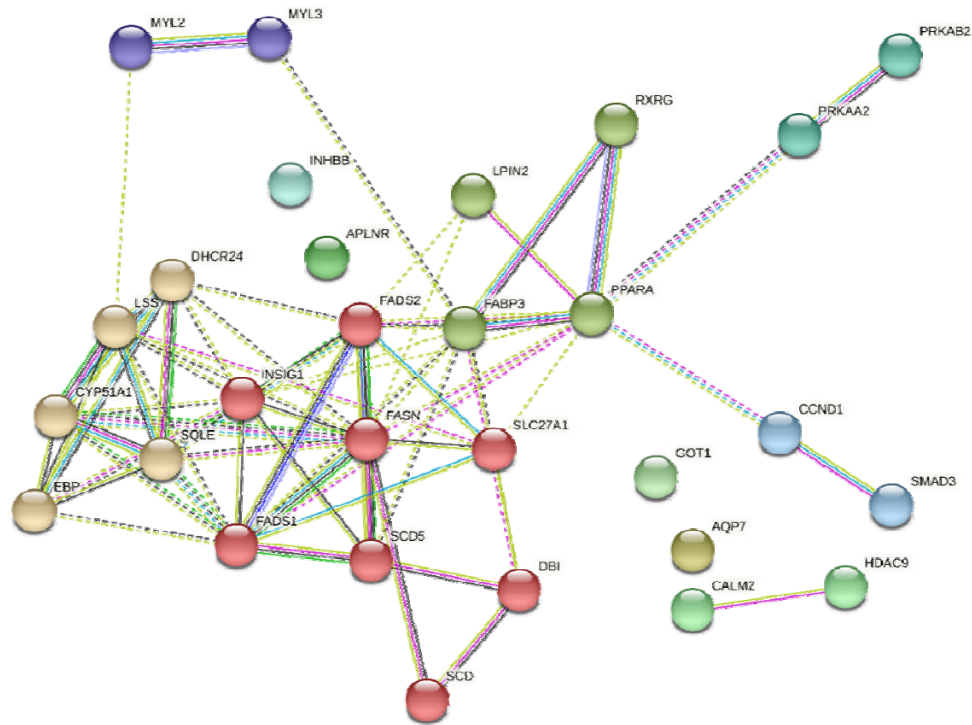


Figura 9. Rede PPI dos DEGs up-regulated no G2 pertencentes aos BP e pathways (KEGG) identificados como enriquecidos e destacados no contraste G1 $\times$ G2 no M1. Tipo de interação (cor da aresta) entre os nós (DEGs): verde claro – textmining; verde escuro – neighborhood; azul claro – curated databases; azul escuro – co-occurrence; rosa – experiments; lilás – protein homology; preto – co-expression. O número maior de aresta indica uma maior evidência/força de interação entre dois nós. Os nós que compõem os clusters formados (unidos por arestas pontilhadas) são ilustrados com cores diferentes.

Rede de interação proteína-proteína (PPI) dos 23 DEGs down-regulated no G2, pertencentes aos processos biológicos (GO_BP) e vias metabólicas (KEGG) identificados como enriquecidos e destacados no contraste G1 × G2 à desmama em função das relações que apresentam entre si e das suas relações em potencial com a adipogênese e lipogênese intramuscular, encontra-se apresentada na Figura 10. Foram identificadas 23 arestas (interações significativas) e quatro cluster

constituídos de oito a dois genes. Os clusters vermelho, amarelo e verde escuro foram os maiores com oito, três e três genes, respectivamente. Um dos clusters (azul claro) apresentou apenas dois genes. O coeficiente médio de clusterização encontrado foi de 0,467. Sete DEGs mostraram-se desconectados da rede.

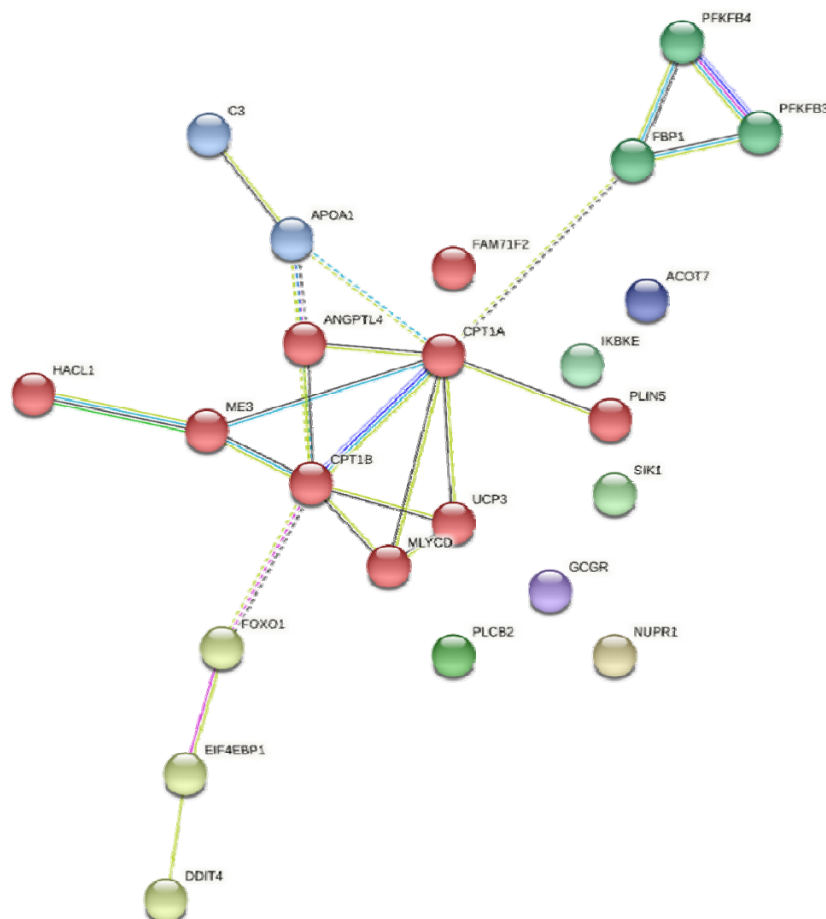


Figura 10. Rede PPI dos DEGs down-regulated no G2 pertencentes aos BP e pathways (KEGG) identificados como enriquecidos e destacados no contraste G1 × G2 no M1. Tipo de interação (cor da aresta) entre os nós (DEGs): verde claro – textmining; verde escuro – neighborhood; azul claro – curated databases; azul escuro – co-occurrence; rosa – experiments; lilás – protein homology; preto – co-expression. O número maior de arestas indica uma maior evidência/força de interação entre dois nós. Os nós que compõem os clusters formados (unidos por arestas pontilhadas) são ilustrados com cores diferentes.

2.4. Discussão

Em sistemas de criação tropical, a produção de leite após o terceiro mês de lactação em vacas Nelore, que são a base do rebanho brasileiro, não atende as exigências do bezerro para que o seu potencial de crescimento seja expresso (Costa e Silva et al., 2015). Em crias F1 Angus × Nelore supõe-se que esse tempo seja ainda menor. Portanto, a obtenção de nutrientes para atender as demandas de crescimento durante a fase de aleitamento depende cada vez mais das forrageiras consumidas pelo animal. Um fato importante nos sistemas de cria a pasto no Brasil, é que além do declínio na curva de lactação das vacas, as pastagens apresentam uma diminuição em massa e valor nutritivo devido à sazonalidade, enquanto as exigências nutricionais do bezerro aumentam com a progressão do crescimento (Fonseca et al., 2012). Em vista disso, o creep feeding é uma estratégia alimentar usada para atender o déficit de nutrientes do leite e da forragem, além de estimular um maior desenvolvimento muscular do animal, o que reflete em menor tempo de abate e melhoria na qualidade da carcaça (Carvalho et al., 2019). No entanto, devido a questões associadas ao fornecimento do suplemento, ofertas elevadas podem afetar a digestão da fibra do pasto, com consequências negativas na eficiência alimentar (Cremin et al., 1991; Faulkner et al., 1994) e desempenho do bezerro (Lopes et al., 2017). Esse fato não foi observado no presente estudo, ao contrário, bezerros que receberam 1% do peso corporal em suplemento, apresentaram um ganho de peso diário adicional aproximado de 100 g e um total de 14,6 kg a mais na desmama comparado com os animais não suplementados. No entanto, em metanálise realizada por Carvalho et al., (2019), encontrou-se que para bezerros machos suplementados entre os 3 a 8 meses de idade, o ganho de peso diário adicional foi ao redor de 200 g e o ganho total à desmama foi de 30 kg quando comparado aos animais não suplementados. No presente trabalho não foi observada uma resposta a longo prazo da suplementação no período de aleitamento sobre o desempenho dos animais durante o período de terminação (PF, GPMD2 e RCQ; Tabela 1). Isto sugere que a não diferença na eficiência dos animais durante o período pós-desmama pode estar relacionada à composição de ganho (Asher et al., 2018), ou seja, um aumento precoce na taxa de deposição de gordura pode reduzir a taxa de deposição de tecido magro (Gerrits et al., 1997) e, portanto, o ganho de peso em fases subsequentes pode ser moderado. Similarmente, bezerros que foram

suplementados durante a fase de aleitamento, apresentaram maior grau de acabamento na carcaça (EGS) e maior deposição de gordura na carne, sem apresentar diferenças no ganho de peso (Tabela 2).

Por meio das análises de enriquecimento funcional dos DEGs, um subconjunto de genes considerado de maior relevância foi destacado. Em relação aos up-regulated no G2 (com creep) tem-se: *SCD*, *DBI*, *SCD5*, *INSG1*, *FADS1*, *FASN*, *SLC27A1*, *FABP3*, *FADS2*, *PPARA*, *LIPIN2*, *RXRG*, *PRKAA2*, *PRKAB2*, *EBP*, *SQLE*, *CYP51A1*, *LSS* e *DHCR24*. Tomando-se os regulados negativamente (down-regulated) no grupo 2, foram destacados: *ME3*, *APOA1*, *PLIN5*, *HACL1*, *UCP3*, *PFKFB3*, *MLYCD*, *PFKFB4*, *FOXO1*, *CPT1B*, *CPT1A*, *FABP1*, *ANGPTL4* e *C3*. Supõe-se que, ao menos em parte, alterações nos padrões de expressão gênica observados no presente estudo decorram de modificações no padrão de metilação do DNA, o que deverá ser confirmado em pesquisas em andamento que serão publicadas em breve.

A gordura intramuscular é uma característica desejável em alguns nichos de mercado pelo efeito positivo sobre o sabor, suculência e a maior percepção de maciez na carne (Hunt et al., 2014). Embora esta característica de qualidade seja atribuída a uma intensa proliferação celular durante a fase fetal, há um período da vida pós-natal nos primeiros 250 dias conhecido como “janela de marmoreio”, em que uma dieta rica em grãos pode recrutar especificamente os adipócitos intramusculares (hiperplasia de adipócitos), proporcionando os locais para a deposição de gordura durante a terminação (Du et al., 2013). Na terminação, a deposição de marmoreio na carne depende de um balanço entre a síntese e absorção de ácidos graxos, e a degradação destes por β -oxidação (Dong et al., 2014), controlado pela regulação gênica (De Jager et al., 2013).

Pesquisas indicaram que a via de sinalização PPAR é importante na regulação da diferenciação celular, balanço energético e metabolismo lipídico (Gross et al., 2017; Chen et al., 2022). Assim, na lipogênese, a ativação da via de sinalização PPAR regula positivamente a expressão de *FABP*, *FASN* e *SCD* (Brown e Plutzky, 2007; Ranwala e Lazar, 2004), sendo estes dois últimos genes importantes na síntese *de novo* de ácidos graxos (Ladeira et al., 2016), os quais foram regulados positivamente nos animais suplementados via creep feeding na

fase de cria do presente estudo. Adicionalmente, Ward et al.,(2010) relataram que um aumento na deposição de gordura de marmoreio na carne está associado além da regulação positiva de *FASN*, à expressão das enzimas Δ -6 e Δ -5 dessaturases, as quais são reguladas por *PPARA* (Nakamura e Nara, 2002). Portanto, isto confirma que *PPARA* também atua na lipogênese em músculo esquelético (Bionaz et al., 2013). As enzimas Δ -5 e Δ -6 dessaturases codificadas pelos genes *FADS1* e *FADS2*, respectivamente, são um grupo da família de proteínas ácido graxo dessaturase, cruciais na catalização da primeira reação de dessaturação para a formação endógena de ácidos graxos poli-insaturados a partir de ácidos graxos essenciais (linoleico e linolênico) consumidos na dieta (Ibeagha-Awemu et al., 2014). Os ácidos linoleico e linolênico, ambos ácidos graxos insaturados encontrados em oleaginosas como a soja (Ladeira et al., 2020), embora possam sofrer uma alta biohidrogenação ruminal, parte pode escapar para o duodeno e ser absorvida (Duckett e Gillis, 2010). No presente estudo, é estimado um consumo de aproximadamente 375 g de farelo de soja por dia em animais suplementados com 1% do peso corporal. Portanto, é provável que uma parte de ácidos graxos insaturados consumidos no suplemento atingiram o músculo esquelético o que pode ter regulado positivamente *FADS1* e *FADS2*.

Apesar de a suplementação dos bezerros durante o período de aleitamento ter tido efeitos positivos sobre a via de sinalização PPAR no metabolismo lipídico, por outro lado, uma regulação negativa desta via pode regular negativamente os genes *APOA1* e *ANGPTL4* (Schroyen et al., 2021). O gene *APOA1* codifica a proteína estrutural e funcional da lipoproteína de alta densidade (HDL) e promove o fluxo reverso de colesterol dos tecidos para excreção no fígado (Mangaraj e Nanda, 2016). No presente estudo, a regulação negativa de *APOA1* em bezerros suplementados pode ser um efeito a longo prazo da ingestão de ácidos graxos insaturados oriundos do farelo de soja. Algumas pesquisas demonstraram que o consumo de ácidos graxos insaturados, promove uma diminuição na expressão de *APOA1* (Poudyal et al., 2011; Fox et al., 1987). Por outro lado, a angiopoietin like 4 codificada pelo *ANGPTL4*, é um mediador da inativação da lipoproteína lipase envolvida no metabolismo lipídico (Blædel et al., 2016) e, portanto, inibe a captação de triglicerídeos nos adipócitos (Yoo e Kim, 2016). A regulação negativa da

expressão de *APOA1* e *ANGPTL4* nos bezerros suplementados sugere o acúmulo de ácidos graxos, controlado, provavelmente, pela lipoproteína lipase que leva à redução do efluxo de triglicerídeos no tecido adiposo.

O colesterol é um componente essencial na estrutura das membranas celulares que confere rigidez à bicamada fosfolipídica e, também, medeia a sinalização celular e o transporte intracelular (Brown et al., 2021). No presente estudo, cinco genes foram regulados positivamente na via da biossíntese de colesterol em bezerros suplementados durante a fase de aleitamento, os quais codificam as enzimas 24-desidrocolesterol redutase (*DHCR24*), lanosterol sintase (*LSS*), esqualeno epoxidase (*SQLE*), Cholesterol Delta-Isomerase (*EBP*) e citocromo P450, família 51, subfamília A, polipeptídeo 1 (*CYP51A1*). É provável que uma maior eficiência durante esse período em animais suplementados, além de aumentar a massa muscular, aumenta a adiposidade regulada pela expressão diferencial de genes relacionados com o metabolismo lipídico e do colesterol. Resultado similar foi observado em frangos de corte mais eficientes no que diz respeito a maior expressão de genes relacionados com biossíntese de colesterol (*DHCR24*, *LSS*, *SQLE* e *CYP51A1*) (Abasht et al., 2019). Da mesma forma, Claire D'Andre et al., (2013) reportaram que frangos com crescimento mais acelerado apresentam uma regulação positiva da via de biossíntese de colesterol.

A suplementação de 1% do peso corporal em bezerros durante o período de aleitamento, apresentou resultados positivos no programa lipogênico por meio da regulação de genes para biossíntese (*FASN*, *SCD*, *SCD5*, *FADS1*, *FADS2*) e captação de ácidos graxos (*FABP3*), enquanto reduziu a expressão de fatores de transcrição relacionados com β -oxidação (*CPT1A*, *CPT1B* e *UCP3*). Resultado similar foi relatado em um estudo com iaques, herbívoros do gênero *Bos*, em que a suplementação durante o período de crescimento, estimulou a síntese *de novo* de ácidos graxos por meio da regulação positiva de *SREBF1*, *ACACA*, *FASN* e *SCD1*, assim como do fator de transcrição *H-FABP*(*FABP3*), e da regulação negativa de *CPT1* (Zhang et al., 2014). Estudos com roedores concluíram que uma maior disponibilidade de glicose intracelular inibe *CPT1* devido às concentrações elevadas de malonil-CoA, o que leva a uma redução na oxidação de ácidos graxos (Turcotte et al., 2002; Yee e Turcotte, 2002). Assim, a redução na expressão de genes

relacionados à oxidação de ácidos graxos levou ao aumento no marmoreio da carne de bezerros que receberam suplemento via creep feeding.

Observou-se também a regulação de genes que participam na via da AMPK do metabolismo energético. A regulação positiva de *PRKAA2* e *PRKAB2* em bezerros suplementados, que é responsável da codificação das subunidades catalíticas para ativação de AMPK na oxidação de ácidos graxos (Zhang et al., 2021), foi, entretanto, contraditória no presente estudo. Um comparativo entre bovinos Angus e cruzados Angus × Simental, sendo os primeiros com maior potencial de marmoreio, apresentaram uma menor expressão destes genes reguladores de AMPK (Graugnard et al., 2009). No entanto, um estudo com células de músculo cardíaco em camundongos, indicou que o AMPK atua como uma molécula de sinalização a jusante a Apelina (Simpkin et al., 2007) e esta desempenha um papel importante no metabolismo energético, por meio da melhoria na sensibilidade a insulina (Castan-Laurell et al., 2012). Outra enzima importante no metabolismo energético e na oxidação de ácidos graxos regulada por AMPK, é a malonil-CoA descarboxilase (Ruderman et al., 2004). Esta enzima mitocondrial codificada pelo gene *MLYCD*, regulado negativamente em bezerros suplementados do presente estudo (Tabela 5), é responsável por aumentar a oxidação de ácidos graxos através da quebra de malonil-CoA em acetil-CoA (Bouzakri et al., 2008). Pesquisas em humanos (Bouzakri et al., 2008) e em camundongos (Koves et al., 2008) indicaram que o silenciamento deste gene no tecido muscular, aumenta a concentração de malonil-CoA, o que leva à maior utilização de glicose, enquanto reduz a oxidação de ácidos graxos. Portanto, tal fato pode explicar a regulação negativa de genes relacionados com a β -oxidação (*CPT1A*, *CPT1B* e *UCP3*) em bezerros suplementados, e pode ser que este configure um mecanismo de proteção ao desenvolvimento de resistência à insulina causado pela dieta (Koves et al., 2008).

Alguns estudos com bezerros alimentados intensivamente com altas quantidades de carboidratos durante os primeiros meses de vida, mostraram, como resposta à alimentação, um aumento nos níveis plasmáticos de glicose (Hostettler-Allen et al., 1994), ou concentrações normais de glicose com elevados níveis de insulina, sendo este um quadro clássico de resistência à insulina (Hugi et al., 1997). Em indivíduos com resistência à insulina ou hiperinsulinemia, tem sido evidenciada

uma maior expressão do gene *complemento C3* (*C3*) (Weyer et al., 2000; Barbu et al., 2015). Na presente pesquisa, bezerros que consumiram 1% do PC em suplemento, apesar do maior consumo de carboidratos de rápida fermentação (amido), apresentaram uma regulação negativa de *C3*. Isso pode sugerir que a cascata de sinalização de insulina no tecido muscular não está sendo desregulada pelo alto consumo de carboidratos. Em adição a este raciocínio, a ativação da via de sinalização de Apelina por meio da regulação positiva de *PRKAA2* e *PRKAB2*, e uma regulação negativa de *MLYCD* em bezerros suplementados, sugere que estes animais estão utilizando mais glicose como fonte de energia ao invés de ácidos graxos, o que pode estar intimamente relacionado à mudanças no metabolismo das fibras musculares.

O músculo esquelético apresenta uma certa plasticidade metabólica, que dependendo do padrão de crescimento do animal (Picard e Gagaoua, 2020) ou de estímulos nutricionais (Aragão et al., 2014), muda a utilização de substratos (gorduras ou glicose) para a obtenção de ATP. Em períodos de crescimento muscular acelerado, espera-se que o gasto energético para deposição de gordura intramuscular e proteínas seja aumentado (Graugnard et al., 2009). Pode-se pensar que a suplementação com elevadas quantidades de carboidratos (amido) durante o período de aleitamento dos bezerros, provavelmente estimula um metabolismo glicolítico no músculo esquelético. Portanto, uma redução na via de oxidação de ácidos graxos para obtenção de ATP, pode aumentar o acúmulo de lipídeos no tecido adiposo. O músculo esquelético é um tecido constituído por um grupo heterogêneo de fibras que contem diferentes isoformas de MyHCs, as quais são utilizadas para identificação da atividade contrátil e metabólica das células musculares (Schiaffino e Reggiani, 2011). Embora no presente trabalho não tenham sido identificadas essas isoformas, a regulação negativa de *CPT1A*, *CPT1B* e *UCP3* em animais suplementados sugere um músculo esquelético com menor proporção de fibras oxidativas (tipo I), já que esses transcritos são abundantes dentro das mitocôndrias (Turner et al., 2009). Segundo Gagaoua e Picard (2020), as fibras glicolíticas (tipo II β) apresentam menor número de mitocôndrias, e uma maior abundância destas fibras está presente em músculos de animais com crescimento acelerado (Brandstetter et al., 1998).

As proteínas de transporte de ácidos graxos (FATPs) são uma família de 6 isoformas (FATP1-6), das quais, a codificada pelo gene *FATP1* (também conhecido como *SLC27A1*) é altamente expressa em fibras musculares, adipócitos e hepatócitos, devido à alta absorção e metabolismo acelerado de ácidos graxos nestas células (Huang et al., 2021). No presente estudo verificou-se uma regulação positiva de *SLC27A1* em músculo esquelético coletado na desmama de animais que foram suplementados na fase de cria, e, portanto, nos animais que apresentaram maior IMF e MI na carne (IMF e MI; Tabela 2). Outros estudos com bovinos estão de acordo com estes resultados, em que animais que apresentam maior deposição de gordura intramuscular, regulam positivamente *SLC27A1* (Graugnard et al., 2009; Jeong et al., 2012). Apesar das evidências de que *FATP1* (*SLC27A1*) em tecido muscular se associa significativamente ao acúmulo de lipídeos (Graugnard et al., 2009; Jeong et al., 2012; Chen et al., 2017; Qi et al., 2016), existe contradição, tendo em vista que alguns ensaios mostram o contrário (Qiu et al., 2017; Guitart et al., 2014). Essa resposta sobre o metabolismo dos lipídeos (oxidação ou esterificação) pode ser explicada em função da localização de FATP1 que varia com tipo de célula, sendo tecido específica (Huang et al., 2021). Assim, por exemplo, em células musculares, a mitocôndria é o lugar de maior abundância de FATP1, já que é vital para o fornecimento de energia a partir da oxidação de ácidos graxos (Guitart et al., 2014). Enquanto nos adipócitos, o citoplasma é o local de maior abundância de FATP1, e sob estimulação de insulina, estes transportadores são translocados à membrana plasmática para a captação, esterificação e acúmulo de lipídeos (Lobo et al., 2007). Um aumento de FATP1 no tecido adiposo, resulta em uma maior depuração de triglicerídeos do leito vascular do músculo, o que reduz a disponibilidade deste substrato para serem quebrados em ácidos graxos (Martin et al., 1997). Tendo em consideração o efeito negativo dos ácidos graxos no metabolismo da glicose mediado por insulina, uma redução no fluxo deste substrato dentro das fibras musculares pode melhorar a sensibilidade à insulina (Martin et al., 1997). Em vista de que o músculo esquelético é um tecido heterogêneo, composto por fibras musculares, adipócitos, fibroblastos, entre outros grupos celulares, provavelmente, a regulação positiva de *SLC27A1* (*FATP1*) em animais suplementados do presente estudo, é oriunda dos adipócitos e não das fibras

musculares. Adicionalmente, tem sido confirmado que uma menor expressão de *SLC27A1* em fibras musculares está relacionada com uma regulação negativa de *CPT1A*. Consequentemente, uma menor taxa de oxidação de ácidos graxos em fibras musculares, leva a um maior acúmulo de gordura intramuscular (Qiu et al., 2017). Em caso que a regulação positiva de *SLC27A1* (*FATP1*) em bezerros suplementados do presente estudo aconteça em tecido adiposo intramuscular. A obtenção de energia para as fibras musculares a partir da captação e oxidação de ácidos graxos pode ser reduzida, o que explica em parte a regulação negativa de genes pro-oxidativos (*CPT1A*, *CPT1B* e *UCP3*) no músculo desses animais.

Além de estimular a lipogênese, a *FATP1* (*SLC27A1*) participa na diferenciação dos pré-adipócitos regulada por *PPAR* (Chen et al., 2017; Qi et al., 2013). Na adipogênese, o *FATP1* aumenta a liberação de triglicerídeos no plasma e promove a captação de ácidos graxos no pré-adipócito (Liu et al., 2021). Uma vez dentro da célula, os ácidos graxos se ligam ao domínio de ligação ao ligante (LBD) que modifica a estrutura de *PPAR*, formando um heterodímero com o receptor retinoide X (RXR) (Bionaz et al., 2013). Finalmente, esse complexo *PPAR/RXR* se liga a regiões promotoras específicas de genes alvo, promovendo ou inibindo suas expressões (la Cour Poulsen et al., 2012). No presente estudo, os animais suplementados via creep feeding consumiram aproximadamente 375 g de farelo de soja (Tabela 1). Dietas contendo farelo de soja são ricas em ácidos oleico, linoleico e linolênico (Ladeira et al., 2020), os quais são potentes reguladores do *PPARA* (Bionaz et al., 2013). Portanto, é provável que na janela de marmoreio (250 dias de idade), a regulação positiva de *PPARA* e *RXRG* em animais suplementados seja um indicativo de maior recrutamento de adipócitos intramusculares (adipogênese).

O *FOXO1*, codifica para um fator de transcrição pertencente à família *Forkhead box O* e desempenha atividade importante na regulação do metabolismo da glicose pela sinalização de insulina, no metabolismo dos ácidos graxos (oxidação) e no comprometimento dos pré-adipócitos na adipogênese (Nakae et al., 2003; Ioannilli et al., 2020). Em camundongos transgênicos com haploinsuficiência de *FOXO1* aumentou a sensibilidade a insulina e a maior tolerância à glicose, regulando positivamente a expressão de GLUT4 nos adipócitos (Nakae et al., 2003). Na adipogênese, o papel de *FOXO1* pode ser tanto de promotor como inibidor de

acordo com a fase de diferenciação. Assim, em uma fase pós-mitótica, a regulação positiva de *FOXO1* inibe a adipogênese através da transcrição de p21, um inibidor do ciclo celular (Dowell et al., 2003). Por outro lado, na diferenciação terminal e maturação dos adipócitos (metabolismo lipídico), a inibição de *FOXO1* impede a sua ligação com *PPAR γ* , o que permite a formação do complexo *PPAR γ -RXR α -DNA* no programa de transcrição (Ioannilli et al., 2020). No presente estudo, a regulação negativa de *FOXO1* nos bezerros suplementados durante o período aleitamento, sugere que o tecido adiposo intramuscular coletado à desmama pode estar em fase terminal da diferenciação e que os adipócitos estavam prontos para iniciar o acúmulo de gordura na fase de terminação. Portanto, um maior número de adipócitos intramusculares diferenciados em animais suplementados, pode sustentar também a regulação positiva de genes relacionados com biossíntese de ácidos graxos e colesterol discutido em parágrafos anteriores.

O gene *INSIG1* é um codificador de proteínas de membrana do retículo endoplasmático que regula a homeostase da glicose e atua como mecanismo de *feedback* negativo na biossíntese do colesterol e na lipogênese (Graugnard et al., 2009; Attie, 2004). Alguns modelos experimentais com camundongos (Kast-Woelbern et al., 2004) indicaram que a expressão de *INSIG1* é ativada relativamente tarde pela regulação de *PPARG* e *SREBF1* na adipogênese, e sua função no tecido adiposo é bloquear a liberação de SREBP1 no retículo endoplasmático (Li et al., 2003). O SREBP1 é a proteína chave no controle da expressão dos genes *ACACA*, *FASN* e *SCD* na síntese *de novo* de ácidos graxos (Teixeira et al., 2017). No entanto, os achados desta pesquisa não apoiaram este mecanismo, pois, apesar dos bezerros suplementados exibirem uma regulação positiva de *INSIG1*, também foi observada uma maior abundância de *FASN*, *SCD* e *SCD5*, resultados que suportam a maior IMF e MI na carne (Tabela 2). Resultado similar foi observado em bovinos Angus e cruzados Angus $\times$ Simental, onde os animais Angus com maior IMF e MI apresentaram regulação positiva de *INSIG1* (Graugnard et al., 2009). Isto sugere que uma superexpressão de *INSIG1* em ruminantes atua como um fator pró-lipogênico (Graugnard et al., 2009), e não como um gene anti-lipogênico como foi demonstrado em ensaios com camundongos (Kast-Woelbern et al., 2004).

A lipina é uma proteína codificada por uma família de genes (*LPIN1*, *LPIN2* e *LPIN3*) que desempenham um papel fundamental na lipogênese e metabolismo energético do tecido adiposo e muscular (Reue, 2009; Zhang et al., 2017). Estudos com camundongos transgênicos com deficiência de lipina ou com superexpressão exclusivamente no músculo, demonstraram que a regulação positiva de lipina reduz o uso de ácidos graxos como combustível, aumentando a expressão de genes lipogênicos nos adipócitos. Desta forma, no tecido muscular, a expressão de lipina reduz o gasto energético e oxidação de gordura, aumentando ligeiramente a obesidade dos indivíduos (Phan et al., 2005; Reue et al., 2006). Além dos efeitos sobre a deposição de gordura, a alteração na expressão de lipina no tecido muscular e adiposo afeta a sensibilidade a insulina. Assim, a deficiência de lipina promove resistência à insulina provavelmente como consequência de baixos níveis de leptina e adiponectina e prejuízo na absorção de glicose (Péterfy et al., 2001; Reue et al., 2000). Contrariamente, a superexpressão de lipina em camundongos transgênicos aumentou a sensibilidade a insulina embora a massa de tecido adiposo fosse duplicada comparado com animais normais (Phan et al., 2005). Isso demonstra que a lipina melhora a eficiência na deposição de ácidos graxos nos adipócitos e prevê a deposição ectópica de lipídeos em tecido muscular e consequentemente o comprometimento da insulina (Reue et al., 2006), resultados similares aos observados no presente estudo. Num outro estudo com bovinos foi reportado que dietas ricas em amido aumentaram a expressão de *LPIN2* e que esta se correlaciona positivamente com sensibilidade a insulina e, portanto, é associada a maior adipogênese (Graugnard et al., 2009).

2.5. Conclusão

Os resultados encontrados na presente pesquisa corroboram a hipótese de que o uso de creep feeding acarreta em amplas mudanças nos níveis de expressão gênica, vias metabólicas e processos biológicos relacionados aos metabolismos adipogênico e lipogênico de bovinos de corte. Foram identificadas regulações positivas de genes que participam em importantes vias metabólicas e processos

biológicos relacionados à sinalização PPAR na adipogênese e à resposta a insulina, biossíntese de ácidos graxos e colesterol na lipogênese. Como consequência das alterações biológicas, esta estratégia alimentar também mostrou resultados sobre o fenótipo, em especial sobre as características da carne relacionadas às deposições de gorduras intramuscular e subcutânea, podendo ser alternativa para atender as demandas de mercado por carnes de melhor qualidade.

2.6. Referências Bibliográficas

Abasht B, Zhou N, Lee WR, Zhuo Z, Peripolli E. The metabolic characteristics of susceptibility to wooden breast disease in chickens with high feed efficiency. **Poultry science** 2019, 98, 3246-3256, doi:<https://doi.org/10.3382/ps/pez183>.

ABIEC. **Beef Report** 2022. Available online: <https://www.abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2022/> (accessed on 19/09/2022).

Altmann S, Murani E, Schwerin M, Metges CC, 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** 2012, 107, 791-799, doi:10.1017/S0007114511003667.

Andrews S. FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data. Available online: <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/> (accessed on 02 June 2022).

Aragão, R.d.S.; Guzmán-Quevedo, O.; Pérez-García, G.; Manhaes-de-Castro, R.; Bolanos-Jiménez, F. Maternal protein restriction impairs the transcriptional metabolic flexibility of skeletal muscle in adult rat offspring. **British journal of nutrition** 2014, 112, 328-337, doi:<https://doi.org/10.1017/S0007114514000865>.

Asher, A.; Shabtay, A.; Cohen-Zinder, M.; Aharoni, Y.; Miron, J.; Agmon, R.; Halachmi, I.; Orlov, A.; Haim, A.; Tedeschi, L. Consistency of feed efficiency ranking and mechanisms associated with inter-animal variation among growing calves. **J. Anim. Sci.** 2018, 96, 990-1009, doi:<https://doi.org/10.1093/jas/skx045>.

Attie, A.D. Insig: a significant integrator of nutrient and hormonal signals. **The Journal of clinical investigation** 2004, 113, 1112-1114, doi:<https://doi.org/10.1172/JCI21450>.

AUS-MEAT, M. Handbook of australian beef processing. **The Aus-Meat language** 2018.

Baldassini WA, Ferreira MS, Santiago BM, Chardulo LAL, Curi RA, Lanna DPD, Ribeiro RV, Martins CL, Arrigoni M, Neto ORM. Intake, performance, meat quality and fatty acid profile of Nellore bulls finished in feedlot with diets containing dry corn gluten feed. **Livestock Science** 253, 104715, 2021, doi:<https://doi.org/10.1016/j.livsci.2021.104715>.

Barbu, A.; Hamad, O.A.; Lind, L.; Ekdahl, K.N.; Nilsson, B. The role of complement factor C3 in lipid metabolism. **Molecular Immunology** 2015, 67, 101-107, doi:<https://doi.org/10.1016/j.molimm.2015.02.027>.

Benjamini Y, Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. **Journal of the Royal statistical society: series B (Methodological)** 1995, 57, 289-300, doi:<https://doi.org/10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x>.

Bindea G, Galon J, Mlecnik B. CluePedia Cytoscape plugin: pathway insights using integrated experimental and in silico data. **Bioinformatics** 2013, 29, 661-663, doi:<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt019>.

Bindea G, Mlecnik B, Hackl H, Charoentong P, Tosolini M, Kirilovsky A, Fridman W-H, Pagès F, Trajanoski Z, Galon J. ClueGO: a Cytoscape plug-in to decipher functionally grouped gene ontology and pathway annotation networks. **Bioinformatics** 2009, 25, 1091-1093, doi:<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp101>.

Bionaz, M.; Chen, S.; Khan, M.J.; Looor, J.J. Functional Role of PPARs in Ruminants: Potential Targets for Fine-Tuning Metabolism during Growth and Lactation. **PPAR Research** 2013, 28 págs., doi:<https://doi.org/10.1155/2013/684159>.

Blædel, T.; Holm, J.B.; Sundekilde, U.K.; Schmedes, M.S.; Hess, A.L.; Lorenzen, J.K.; Kristiansen, K.; Dalsgaard, T.K.; Astrup, A.; Larsen, L.H. A randomised, controlled, crossover study of the effect of diet on angiopoietin-like protein 4 (ANGPTL4) through modification of the gut microbiome. **Journal of nutritional science** 2016, 5, doi:<https://doi.org/10.1017/jns.2016.38>.

Bogdarina I, Haase A, Langley-Evans S, Clark AJ. Glucocorticoid effects on the programming of AT1b angiotensin receptor gene methylation and expression in the rat. **PloS one** 2010, 5, e9237, doi:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009237>.

Bouzakri, K.; Austin, R.; Rune, A.; Lassman, M.E.; Garcia-Roves, P.M.; Berger, J.P.; Krook, A.; Chibalin, A.V.; Zhang, B.B.; Zierath, J.R. Malonyl CoenzymeA decarboxylase regulates lipid and glucose metabolism in human skeletal muscle. **Diabetes** 2008, 57, 1508-1516, doi:<https://doi.org/10.2337/db07-0583>.

Brandstetter, A.M.; Picard, B.; Geay, Y. Muscle fibre characteristics in four muscles of growing bulls: I. Postnatal differentiation. **Livestock Production Science** 1998, 53, 15-23, doi:[https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(97\)00149-8](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(97)00149-8).

Brown, A.J.; Coates, H.W.; Sharpe, L.J. Chapter 10 - Cholesterol synthesis. In **Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes (Seventh Edition)**, Ridgway, N.D., McLeod, R.S., Eds.; Elsevier: 2021; pp. 317-355.

Brown, J.D.; Plutzky, J. Peroxisome proliferator-activated receptors as transcriptional nodal points and therapeutic targets. **Circulation** 2007, 115, 518-533, doi:<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.104.475673>.

Carvalho, V.V.; Paulino, M.F.; Detmann, E.; Valadares Filho, S.C.; Lopes, S.A.; Rennó, L.N.; Sampaio, C.B.; 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** 2019, 227, 175-182, doi:<https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.07.009>.

Castan-Laurell, I.; Dray, C.; Knauf, C.; Kunduzova, O.; Valet, P. Apelin, a promising target for type 2 diabetes treatment? **Trends in Endocrinology & Metabolism** 2012, 23, 234-241, doi:<https://doi.org/10.1016/j.tem.2012.02.005>.

Chen S, Zhou Y, Chen Y, Gu J. fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. **Bioinformatics** 2018, 34, i884-i890, doi:<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty560>.

Chen, H.; Peng, T.; Shang, H.; Shang, X.; Zhao, X.; Qu, M.; Song, X. RNA-Seq Analysis Reveals the Potential Molecular Mechanisms of Puerarin on Intramuscular Fat Deposition in Heat-Stressed Beef Cattle. **Frontiers in Nutrition** 2022, 9, 817557, doi:<https://doi.org/10.3389/fnut.2022.817557>.

Chen, X.; Luo, Y.; Wang, R.; Zhou, B.; Huang, Z.; Jia, G.; Zhao, H.; Liu, G. Effects of fatty acid transport protein 1 on proliferation and differentiation of porcine intramuscular preadipocytes. **Animal Science Journal** 2017, 88, 731-738, doi:<https://doi.org/10.1111/asj.12701>.

Claire D'Andre, H.; Paul, W.; Shen, X.; Jia, X.; Zhang, R.; Sun, L.; Zhang, X. Identification and characterization of genes that control fat deposition in chickens. **Journal of animal science and biotechnology** 2013, 4, 1-16, doi:<https://doi.org/10.1186/2049-1891-4-43>.

Costa e Silva, L.F.; Engle, T.E.; de Valadares Filho, S.; Rotta, P.P.; Villadiego, F.A.C.; Silva, F.A.S.; Martins, E.C.; Silva, L.H.R.; Paulino, M.F. Nellore cows and their calves during the lactation period: performance, intake, milk composition, and total apparent digestibility. **Tropical animal health and production** 2015, 47, 735-741, doi:<https://doi.org/10.1007/s11250-015-0787-6>.

Cremin Jr, J.; Faulkner, D.; Merchen, N.; Fahey Jr, G.; Fernando, R.; Willms, C. Digestion criteria in nursing beef calves supplemented with limited levels of protein and energy. **J. Anim. Sci.** 1991, 69, 1322-1331, doi:<https://doi.org/10.2527/1991.6931322x>.

Dantas CCO, de Mattos Negrão F, Geron LJV, Mexia AA. O uso da técnica do Creep-feeding na suplementação de bezerros. **PUBVET** 2010, 4, Art. 899-904.

Day JJ, Kennedy AJ, Sweatt JD. DNA methylation and its implications and accessibility for neuropsychiatric therapeutics. **Annual review of pharmacology and toxicology** 2015, 55, 591, doi:<https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-010814-124527>.

De Jager, N.; Hudson, N.; Reverter, A.; Barnard, R.; Cafe, L.; Greenwood, P.; Dalrymple, B. Gene expression phenotypes for lipid metabolism and intramuscular fat in skeletal muscle of cattle. **J. Anim. Sci.** 2013, 91, 1112-1128, doi:<https://doi.org/10.2527/jas.2012-5409>.

Dobin A, Davis CA, Schlesinger F, Drenkow J, Zaleski C, Jha S, Batut P, Chaisson M, Gingeras TR. STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner. **Bioinformatics** 2013, 29, 15-21, doi:<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts635>.

Dong, G.-F.; Zou, Q.; Wang, H.; Huang, F.; Liu, X.-C.; Chen, L.; Yang, C.-Y.; Yang, Y.-o. Conjugated linoleic acid differentially modulates growth, tissue lipid deposition, and gene expression involved in the lipid metabolism of grass carp. **Aquaculture** 2014, 432, 181-191, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.05.008>.

Dowell, P.; Otto, T.C.; Adi, S.; Lane, M.D. Convergence of peroxisome proliferator-activated receptor γ and Foxo1 signaling pathways. **Journal of Biological Chemistry** 2003, 278, 45485-45491, doi:<https://doi.org/10.1074/jbc.M309069200>.

Du M, Ford SP, Zhu M-J. Optimizing livestock production efficiency through maternal nutritional management and fetal developmental programming. **Animal Frontiers** 2017, 7, 5-11, doi:<https://doi.org/10.2527/af.2017-0122>.

Du, M.; Huang, Y.; Das, A.; Yang, Q.; Duarte, M.; Dodson, M.; Zhu, M.-J. Meat Science and Muscle Biology Symposium: manipulating mesenchymal progenitor cell differentiation to optimize performance and carcass value of beef cattle. **J. Anim. Sci.** 2013, 91, 1419-1427, doi:<https://doi.org/10.2527/jas.2012-5670>.

Duckett, S.; Gillis, M. Effects of oil source and fish oil addition on ruminal biohydrogenation of fatty acids and conjugated linoleic acid formation in beef steers fed finishing diets. **J. Anim. Sci.** 2010, 88, 2684-2691, doi:<https://doi.org/10.2527/jas.2009-2375>.

Dudley KJ, Sloboda DM, Connor KL, Beltrand J, Vickers MH. Offspring of mothers fed a high fat diet display hepatic cell cycle inhibition and associated changes in gene expression and DNA methylation. **PloS one** 2011, 6, e21662, doi:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021662>.

Dyck, J.R.; Hopkins, T.A.; Bonnet, S.; Michelakis, E.D.; Young, M.E.; Watanabe, M.; Kawase, Y.; Jishage, K.-i.; Lopaschuk, G.D. Absence of malonyl coenzyme A decarboxylase in mice increases cardiac glucose oxidation and protects the heart from ischemic injury. **Circulation** 2006, 114, 1721-1728, doi:<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.642009>.

Ewels P, Magnusson M, Lundin S, Källér M. MultiQC: summarize analysis results for multiple tools and samples in a single report. **Bioinformatics** 2016, 32, 3047-3048, doi:<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw354>.

Farias N, Ho N, Butler S, Delaney L, Morrison J, Shahrzad S, Coomber BL. The effects of folic acid on global DNA methylation and colonosphere formation in colon cancer cell lines. **The Journal of nutritional biochemistry** 2015, 26, 818-826, doi:<https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2015.02.002>.

Farkas SA, Befekadu R, Hahn-Strömberg V, Nilsson TK. DNA methylation and expression of the folate transporter genes in colorectal cancer. **Tumor Biology** 2015, 36, 5581-5590, doi:<https://doi.org/10.1007/s13277-015-3228-2>.

Faulkner, D.; Hummel, D.; Buskirk, D.; Berger, L.; Parrett, D.; Cmarik, G. Performance and nutrient metabolism by nursing calves supplemented with limited or unlimited corn or soyhulls. **J. Anim. Sci.** 1994, 72, 470-477, doi:<https://doi.org/10.2527/1994.722470x>.

Fonseca, M.A.; Valadares Filho, S.d.C.; Henriques, L.T.; Paulino, P.V.R.; Detmann, E.; Fonseca, E.A.; Benedeti, P.D.B.; Silva, L.D.d. Nutritional requirements of nursing Nellore calves. **Revista Brasileira de Zootecnia** 2012, 41, 1212-1221, doi:<https://doi.org/10.1590/S1516-35982012000500019>

Fox, J.; McGill Jr, H.; Carey, K.; Getz, G. In vivo regulation of hepatic LDL receptor mRNA in the baboon. Differential effects of saturated and unsaturated fat. **Journal of Biological Chemistry** 1987, 262, 7014-7020, doi:[https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)48195-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)48195-1).

Gerrits, W.J.; France, J.; Dijkstra, J.; Bosch, M.W.; Tolman, G.H.; Tamminga, S. Evaluation of a model integrating protein and energy metabolism in preruminant calves. **The Journal of nutrition** 1997, 127, 1243-1252, doi:<https://doi.org/10.1093/jn/127.6.1243>.

Graugnard, D.E.; Piantoni, P.; Bionaz, M.; Berger, L.L.; Faulkner, D.B.; Loor, J.J. Adipogenic and energy metabolism gene networks in longissimus lumborum during rapid post-weaning growth in Angus and Angus× Simmental cattle

fed high-starch or low-starch diets. **BMC genomics** 2009, 10, 1-15, doi:<https://doi.org/10.1186/1471-2164-10-142>.

Gross, B.; Pawlak, M.; Lefebvre, P.; Staels, B. PPARs in obesity-induced T2DM, dyslipidaemia and NAFLD. **Nature Reviews Endocrinology** 2017, 13, 36-49, doi:<https://doi.org/10.1038/nrendo.2016.135>.

Gu Z, Eils R, Schlesner M. Complex heatmaps reveal patterns and correlations in multidimensional genomic data. **Bioinformatics** 2016, 32, 2847-2849, doi:<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw313>.

Gu Z, Eils R, Schlesner M. Complex heatmaps reveal patterns and correlations in multidimensional genomic data. **Bioinformatics** 2016, 32, 2847-2849, doi:<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw313>.

Guitart, M.; Osorio-Conles, Ó.; Pentinat, T.; Cebrià, J.; García-Villoria, J.; Sala, D.; Sebastián, D.; Zorzano, A.; Ribes, A.; Jiménez-Chillarón, J.C. Fatty acid transport protein 1 (FATP1) localizes in mitochondria in mouse skeletal muscle and regulates lipid and ketone body disposal. **PLoS One** 2014, 9, e98109, doi:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098109>.

Hocquette J.-F, Gondret F, Baéza E, Médale F, Jurie C, Pethick D. Intramuscular fat content in meat-producing animals: development, genetic and nutritional control, and identification of putative markers. **Animal** 2010, 4, 303-319, doi:<https://doi.org/10.1017/S1751731109991091>.

Hostettler-Allen, R.L.; Tappy, L.; Blum, J.W. Insulin resistance, hyperglycemia, and glucosuria in intensively milk-fed calves. **J. Anim. Sci.** 1994, 72, 160-173, doi:<https://doi.org/10.2527/1994.721160x>.

Huang DW, Sherman BT, Tan Q, Kir J, Liu D, Bryant D, Guo Y, Stephens R, Baseler MW, Lane HC. DAVID Bioinformatics Resources: expanded annotation database and novel algorithms to better extract biology from large gene lists. **Nucleic acids research** 2007, 35, W169-W175, doi:<https://doi.org/10.1093/nar/gkm415>.

Huang, J.; Zhu, R.; Shi, D. The role of FATP1 in lipid accumulation: a review. **Molecular and Cellular Biochemistry** 2021, 476, 1897-1903, doi:<https://doi.org/10.1007/s11010-021-04057-w>.

Hugi, D.; Gut, S.; Blum, J. Blood metabolites and hormones—especially glucose and insulin—in veal calves: effects of age and nutrition. **Journal of Veterinary Medicine Series A** 1997, 44, 407-416, doi:<https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.1997.tb01126.x>.

Hunt, M.; Garmyn, A.; O'Quinn, T.; Corbin, C.; Legako, J.; Rathmann, R.; Brooks, J.; Miller, M. Consumer assessment of beef palatability from four beef

muscles from USDA Choice and Select graded carcasses. **Meat science** 2014, 98, 1-8, doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.04.004>.

Ibeagha-Awemu, E.M.; Akwanji, K.A.; Beaudoin, F.; Zhao, X. Associations between variants of FADS genes and omega-3 and omega-6 milk fatty acids of Canadian Holstein cows. **BMC genetics** 2014, 15, 1-9, doi:<https://doi.org/10.1186/1471-2156-15-25>.

Ioannilli, L.; Ciccarone, F.; Ciriolo, M.R. Adipose tissue and FoxO1: bridging physiology and mechanisms. **Cells** 2020, 9, 849, doi:<https://doi.org/10.3390/cells9040849>.

Jeong, J.; Kwon, E.G.; Im, S.K.; Seo, K.S.; Baik, M. Expression of fat deposition and fat removal genes is associated with intramuscular fat content in longissimus dorsi muscle of Korean cattle steers. **J. Anim. Sci.** 2012, 90, 2044-2053, doi:<https://doi.org/10.2527/jas.2011-4753>.

Jousse C, Parry L, Lambert-Langlais S, Maurin AC, Averous J, Bruhat A, Carraro V, Tost J, Letteron P, Chen P. Perinatal undernutrition affects the methylation and expression of the leptin gene in adults: implication for the understanding of metabolic syndrome. **The FASEB Journal** 2011, 25, 3271-3278, doi:<https://doi.org/10.1096/fj.11-181792>.

Kassambara A, Mundt F. Factoextra: extract and visualize the results of multivariate data analyses. Available online: <https://CRAN.R-project.org/package=factoextra> (accessed on 02 june 2022).

Kast-Woelbern, H.R.; Dana, S.L.; Cesario, R.M.; Sun, L.; de Grandpre, L.Y.; Brooks, M.E.; Osburn, D.L.; Reifel-Miller, A.; Klausning, K.; Leibowitz, M.D. Rosiglitazone induction of Insig-1 in white adipose tissue reveals a novel interplay of peroxisome proliferator-activated receptor γ and sterol regulatory element-binding protein in the regulation of adipogenesis. **Journal of Biological Chemistry** 2004, 279, 23908-23915, doi:<https://doi.org/10.1074/jbc.M403145200>.

Koves, T.R.; Ussher, J.R.; Noland, R.C.; Slentz, D.; Mosedale, M.; Ilkayeva, O.; Bain, J.; Stevens, R.; Dyck, J.R.; Newgard, C.B. Mitochondrial overload and incomplete fatty acid oxidation contribute to skeletal muscle insulin resistance. **Cell metabolism** 2008, 7, 45-56, doi:<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2007.10.013>.

la Cour Poulsen, L.; Siersbæk, M.; Mandrup, S. PPARs: fatty acid sensors controlling metabolism. In Proceedings of the Seminars in cell & developmental biology, 2012; pp. 631-639.

Ladeira, M.; Schoonmaker, J.; Gionbelli, M.; Dias, J.; Gionbelli, T.; Carvalho, J.R.; Teixeira, P. Nutrigenomics and beef quality: a review about lipogenesis. **International journal of molecular sciences** 2016, 17, 918, doi:<https://doi.org/10.3390/ijms17060918>.

Ladeira, M.M.; de Oliveira, D.M.; Schoonmaker, J.P.; Chizzotti, M.L.; Barreto, H.G.; Paiva, L.V.; Coelho, T.C.; Neto, O.R.M.; Gionbelli, M.P.; Chalfun-Junior, A. Expression of lipogenic genes in the muscle of beef cattle fed oilseeds and vitamin E. **Agri Gene** 2020, 15, 100097, doi:https://doi.org/10.1016/j.aggene.2019.100097.

Lanna D, Barioni L, Nepomuceno N, Almeida R, Tedeschi L. Ração de Lucro Máximo—RLM 3.2. 1. 2011.

Li, J.; Takaishi, K.; Cook, W.; McCorkle, S.K.; Unger, R.H. Insig-1 “brakes” lipogenesis in adipocytes and inhibits differentiation of preadipocytes. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 2003, 100, 9476-9481, doi:https://doi.org/10.1073/pnas.1133426100.

Liao Y, Smyth GK, Shi W. featureCounts: an efficient general purpose program for assigning sequence reads to genomic features. **Bioinformatics** 2014, 30, 923-930, doi:https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt656.

Liu, X.; Li, S.; Wang, L.; Zhang, W.; Wang, Y.; Gui, L.; Zan, L.; Zhao, C. The effect of FATP1 on adipocyte differentiation in Qinchuan beef cattle. **Animals** 2021, 11, 2789, doi:https://doi.org/10.3390/ani11102789.

Lobo, S.; Wiczer, B.M.; Smith, A.J.; Hall, A.M.; Bernlohr, D.A. Fatty acid metabolism in adipocytes: functional analysis of fatty acid transport proteins 1 and 4. **Journal of lipid research** 2007, 48, 609-620, doi:https://doi.org/10.1194/jlr.M600441-JLR200.

Lopes, S.A.; Paulino, M.F.; Detmann, E.; Valente, É.E.L.; Rennó, L.N.; Valadares, R.F.D.; Cardenas, J.E.G.; de Almeida, D.M.; de Moura, F.H.; Oliveira, C.A.S. Evaluation of supplementation plans for suckling beef calves managed on tropical pasture. **Semina: Ciências Agrárias** 2017, 38, 1027-1039, doi:https://doi.org/10.5433/1679-0359.2017v38n2p1027.

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. **J. Dairy Sci**, 84, 161, 2001

Mangaraj, M.; Nanda, R.; Panda, S. Apolipoprotein AI: a molecule of diverse function. **Indian Journal of Clinical Biochemistry** 2016, 31, 253-259, doi:https://doi.org/10.1007/s12291-015-0513-1.

Martin, G.; Schoonjans, K.; Lefebvre, A.-M.; Staels, B.; Auwerx, J. Coordinate regulation of the expression of the fatty acid transport protein and acyl-CoA synthetase genes by PPAR α and PPAR γ activators. **Journal of Biological Chemistry** 1997, 272, 28210-28217, doi:https://doi.org/10.1074/jbc.272.45.28210.

Nakae, J.; Kitamura, T.; Kitamura, Y.; Biggs III, W.H.; Arden, K.C.; Accili, D. The forkhead transcription factor Foxo1 regulates adipocyte differentiation. **Developmental cell** 2003, 4, 119-129, doi:https://doi.org/10.1016/S1534-5807(02)00401-X.

Nakamura, M.T.; Nara, T.Y. STRUCTURE, FUNCTION, AND DIETARY REGULATION OF (delta) 6,(delta) 5, AND (delta) 9 DESATURASES. **Annual review of nutrition** 2004, 24, 345, doi:https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.24.121803.063211.

Péterfy, M.; Phan, J.; Xu, P.; Reue, K. Lipodystrophy in the fld mouse results from mutation of a new gene encoding a nuclear protein, lipin. **Nature genetics** 2001, 27, 121-124, doi:https://doi.org/10.1038/83685.

Phan, J.; Reue, K. Lipin, a lipodystrophy and obesity gene. **Cell metabolism** 2005, 1, 73-83, doi:https://doi.org/10.1016/j.cmet.2004.12.002.

Picard, B.; Gagaoua, M. Muscle fiber properties in cattle and their relationships with meat qualities: an overview. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 2020, doi:https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c02086.

Poudyal, H.; Panchal, S.K.; Diwan, V.; Brown, L. Omega-3 fatty acids and metabolic syndrome: effects and emerging mechanisms of action. **Progress in lipid research** 2011, 50, 372-387, doi:https://doi.org/10.1016/j.plipres.2011.06.003.

Qi, R.; Feng, M.; Tan, X.; Gan, L.; Yan, G.; Sun, C. FATP1 silence inhibits the differentiation and induces the apoptosis in chicken preadipocytes. **Molecular biology reports** 2013, 40, 2907-2914, doi:https://doi.org/10.1007/s11033-012-2306-4.

Qi, R.; Long, D.; Wang, J.; Wang, Q.; Huang, X.; Cao, C.; Gao, G.; Huang, J. MicroRNA-199a targets the fatty acid transport protein 1 gene and inhibits the adipogenic trans-differentiation of C2C12 myoblasts. **Cellular Physiology and Biochemistry** 2016, 39, 1087-1097, doi:https://doi.org/10.1159/000447817.

Qiu, F.; Xie, L.; Ma, J.-e.; Luo, W.; Zhang, L.; Chao, Z.; Chen, S.; Nie, Q.; Lin, Z.; Zhang, X. Lower expression of SLC27A1 enhances intramuscular fat deposition in chicken via down-regulated fatty acid oxidation mediated by CPT1A. **Frontiers in physiology** 2017, 8, 449, doi:https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00449.

Rangwala, S.M.; Lazar, M.A. Peroxisome proliferator-activated receptor γ in diabetes and metabolism. **Trends in pharmacological sciences** 2004, 25, 331-336, doi:https://doi.org/10.1016/j.tips.2004.03.012.

Reue, K. The lipin family: mutations and metabolism. **Current opinion in lipidology** 2009, 20, 165, doi:https://doi.org/10.1097/MOL.0b013e32832adee5.

Reue, K.; Donkor, J. Lipin: a determinant of adiposity, insulin sensitivity and energy balance. **Future Lipidology** 2006, 1, 91-101, doi:<https://doi.org/10.2217/17460875.1.1.91>.

Reue, K.; Xu, P.; Wang, X.-P.; Slavin, B.G. Adipose tissue deficiency, glucose intolerance, and increased atherosclerosis result from mutation in the mouse fatty liver dystrophy (fld) gene. **Journal of lipid research** 2000, 41, 1067-1076, doi:[https://doi.org/10.1016/S0022-2275\(20\)32011-3](https://doi.org/10.1016/S0022-2275(20)32011-3).

Robinson MD, McCarthy DJ, Smyth GK. edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. **bioinformatics** 2010, 26, 139-140, doi:<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp616>.

Robinson MD, Oshlack AA. scaling normalization method for differential expression analysis of RNA-seq data. **Genome biology** 2010, 11, 1-9, doi:<https://doi.org/10.1186/gb-2010-11-3-r25>.

Ruderman, N.; Prentki, M. AMP kinase and malonyl-CoA: targets for therapy of the metabolic syndrome. **Nature reviews Drug discovery** 2004, 3, 340-351, doi:<https://doi.org/10.1038/nrd1344>.

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. **J. Anim. Sci.** 2014, 92, 320-324, doi:<https://doi.org/10.2527/jas.2012-6209>.

Schiaffino, S.; Reggiani, C. Fiber types in mammalian skeletal muscles. **Physiological reviews** 2011, 91, 1447-1531, doi:<https://doi.org/10.1152/physrev.00031.2010>.

Schroyen, M.; Li, B.; Arevalo Sureda, E.; Zhang, Y.; Leblois, J.; Deforce, D.; Van Nieuwerburgh, F.; Wavreille, J.; Everaert, N. Pre-Weaning Inulin Supplementation Alters the Ileal Transcriptome in Pigs Regarding Lipid Metabolism. **Veterinary Sciences** 2021, 8, 207, doi:<https://doi.org/10.3390/vetsci8100207>.

Shackelford S, Wheeler T, Koohmaraie M. Evaluation of slice shear force as an objective method of assessing beef longissimus tenderness. **J. Anim. Sci.** 1999, 77, 2693-2699, doi:<https://doi.org/10.2527/1999.77102693x>.

Simpkin, J.C.; Yellon, D.M.; Davidson, S.M.; Lim, S.Y.; Wynne, A.M.; Smith, C.C. Apelin-13 and apelin-36 exhibit direct cardioprotective activity against ischemiareperfusion injury. **Basic research in cardiology** 2007, 102, 518-528, doi:<https://doi.org/10.1007/s00395-007-0671-2>.

Smith SB, Crouse DJ. Relative contributions of acetate, lactate and glucose to lipogenesis in bovine intramuscular and subcutaneous adipose tissue. **The Journal of Nutrition.** 114:792-800. 1984.

Stewart L. Creep feeding beef calves. UGA Cooperative Extension Bulletin 2017, 1315.

Szklarczyk D, Morris JH, Cook H, Kuhn M, Wyder S, Simonovic M, Santos A, Doncheva NT, Roth A, Bork P. The STRING database in 2017: quality-controlled protein–protein association networks, made broadly accessible. **Nucleic acids research** 2016, gkw937, doi:<https://doi.org/10.1093/nar/gkw937>.

Team RC. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available online: <https://www.R-project.org/> (accessed on 02 june 2022).

Teixeira, P.D.; Oliveira, D.M.; Chizzotti, M.L.; Chalfun-Junior, A.; Coelho, T.C.; Gionbelli, M.; Paiva, L.V.; Carvalho, J.R.R.; Ladeira, M.M. Subspecies and diet affect the expression of genes involved in lipid metabolism and chemical composition of muscle in beef cattle. **Meat Science** 2017, 133, 110-118, doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.06.009>.

Turcotte, L.P.; Swenberger, J.R.; Yee, A.J. High carbohydrate availability increases LCFA uptake and decreases LCFA oxidation in perfused muscle. **American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism** 2002, 282, E177-E183, doi:<https://doi.org/10.1152/ajpendo.00316.2001>.

Turner, N.; Hariharan, K.; TidAng, J.; Frangioudakis, G.; Beale, S.M.; Wright, L.E.; Zeng, X.Y.; Leslie, S.J.; Li, J.-Y.; Kraegen, E.W. Enhancement of muscle mitochondrial oxidative capacity and alterations in insulin action are lipid species dependent: potent tissue-specific effects of medium-chain fatty acids. **Diabetes** 2009, 58, 2547-2554, doi:<https://doi.org/10.2337/db09-0784>.

Vucetic Z, Kimmel J, Totoki K, Hollenbeck E, Reyes TM. Maternal high-fat diet alters methylation and gene expression of dopamine and opioid-related genes. **Endocrinology** 2010, 151, 4756-4764, doi:<https://doi.org/10.1210/en.2010-0505>.

Ward, R.; Woodward, B.; Otter, N.; Doran, O. Relationship between the expression of key lipogenic enzymes, fatty acid composition, and intramuscular fat content of Limousin and Aberdeen Angus cattle. **Livestock Science** 2010, 127, 22-29, doi:<https://doi.org/10.1016/j.livsci.2009.09.005>.

Weyer, C.; Tataranni, P.A.; Pratley, R.E. Insulin action and insulinemia are closely related to the fasting complement C3, but not acylation stimulating protein concentration. **Diabetes Care** 2000, 23, 779-785, doi:<https://doi.org/10.2337/diacare.23.6.779>.

Yee, A.J.; Turcotte, L.P. Insulin fails to alter plasma LCFA metabolism in muscle perfused at similar glucose uptake. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism** 2002, 283, E73-E77, doi:<https://doi.org/10.1152/ajpendo.00553.2001>.

Yoo, J.Y.; Kim, S.S. Probiotics and prebiotics: present status and future perspectives on metabolic disorders. **Nutrients** 2016, 8, 173, doi:<https://doi.org/10.3390/nu8030173>.

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

Zhang, H.b.; Wang, Z.S.; Peng, Q.H.; Tan, C.; Zou, H.W. Effects of different levels of protein supplementary diet on gene expressions related to intramuscular deposition in early-weaned yaks. **Animal Science Journal** 2014, 85, 411-419, doi: <https://doi.org/10.1111/asj.12161>.

Zhang, M.; Zheng, D.; Peng, Z.; Zhu, Y.; Li, R.; Wu, Q.; Li, Y.; Li, H.; Xu, W.; Zhang, M. Identification of differentially expressed genes and lipid metabolism signaling pathways between muscle and fat tissues in broiler chickens. **The journal of poultry science** 2021, 58, 131-137, doi: <https://doi.org/10.2141/jpsa.0200040>.

Zhang, P.; Reue, K. Lipin proteins and glycerolipid metabolism: Roles at the ER membrane and beyond. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes** 2017, 1859, 1583-1595, doi:<https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2017.04.007>.

APÊNDICES

Apêndice S1

Table S1. Ingredients and chemical-bromatological composition of the feedlot diet;

Ingredients	(g/kg of DM)
Sugarcane bagasse	90
Tifton-85 hay	30
Ground corn	660.35
Soybean meal	175.3
Urea	3.80
Mineral-vitaminic supplement	37.4
Chemical composition	(g/kg of DM)
Crude Protein	153.4
Neutral Detergent Fiber	256.8
Ether Extract	35.3
DM: Dry Matter	

Apêndice S2

Table S2. Complete list of differentially expressed genes (DEGs) between groups (G1 x G2) at weaning

Gene ID ensembl	Gene symbol	Gene type	log2 FC	P value	FDR	Expression
ENSBTAG00000017280	C3	protein-coding	-2,88718161	3,28E-23	2,35E-19	down
ENSBTAG00000046307	CEBPD	protein-coding	-2,566877263	4,85E-20	2,31E-16	down
ENSBTAG00000021672	RGS1	protein-coding	-2,518130222	7,55E-20	2,70E-16	down
ENSBTAG00000048501	ST8SIA2	protein-coding	2,375477906	2,91E-18	8,32E-15	up
ENSBTAG00000014069	PKD4	protein-coding	-3,342182588	6,36E-18	1,52E-14	down
ENSBTAG00000011121	CLCN4	protein-coding	1,024354349	7,41E-18	1,52E-14	up
ENSBTAG00000004248	MLYCD	protein-coding	-1,897125771	1,47E-17	2,63E-14	down
ENSBTAG00000013242	MYMK	protein-coding	1,475865923	1,68E-17	2,67E-14	up
ENSBTAG00000002834	CCDC69	protein-coding	1,133803659	4,84E-17	6,93E-14	up
ENSBTAG00000022989	FAM174B	protein-coding	1,125965312	6,62E-17	8,62E-14	up
ENSBTAG00000013631	GLUL	protein-coding	-1,545774043	9,04E-17	1,08E-13	down
ENSBTAG00000017956	KCTD15	protein-coding	1,025873817	1,15E-16	1,27E-13	up
ENSBTAG00000013860	GADD45A	protein-coding	-1,966398097	1,71E-16	1,75E-13	down
ENSBTAG00000002783	PCYOX1	protein-coding	0,837936678	6,45E-16	6,15E-13	up
ENSBTAG00000007890	SEC14L5	protein-coding	2,07964646	7,66E-16	6,85E-13	up
ENSBTAG00000021999	CPT1A	protein-coding	-1,700805903	9,44E-16	7,95E-13	down
ENSBTAG00000004118	ALAS1	protein-coding	0,740760051	1,42E-15	1,13E-12	up
ENSBTAG000000046548	ST6GALNAC4	protein-coding	0,863185363	1,12E-14	8,42E-12	up
ENSBTAG00000007578	SHTN1	protein-coding	-1,699762289	2,86E-14	2,05E-11	down
ENSBTAG000000050158	NA	NA	0,867731249	3,00E-14	2,05E-11	up
ENSBTAG00000011909	ACVR1	protein-coding	0,62535742	5,59E-14	3,64E-11	up
ENSBTAG000000012314	LDLR	protein-coding	2,713619863	6,59E-14	4,10E-11	up
ENSBTAG00000015942	DNAI4	protein-coding	1,330841201	6,88E-14	4,11E-11	up
ENSBTAG00000014265	SREBF2	protein-coding	0,909734781	7,25E-14	4,15E-11	up
ENSBTAG000000050852	CXCL9	protein-coding	-2,348000597	7,68E-14	4,23E-11	down
ENSBTAG000000000163	DDIT4	protein-coding	-1,168143523	9,72E-14	5,15E-11	down
ENSBTAG00000011437	SIK1	protein-coding	-1,54764372	1,31E-13	6,69E-11	down
ENSBTAG00000016819	FABP3	protein-coding	1,411449047	1,49E-13	7,36E-11	up
ENSBTAG000000048728	NA	NA	1,369514399	1,58E-13	7,55E-11	up
ENSBTAG000000054628	PMEPA1	protein-coding	0,901141108	2,57E-13	1,19E-10	up
ENSBTAG00000015505	FADS2	protein-coding	1,337692091	3,33E-13	1,49E-10	up
ENSBTAG000000051540	NA	NA	0,810432371	3,91E-13	1,69E-10	up
ENSBTAG000000039190	SLC9A5	protein-coding	1,01730456	4,94E-13	2,08E-10	up
ENSBTAG000000053951	SPX	protein-coding	1,543214361	7,89E-13	3,23E-10	up
ENSBTAG000000009139	LDLRAD4	protein-coding	1,08020193	1,02E-12	4,05E-10	up
ENSBTAG000000046468	ACTBL2	protein-coding	1,670333266	1,12E-12	4,32E-10	up
ENSBTAG000000051860	NA	NA	1,124292448	1,39E-12	5,24E-10	up
ENSBTAG000000039335	ARRDC2	protein-coding	-1,617886611	1,96E-12	7,18E-10	down
ENSBTAG00000018294	DNAH11L3	protein-coding	-2,560923671	2,02E-12	7,23E-10	down
ENSBTAG000000020773	CTSW	protein-coding	-1,478110289	2,51E-12	8,76E-10	down
ENSBTAG00000016060	CREM	protein-coding	-1,41747262	2,62E-12	8,93E-10	down
ENSBTAG00000017718	CCL22	protein-coding	-3,069907623	2,89E-12	9,57E-10	down
ENSBTAG00000005259	UCP3	protein-coding	-1,693284565	2,94E-12	9,57E-10	down
ENSBTAG00000002473	ANGPTL4	protein-coding	-2,677105019	3,36E-12	1,07E-09	down
ENSBTAG00000011196	CIQB	protein-coding	-1,613205323	4,25E-12	1,32E-09	down
ENSBTAG00000008394	MYL3	protein-coding	1,559541659	4,49E-12	1,37E-09	up
ENSBTAG00000007159	ESR1	protein-coding	0,825858185	6,24E-12	1,86E-09	up
ENSBTAG000000030845	MPEG1	protein-coding	-1,395940037	7,17E-12	2,09E-09	down
ENSBTAG000000003329	MEGF10	protein-coding	0,798113835	7,44E-12	2,09E-09	up
ENSBTAG00000003786	GCGR	protein-coding	-2,788629459	7,44E-12	2,09E-09	down
ENSBTAG00000001176	LRRN1	protein-coding	1,17796197	8,01E-12	2,20E-09	up
ENSBTAG00000019669	CD163	protein-coding	-1,799704744	8,21E-12	2,22E-09	down
ENSBTAG000000025258	LOC15676	protein-coding	-1,993771978	9,25E-12	2,43E-09	down
ENSBTAG000000032719	TFRC	protein-coding	1,136473435	9,35E-12	2,43E-09	up
ENSBTAG00000003692	UCP2	protein-coding	-1,135749755	1,04E-11	2,65E-09	down
ENSBTAG000000000092	HIF1AN	protein-coding	0,613708437	1,19E-11	2,98E-09	up
ENSBTAG000000044106	SPIDR	protein-coding	-1,272848512	1,29E-11	3,19E-09	down
ENSBTAG000000046332	ACTA1	protein-coding	1,138015452	1,53E-11	3,71E-09	up
ENSBTAG00000017824	IRF8	protein-coding	-1,278644016	1,90E-11	4,53E-09	down
ENSBTAG000000022294	FADS1	protein-coding	1,52930826	2,29E-11	5,38E-09	up
ENSBTAG000000020632	NQO1	protein-coding	0,783901876	2,59E-11	5,97E-09	up
ENSBTAG000000008913	TMEM98	protein-coding	0,968379079	2,76E-11	6,28E-09	up

ENSBTAG00000010155	LOC504773	protein-coding	-1.411695562	3.03E-11	6.79E-09	down
ENSBTAG00000012777	SRF	protein-coding	0.584704637	3.19E-11	7.02E-09	up
ENSBTAG00000016683	NFKBIA	protein-coding	-0.991603264	4.17E-11	8.94E-09	down
ENSBTAG00000009517	DBI	protein-coding	0.767322876	4.18E-11	8.94E-09	up
ENSBTAG00000021143	DNMT3A	protein-coding	0.591863734	4.42E-11	9.30E-09	up
ENSBTAG00000019110	PNRC1	protein-coding	-0.934340785	5.24E-11	1.08E-08	down
ENSBTAG00000021978	PARVB	protein-coding	0.660723864	5.30E-11	1.08E-08	up
ENSBTAG00000032089	CDC42EP2	protein-coding	1.12374019	5.50E-11	1.11E-08	up
ENSBTAG0000003595	H0XA9	protein-coding	-0.689014174	6.40E-11	1.27E-08	down
ENSBTAG0000002885	MSR1	protein-coding	-1.737760726	1.00E-10	1.96E-08	down
ENSBTAG0000003033	GADD45G	protein-coding	-1.549481504	1.15E-10	2.22E-08	down
ENSBTAG00000007153	CLQA	protein-coding	-1.493387518	1.21E-10	2.30E-08	down
ENSBTAG00000018513	FHL1	protein-coding	0.749352137	1.22E-10	2.30E-08	up
ENSBTAG00000004824	REEP1	protein-coding	0.923141593	1.27E-10	2.37E-08	up
ENSBTAG00000049058	INHBB	protein-coding	1.098704848	1.36E-10	2.50E-08	up
ENSBTAG00000010936	LSS	protein-coding	0.960768516	1.42E-10	2.57E-08	up
ENSBTAG00000004688	DHCR24	protein-coding	1.320771166	1.48E-10	2.66E-08	up
ENSBTAG00000007268	F13A1	protein-coding	-1.290444644	1.66E-10	2.93E-08	down
ENSBTAG00000012919	MMP15	protein-coding	0.812760959	1.85E-10	3.22E-08	up
ENSBTAG00000014005	PIIP5K1	protein-coding	0.575692526	3.13E-10	5.39E-08	up
ENSBTAG00000017528	SNAI3	protein-coding	1.475491458	3.48E-10	5.93E-08	up
ENSBTAG00000018316	ZMYND15	protein-coding	-1.672963626	3.70E-10	6.23E-08	down
ENSBTAG00000054394	NA	NA	0.819614344	3.76E-10	6.25E-08	up
ENSBTAG00000022808	CACUL1	protein-coding	0.696289685	4.21E-10	6.91E-08	up
ENSBTAG00000048228	SNHG12	ncRNA	-0.769296644	4.25E-10	6.91E-08	down
ENSBTAG00000031996	CXCL16	protein-coding	-0.735160431	4.60E-10	7.40E-08	down
ENSBTAG00000020313	FNBP1	protein-coding	-0.653927867	5.58E-10	8.88E-08	down
ENSBTAG00000015214	CA3	protein-coding	0.98625013	5.93E-10	9.32E-08	up
ENSBTAG00000021976	NDUFS1	protein-coding	0.714910092	6.09E-10	9.45E-08	up
ENSBTAG00000001770	ST8SIA5	protein-coding	1.233953001	6.14E-10	9.45E-08	up
ENSBTAG00000031217	MYL6B	protein-coding	1.765015168	6.44E-10	9.80E-08	up
ENSBTAG00000000601	COL11A2	protein-coding	2.2749789	7.72E-10	1.16E-07	up
ENSBTAG00000020060	TXNIP	protein-coding	-0.924738688	8.29E-10	1.24E-07	down
ENSBTAG00000020159	NKAIN1	protein-coding	1.174036619	8.70E-10	1.28E-07	up
ENSBTAG00000005364	HMB5	protein-coding	0.651407645	9.14E-10	1.33E-07	up
ENSBTAG00000017863	SRGN	protein-coding	-0.953723557	9.26E-10	1.34E-07	down
ENSBTAG00000006440	IGDCC4	protein-coding	1.000394634	9.57E-10	1.37E-07	up
ENSBTAG00000008940	NPTX1	protein-coding	-3.023095421	1.04E-09	1.47E-07	down
ENSBTAG00000001078	SRL	protein-coding	0.687623849	1.14E-09	1.60E-07	up
ENSBTAG00000002478	AGMAT	protein-coding	-1.276658252	1.18E-09	1.63E-07	down
ENSBTAG00000012771	CSF1R	protein-coding	-1.264840129	1.19E-09	1.63E-07	down
ENSBTAG00000015405	DCHS1	protein-coding	0.72129315	1.27E-09	1.72E-07	up
ENSBTAG00000019788	TEAD4	protein-coding	0.620847661	1.28E-09	1.72E-07	up
ENSBTAG00000051744	NA	NA	0.841490839	1.42E-09	1.89E-07	up
ENSBTAG00000011659	PIGZ	protein-coding	1.185344552	1.43E-09	1.89E-07	up
ENSBTAG00000011193	CIQC	protein-coding	-1.349635832	1.86E-09	2.44E-07	down
ENSBTAG00000018369	MYL2	protein-coding	0.766297531	2.59E-09	3.37E-07	up
ENSBTAG00000015361	CNTFR	protein-coding	-1.297296833	2.85E-09	3.68E-07	down
ENSBTAG00000046218	KLF11	protein-coding	-1.637595744	3.18E-09	4.03E-07	down
ENSBTAG00000034689	ZNRF1	protein-coding	0.514787813	3.35E-09	4.20E-07	up
ENSBTAG00000017363	SAT1	protein-coding	-0.582996314	3.79E-09	4.72E-07	down
ENSBTAG00000005897	FNTB	protein-coding	-0.937186566	4.12E-09	5.04E-07	down
ENSBTAG00000020737	SOXB	protein-coding	1.126253175	4.46E-09	5.41E-07	up
ENSBTAG00000016345	IL2RB	protein-coding	-0.940005133	4.83E-09	5.80E-07	down
ENSBTAG00000052673	NA	NA	0.811570275	4.86E-09	5.80E-07	up
ENSBTAG00000033217	TPM3	protein-coding	0.636028574	5.07E-09	5.97E-07	up
ENSBTAG00000046333	C6H4orf54	protein-coding	0.981116994	5.09E-09	5.97E-07	up
ENSBTAG00000049190	NA	NA	0.887266666	5.18E-09	6.02E-07	up
ENSBTAG00000004249	TANC2	protein-coding	0.918632659	5.98E-09	6.91E-07	up
ENSBTAG00000015509	NAMPT	protein-coding	-1.001232044	6.53E-09	7.47E-07	down
ENSBTAG00000013341	GYG2	protein-coding	0.854191765	7.42E-09	8.43E-07	up
ENSBTAG00000027654	EIF4EBP1	protein-coding	-0.97456298	7.55E-09	8.51E-07	down
ENSBTAG00000004159	SIX2	protein-coding	1.105736091	7.95E-09	8.89E-07	up
ENSBTAG00000030973	TUBA1D	protein-coding	0.626721074	8.14E-09	8.99E-07	up
ENSBTAG0000003275	NA	NA	0.858045564	8.16E-09	8.99E-07	up

ENSBTAG00000047107	TNIP3	protein-coding	-1,295291186	8,77E-09	9,58E-07	down
ENSBTAG00000053278	NA	NA	0,772361609	9,07E-09	9,84E-07	up
ENSBTAG00000011102	TPCN1	protein-coding	0,910309366	9,16E-09	9,86E-07	up
ENSBTAG00000014898	HK3	protein-coding	-1,251466989	9,49E-09	1,01E-06	down
ENSBTAG00000009663	YBX3	protein-coding	-0,575806838	9,55E-09	1,01E-06	down
ENSBTAG00000003808	HDAC9	protein-coding	0,914051848	9,62E-09	1,01E-06	up
ENSBTAG00000007592	RARG	protein-coding	0,50065408	1,01E-08	1,05E-06	up
ENSBTAG00000054019	NA	NA	0,661772844	1,15E-08	1,19E-06	up
ENSBTAG00000046335	NA	NA	0,663042337	1,18E-08	1,22E-06	up
ENSBTAG00000049122	COL6A5	protein-coding	-2,933867616	1,20E-08	1,23E-06	down
ENSBTAG00000052187	NA	NA	-0,609712094	1,44E-08	1,45E-06	down
ENSBTAG00000011885	NNT	protein-coding	0,622653474	1,45E-08	1,45E-06	up
ENSBTAG00000011982	BATF3	protein-coding	-1,494143122	1,53E-08	1,52E-06	down
ENSBTAG00000004079	ZNF106	protein-coding	0,908917616	1,78E-08	1,75E-06	up
ENSBTAG00000012970	FAM53B	protein-coding	0,539568195	1,83E-08	1,79E-06	up
ENSBTAG00000011843	EEF1G	protein-coding	0,577816627	1,84E-08	1,79E-06	up
ENSBTAG00000030974	TUBA4A	protein-coding	0,624698785	2,10E-08	2,02E-06	up
ENSBTAG00000049408	NA	NA	-1,078251573	2,14E-08	2,04E-06	down
ENSBTAG00000020554	AIF1	protein-coding	-1,12128051	2,24E-08	2,11E-06	down
ENSBTAG00000019623	GRID1	protein-coding	0,760858289	2,54E-08	2,38E-06	up
ENSBTAG00000020050	MLEC	protein-coding	0,718051072	2,84E-08	2,64E-06	up
ENSBTAG00000006233	NIM1K	protein-coding	0,888235945	3,31E-08	3,06E-06	up
ENSBTAG00000002199	CORIN	protein-coding	0,70907678	3,35E-08	3,08E-06	up
ENSBTAG00000001305	ATP2B2	protein-coding	1,39607656	3,42E-08	3,12E-06	up
ENSBTAG00000011392	MYBPC1	protein-coding	0,516487373	3,55E-08	3,19E-06	up
ENSBTAG00000051834	NA	NA	0,510589745	3,68E-08	3,29E-06	up
ENSBTAG00000017719	AKAP6	protein-coding	0,750135699	3,68E-08	3,45E-06	up
ENSBTAG00000009951	PGP	protein-coding	0,669696037	3,92E-08	3,46E-06	up
ENSBTAG00000009115	SPSB4	protein-coding	0,810634149	4,13E-08	3,63E-06	up
ENSBTAG00000006349	EXTL1	protein-coding	1,155592587	4,21E-08	3,67E-06	up
ENSBTAG00000011483	SCARF1	protein-coding	-0,712792856	4,41E-08	3,81E-06	down
ENSBTAG00000017715	HOMER2	protein-coding	0,669315588	4,60E-08	3,94E-06	up
ENSBTAG00000014396	KLF10	protein-coding	-0,950498177	4,93E-08	4,18E-06	down
ENSBTAG00000012228	SEMA4A	protein-coding	-1,159469601	4,93E-08	4,18E-06	down
ENSBTAG00000032051	SULT1C4	protein-coding	-1,293246698	4,97E-08	4,18E-06	down
ENSBTAG00000012509	DYRK1B	protein-coding	0,533224177	5,23E-08	4,37E-06	up
ENSBTAG00000011182	PDUM1	protein-coding	0,652420055	5,28E-08	4,37E-06	up
ENSBTAG00000008240	GALNT15	protein-coding	-1,637316162	5,28E-08	4,37E-06	down
ENSBTAG00000046153	NA	NA	-0,999320432	5,36E-08	4,41E-06	down
ENSBTAG00000007079	LCP1	protein-coding	-0,522197337	5,58E-08	4,57E-06	down
ENSBTAG00000020223	CASQ1	protein-coding	0,669536372	5,85E-08	4,73E-06	up
ENSBTAG00000009631	ZNF683	protein-coding	-1,08903761	5,85E-08	4,73E-06	down
ENSBTAG000000026779	LYZ	protein-coding	-1,298173681	6,22E-08	5,00E-06	down
ENSBTAG00000014583	CALM3	protein-coding	0,652601382	6,31E-08	5,05E-06	up
ENSBTAG00000019146	OSBP2	protein-coding	0,99292305	6,45E-08	5,13E-06	up
ENSBTAG00000055207	SCD	protein-coding	1,35560706	6,68E-08	5,28E-06	up
ENSBTAG00000011400	DBN1	protein-coding	0,658889864	6,79E-08	5,32E-06	up
ENSBTAG00000012259	PNPO	protein-coding	0,695744549	6,81E-08	5,32E-06	up
ENSBTAG00000006561	RASGEF1B	protein-coding	-0,916358453	7,33E-08	5,70E-06	down
ENSBTAG00000047502	FKBP5	protein-coding	-1,555363477	7,71E-08	5,96E-06	down
ENSBTAG00000017069	GASK1B	protein-coding	0,696280568	7,79E-08	5,99E-06	up
ENSBTAG00000008204	CARNMT1	protein-coding	0,72111271	7,92E-08	6,06E-06	up
ENSBTAG00000007090	MYH2	protein-coding	0,796362032	8,84E-08	6,73E-06	up
ENSBTAG00000047412	TNFSF18	protein-coding	1,334703592	9,01E-08	6,79E-06	up
ENSBTAG00000021872	RASGRP1	protein-coding	0,720968957	9,02E-08	6,79E-06	up
ENSBTAG00000036260	LPXN	protein-coding	-1,083849408	9,50E-08	7,12E-06	down
ENSBTAG00000010877	ARMC12	protein-coding	-2,049332701	9,61E-08	7,16E-06	down
ENSBTAG00000018747	PRKAA2	protein-coding	0,658033056	1,01E-07	7,52E-06	up
ENSBTAG00000016240	RNF157	protein-coding	0,527491146	1,07E-07	7,86E-06	up
ENSBTAG00000009159	PLXNA1	protein-coding	0,611246738	1,12E-07	8,20E-06	up
ENSBTAG00000012163	ITGB1BP2	protein-coding	0,665717324	1,14E-07	8,29E-06	up
ENSBTAG00000053969	NA	NA	0,629698026	1,26E-07	9,07E-06	up
ENSBTAG00000001592	INSIG1	protein-coding	1,24680273	1,27E-07	9,14E-06	up
ENSBTAG00000035998	CKB	protein-coding	-1,418030637	1,32E-07	9,42E-06	down
ENSBTAG00000023074	C28H1orf198	protein-coding	0,502510228	1,36E-07	9,71E-06	up

ENSBTAG00000010411	ADAMTS8	protein-coding	2,821314632	1,37E-07	9,71E-06	up
ENSBTAG00000010978	PROX1	protein-coding	0,85532529	1,41E-07	9,93E-06	up
ENSBTAG00000030048	MRC1	protein-coding	-1,213348429	1,44E-07	1,01E-05	down
ENSBTAG00000007450	C2	protein-coding	-1,412846723	1,45E-07	1,01E-05	down
ENSBTAG000000054241	LOC100300896	protein-coding	-1,078263672	1,48E-07	1,03E-05	down
ENSBTAG00000011580	DAG1	protein-coding	0,520630434	1,54E-07	1,07E-05	up
ENSBTAG00000009239	SLC16A10	protein-coding	0,615780741	1,60E-07	1,10E-05	up
ENSBTAG00000046544	SLC7A10	protein-coding	1,10698262	1,81E-07	1,24E-05	up
ENSBTAG00000038889	RILP	protein-coding	-0,514639994	1,87E-07	1,28E-05	down
ENSBTAG00000037765	TNFAIP8L1	protein-coding	0,776727348	2,09E-07	1,40E-05	up
ENSBTAG00000001471	POC1A	protein-coding	-0,716858523	2,20E-07	1,46E-05	down
ENSBTAG00000000894	PGK1	protein-coding	0,767422387	2,24E-07	1,49E-05	up
ENSBTAG00000017509	MYPN	protein-coding	0,526640654	2,33E-07	1,54E-05	up
ENSBTAG00000021669	SOGA1	protein-coding	0,541861557	2,49E-07	1,63E-05	up
ENSBTAG00000024291	FAM71F2	protein-coding	-1,598143247	2,58E-07	1,68E-05	down
ENSBTAG00000002362	APOLD1	protein-coding	-0,952754882	2,59E-07	1,68E-05	down
ENSBTAG00000023600	APOD	protein-coding	-0,519057832	2,70E-07	1,73E-05	down
ENSBTAG000000054721	NA	NA	0,64727468	2,71E-07	1,73E-05	up
ENSBTAG00000011088	SLC6A6	protein-coding	-0,979634214	2,76E-07	1,75E-05	down
ENSBTAG00000047420	BTNL9	protein-coding	-1,120421158	2,91E-07	1,84E-05	down
ENSBTAG00000013306	ZBTB7C	protein-coding	0,601006247	3,45E-07	2,17E-05	up
ENSBTAG00000005498	SQLF	protein-coding	0,999112079	3,54E-07	2,19E-05	up
ENSBTAG000000053570	NA	NA	0,541326238	3,71E-07	2,29E-05	up
ENSBTAG00000014387	PRKAB2	protein-coding	0,651602908	3,73E-07	2,29E-05	up
ENSBTAG00000034366	RGS2	protein-coding	-1,02238794	3,83E-07	2,33E-05	down
ENSBTAG00000010361	DLL4	protein-coding	0,837377651	3,84E-07	2,33E-05	up
ENSBTAG00000019079	PLCB2	protein-coding	-1,06307285	3,93E-07	2,37E-05	down
ENSBTAG00000004792	CHMP4C	protein-coding	0,63610589	3,94E-07	2,37E-05	up
ENSBTAG00000007665	NPR3	protein-coding	1,844228383	3,96E-07	2,37E-05	up
ENSBTAG000000005871	MECOM	protein-coding	0,60233278	3,98E-07	2,37E-05	up
ENSBTAG00000007439	TENM4	protein-coding	1,146696029	4,12E-07	2,44E-05	up
ENSBTAG00000027246	UBD	protein-coding	-0,945770564	4,42E-07	2,61E-05	down
ENSBTAG00000016775	SLC27A1	protein-coding	0,515673662	4,61E-07	2,70E-05	up
ENSBTAG00000012451	BOLA-DM8	protein-coding	-0,589499864	4,64E-07	2,70E-05	down
ENSBTAG00000014357	SDC2	protein-coding	0,61025531	4,65E-07	2,70E-05	up
ENSBTAG00000008735	VASH1	protein-coding	1,100227535	4,73E-07	2,74E-05	up
ENSBTAG000000001003	CKMT2	protein-coding	0,5873481	4,76E-07	2,74E-05	up
ENSBTAG00000008063	PPARA	protein-coding	0,780455815	4,78E-07	2,74E-05	up
ENSBTAG000000021508	LMOD3	protein-coding	0,560284777	4,81E-07	2,74E-05	up
ENSBTAG00000000804	MOB3B	protein-coding	-0,738526726	4,81E-07	2,74E-05	down
ENSBTAG000000050863	NA	NA	-1,600682568	5,02E-07	2,84E-05	down
ENSBTAG000000004177	TANC1	protein-coding	0,506744996	5,05E-07	2,85E-05	up
ENSBTAG000000053775	NA	NA	-0,663852188	5,47E-07	3,06E-05	down
ENSBTAG000000010994	CTSF	protein-coding	-0,57990403	5,48E-07	3,06E-05	down
ENSBTAG000000006817	CBL	protein-coding	0,698807042	5,79E-07	3,23E-05	up
ENSBTAG00000013004	ITIH5	protein-coding	0,585167761	5,82E-07	3,23E-05	up
ENSBTAG000000020219	MSS51	protein-coding	0,831812503	6,33E-07	3,49E-05	up
ENSBTAG000000053812	NA	NA	0,939347031	6,52E-07	3,58E-05	up
ENSBTAG000000048488	NA	NA	0,55929227	6,93E-07	3,79E-05	up
ENSBTAG00000001842	GSTM3	protein-coding	-1,264616003	7,04E-07	3,83E-05	down
ENSBTAG00000017081	MIEF2	protein-coding	0,56627132	7,63E-07	4,11E-05	up
ENSBTAG00000040347	GPC6	protein-coding	-0,579715473	7,64E-07	4,11E-05	down
ENSBTAG00000033679	HLCS	protein-coding	0,55394624	7,69E-07	4,12E-05	up
ENSBTAG000000004564	MBNL1	protein-coding	-0,527023505	8,07E-07	4,31E-05	down
ENSBTAG00000019574	MAPK12	protein-coding	-0,541852503	8,19E-07	4,34E-05	down
ENSBTAG00000018594	LIN37	protein-coding	-0,515692403	8,29E-07	4,38E-05	down
ENSBTAG00000003066	NSA2	protein-coding	-0,556537205	8,35E-07	4,39E-05	down
ENSBTAG00000016991	EFNB2	protein-coding	0,593755967	8,40E-07	4,40E-05	up
ENSBTAG000000054218	IGFBP5	protein-coding	1,086494129	8,91E-07	4,64E-05	up
ENSBTAG00000002515	TNNI3	protein-coding	1,374718534	9,07E-07	4,70E-05	up
ENSBTAG00000018572	FLT3	protein-coding	-1,617944958	9,34E-07	4,81E-05	down
ENSBTAG00000023289	SLC26A10	protein-coding	-0,68668429	9,35E-07	4,81E-05	down
ENSBTAG000000047155	C28H10orf71	protein-coding	0,547880705	9,54E-07	4,89E-05	up
ENSBTAG000000025210	COL4A2	protein-coding	0,539011543	1,03E-06	5,24E-05	up
ENSBTAG000000002203	NDUF52	protein-coding	0,502410194	1,07E-06	5,44E-05	up

ENSBTAG00000006619	MATK	protein-coding	-1,02088975	1,12E-06	5,68E-05	down
ENSBTAG00000019900	LNPEP	protein-coding	0,657558845	1,13E-06	5,68E-05	up
ENSBTAG00000022255	AR	protein-coding	0,87727431	1,13E-06	5,68E-05	up
ENSBTAG00000052746	NA	NA	0,892864689	1,13E-06	5,68E-05	up
ENSBTAG00000039080	SLC22A3	protein-coding	-1,842888551	1,16E-06	5,74E-05	down
ENSBTAG00000013496	CPM	protein-coding	-0,780241989	1,18E-06	5,83E-05	down
ENSBTAG00000008688	HEYL	protein-coding	0,507701808	1,22E-06	6,01E-05	up
ENSBTAG00000003074	SLC16A6	protein-coding	-1,281475595	1,22E-06	6,01E-05	down
ENSBTAG00000001725	CXCL10	protein-coding	-1,339962918	1,23E-06	6,05E-05	down
ENSBTAG000000011500	CASQ2	protein-coding	1,121365175	1,30E-06	6,34E-05	up
ENSBTAG000000011338	NREP	protein-coding	0,809988467	1,34E-06	6,51E-05	up
ENSBTAG00000000895	TAF9B	protein-coding	0,690465058	1,36E-06	6,56E-05	up
ENSBTAG000000019121	IFT122	protein-coding	0,579911135	1,44E-06	6,93E-05	up
ENSBTAG000000016048	CPT1B	protein-coding	-0,635590912	1,45E-06	6,95E-05	down
ENSBTAG000000046122	NRARP	protein-coding	0,932489986	1,49E-06	7,11E-05	up
ENSBTAG000000003889	PER1	protein-coding	-0,808053091	1,52E-06	7,18E-05	down
ENSBTAG000000038238	LOC101902340	pseudo	0,930646289	1,53E-06	7,21E-05	up
ENSBTAG000000017256	CD2	protein-coding	-1,001744326	1,79E-06	8,30E-05	down
ENSBTAG000000017071	CIQTNF3	protein-coding	0,850462324	1,92E-06	8,92E-05	up
ENSBTAG000000033367	DDO	protein-coding	-0,769745366	2,13E-06	9,78E-05	down
ENSBTAG000000038844	ANKRD35	protein-coding	0,771324698	2,14E-06	9,78E-05	up
ENSBTAG000000037500	MIR1842	ncRNA	0,604131238	2,18E-06	9,86E-05	up
ENSBTAG000000020141	FREM1	protein-coding	0,729847386	2,18E-06	9,86E-05	up
ENSBTAG000000007506	CACNG7	protein-coding	1,289468375	2,22E-06	0,000100172	up
ENSBTAG000000014465	SERPINE1	protein-coding	-1,072072097	2,23E-06	0,000100172	down
ENSBTAG000000027676	IL18BP	protein-coding	-0,697751975	2,32E-06	0,00010381	down
ENSBTAG000000017938	LOC112449293	protein-coding	1,390693488	2,34E-06	0,000104395	up
ENSBTAG000000015769	VSI64	protein-coding	-1,783446589	2,36E-06	0,000104609	down
ENSBTAG0000000001193	UNC93B1	protein-coding	-0,67619997	2,39E-06	0,000105635	down
ENSBTAG000000054808	MT1A	protein-coding	-2,177883684	2,55E-06	0,00011104	down
ENSBTAG000000007635	PLCL1	protein-coding	0,533301754	2,59E-06	0,000112111	up
ENSBTAG000000020126	MYO10	protein-coding	0,574504417	2,63E-06	0,000113922	up
ENSBTAG000000048959	LOC786372	protein-coding	-0,800236072	2,65E-06	0,000114252	down
ENSBTAG000000034885	RGCC	protein-coding	-0,760366526	2,68E-06	0,000115285	down
ENSBTAG000000015996	GPC1	protein-coding	0,508266831	2,78E-06	0,000119135	up
ENSBTAG000000054012	NA	NA	0,579258889	2,89E-06	0,000122644	up
ENSBTAG000000006491	AGL	protein-coding	0,661917526	2,90E-06	0,000122644	up
ENSBTAG000000016396	PDE11A	protein-coding	1,275252683	2,96E-06	0,000124698	up
ENSBTAG000000013337	DHDH	protein-coding	0,777316128	2,97E-06	0,000124698	up
ENSBTAG000000050644	NA	NA	-0,522668402	3,09E-06	0,000129495	down
ENSBTAG000000012263	ASAP3	protein-coding	0,663540409	3,33E-06	0,000145635	up
ENSBTAG000000040190	CCDC88B	protein-coding	-1,095421581	3,33E-06	0,000145635	down
ENSBTAG000000054895	LOC112445469	pseudo	-1,326590595	3,54E-06	0,000145635	down
ENSBTAG000000006793	RNASE1	protein-coding	-0,934752751	3,62E-06	0,000147854	down
ENSBTAG000000047449	LOC104958634	protein-coding	-0,952496382	3,65E-06	0,000149012	down
ENSBTAG0000000001197	SLAMF7	protein-coding	-0,932931335	3,70E-06	0,000150415	down
ENSBTAG000000030426	LOC100848575	protein-coding	-0,909223443	3,71E-06	0,000150415	down
ENSBTAG000000051972	CEBPB	protein-coding	-0,597635996	3,87E-06	0,000155812	down
ENSBTAG000000006419	TNNT1	protein-coding	0,556128912	3,97E-06	0,000158525	up
ENSBTAG000000021474	GSDMD	protein-coding	-0,603847621	3,98E-06	0,00015869	down
ENSBTAG000000006739	SAMD11	protein-coding	0,817800583	4,15E-06	0,000164521	up
ENSBTAG000000004742	RUNX1	protein-coding	-0,982364477	4,23E-06	0,00016728	down
ENSBTAG0000000001061	PRKCA	protein-coding	0,579840529	4,24E-06	0,00016735	up
ENSBTAG000000018167	NA	NA	0,652841431	4,64E-06	0,00018088	up
ENSBTAG000000008437	PCDH12	protein-coding	1,1501743	4,80E-06	0,000186076	up
ENSBTAG000000017616	ADSS1	protein-coding	0,56203486	4,88E-06	0,000188619	up
ENSBTAG000000010507	SLC22A16	protein-coding	-1,019488707	4,97E-06	0,000191074	down
ENSBTAG000000048699	NA	NA	-1,072346968	5,08E-06	0,00019449	down
ENSBTAG000000018082	QPR1	protein-coding	1,182007814	5,14E-06	0,000196065	up
ENSBTAG000000009703	MYH7	protein-coding	0,59904503	5,19E-06	0,000197431	up
ENSBTAG000000025136	MYO23	protein-coding	0,610103677	5,32E-06	0,000201695	up
ENSBTAG000000052443	NA	NA	0,704141496	5,33E-06	0,000201695	up
ENSBTAG000000012135	LARP1B	protein-coding	0,603298316	5,44E-06	0,0002055	up
ENSBTAG000000012322	INKA1	protein-coding	0,613280883	5,58E-06	0,000209534	up
ENSBTAG000000001063	H0XA4	protein-coding	-0,678674482	5,58E-06	0,000209534	down

ENSBTAG00000010442	PANK1	protein-coding	0,806082761	5,59E-06	0,000209534	up
ENSBTAG00000021141	CD8A	protein-coding	-1,027907929	5,61E-06	0,000209646	down
ENSBTAG0000001051	NA	NA	-0,969153393	5,68E-06	0,000211668	down
ENSBTAG00000027684	FOLR2	protein-coding	-1,268654564	5,84E-06	0,000217195	down
ENSBTAG00000051102	KCNK3	protein-coding	-1,643575396	5,90E-06	0,000218089	down
ENSBTAG00000037921	OVCH2	protein-coding	1,101635749	6,15E-06	0,000225528	up
ENSBTAG00000012007	SOC52	protein-coding	-0,659515437	6,15E-06	0,000225528	down
ENSBTAG00000038735	LHB	protein-coding	0,822296649	6,18E-06	0,000225528	up
ENSBTAG00000002037	ATXN7L1	protein-coding	-0,675654061	6,21E-06	0,000226237	down
ENSBTAG00000012969	DKK2	protein-coding	1,039122038	6,38E-06	0,000231329	up
ENSBTAG00000027151	ARHGAP26	protein-coding	-0,644735553	6,62E-06	0,000237333	down
ENSBTAG00000020602	IDO1	protein-coding	-0,808562232	6,63E-06	0,000237333	down
ENSBTAG00000053365	CD300E	protein-coding	-1,58047718	6,92E-06	0,000246209	down
ENSBTAG00000052404	NA	NA	0,715202202	7,12E-06	0,000252221	up
ENSBTAG00000019033	CD84	protein-coding	-1,083105584	7,25E-06	0,00025626	down
ENSBTAG00000003219	NA	NA	0,587749392	7,52E-06	0,000263888	up
ENSBTAG00000017871	GNA12	protein-coding	0,649295549	8,26E-06	0,000284985	up
ENSBTAG00000006579	P4HA3	protein-coding	-1,577620254	8,38E-06	0,00028821	down
ENSBTAG00000014466	VTCN1	protein-coding	0,85992335	8,46E-06	0,000289545	up
ENSBTAG00000053898	NA	NA	0,965658708	8,80E-06	0,000300654	up
ENSBTAG00000052514	LOC100336869	protein-coding	-1,168134665	9,09E-06	0,000308374	down
ENSBTAG00000009417	ZFAND5	protein-coding	-0,630227874	9,26E-06	0,000310923	down
ENSBTAG00000010284	ETNPPL	protein-coding	0,658438032	9,30E-06	0,00031103	up
ENSBTAG00000010943	SLC22A23	protein-coding	0,548171478	9,30E-06	0,00031103	up
ENSBTAG00000032140	SBR1	protein-coding	0,925801371	9,59E-06	0,000319808	up
ENSBTAG00000021310	NA	NA	1,00916434	9,85E-06	0,000326871	up
ENSBTAG00000017994	MAX	protein-coding	-0,668194114	9,87E-06	0,000326871	down
ENSBTAG00000008294	KCNJ2	protein-coding	0,548945504	1,01E-05	0,000333737	up
ENSBTAG00000045943	CHRNA5	protein-coding	0,870669361	1,01E-05	0,000334377	up
ENSBTAG00000006752	PFKFB4	protein-coding	-0,724970203	1,03E-05	0,000338381	down
ENSBTAG00000011810	ANGPTL2	protein-coding	-0,503131891	1,04E-05	0,000339855	down
ENSBTAG00000012757	GCNT1	protein-coding	-0,699478862	1,08E-05	0,000352305	down
ENSBTAG00000008535	SOC57	protein-coding	0,55979153	1,10E-05	0,000358325	up
ENSBTAG00000036028	BEX2	protein-coding	0,739768784	1,13E-05	0,000365119	up
ENSBTAG00000010637	ARSG	protein-coding	-1,170316087	1,14E-05	0,000366878	down
ENSBTAG00000052982	NA	NA	0,746058654	1,17E-05	0,000375855	up
ENSBTAG00000045604	TTC9	protein-coding	-0,626420674	1,18E-05	0,000377953	down
ENSBTAG00000009206	FOXK1	protein-coding	-0,698172008	1,21E-05	0,000385485	down
ENSBTAG00000032292	CCDC159	protein-coding	1,071478101	1,23E-05	0,000390024	up
ENSBTAG00000048650	NA	NA	0,830411172	1,25E-05	0,000394749	up
ENSBTAG00000011803	MYH3	protein-coding	0,643503208	1,27E-05	0,000397905	up
ENSBTAG00000021045	E2F3	protein-coding	0,523972019	1,28E-05	0,000398847	up
ENSBTAG00000018723	SLC25A34	protein-coding	-0,575373631	1,28E-05	0,000400198	down
ENSBTAG00000004048	MCHR1	protein-coding	-1,0195736	1,30E-05	0,000405243	down
ENSBTAG00000001465	P2RY1	protein-coding	0,814819923	1,32E-05	0,000410015	up
ENSBTAG00000005604	POPOC2	protein-coding	0,764306041	1,35E-05	0,000416408	up
ENSBTAG00000008061	RILPL1	protein-coding	-0,595803682	1,35E-05	0,000416408	down
ENSBTAG00000026408	NA	NA	0,632110003	1,36E-05	0,000419766	up
ENSBTAG00000018349	IFI30	protein-coding	-0,986621702	1,38E-05	0,000425216	down
ENSBTAG00000021048	ADM	protein-coding	-0,609995557	1,40E-05	0,000430443	down
ENSBTAG00000052455	MIR12056	ncRNA	0,658817981	1,41E-05	0,0004312	up
ENSBTAG00000003015	SESN1	protein-coding	-0,692521854	1,41E-05	0,0004312	down
ENSBTAG00000009839	GSTK1	protein-coding	0,532303387	1,45E-05	0,00043887	up
ENSBTAG00000014229	SYT17	protein-coding	0,974315901	1,47E-05	0,000443187	up
ENSBTAG00000010366	HCRTR1	protein-coding	-0,998579051	1,49E-05	0,000445345	down
ENSBTAG00000023429	PLS1	protein-coding	0,718343153	1,51E-05	0,000448392	up
ENSBTAG00000052359	NA	NA	0,540575	1,52E-05	0,000449465	up
ENSBTAG00000050535	ZNF385D	protein-coding	0,700207127	1,59E-05	0,000466216	up
ENSBTAG00000007417	GDF11	protein-coding	0,726028949	1,59E-05	0,000466216	up
ENSBTAG00000000575	TNC	protein-coding	-1,271716175	1,64E-05	0,000478815	down
ENSBTAG00000001060	CXCR4	protein-coding	0,660429378	1,65E-05	0,000479651	up
ENSBTAG00000020330	BTG1	protein-coding	-0,687737675	1,65E-05	0,000479651	down
ENSBTAG00000007281	SEMA6C	protein-coding	0,788513115	1,70E-05	0,00049173	up
ENSBTAG00000033315	DNAJC1	protein-coding	-0,514657593	1,70E-05	0,00049173	down
ENSBTAG00000008006	RASGRP3	protein-coding	0,602796676	1,71E-05	0,000493513	up

ENSBTAG00000019203	S100A4	protein-coding	-0,75117395	1,72E-05	0,000494415	down
ENSBTAG00000020829	PTPRK	protein-coding	-0,582451091	1,73E-05	0,00049485	down
ENSBTAG00000008409	MYC	protein-coding	-0,835378744	1,80E-05	0,000514197	down
ENSBTAG00000005666	LRRC20	protein-coding	0,545538626	1,84E-05	0,000522247	up
ENSBTAG000000050967	AADAT	protein-coding	0,509152564	1,89E-05	0,000534301	up
ENSBTAG00000023028	WDFY4	protein-coding	-0,584708104	1,96E-05	0,000548171	down
ENSBTAG000000047755	FNDC10	protein-coding	0,842276262	1,97E-05	0,000548171	up
ENSBTAG00000019901	RAD54L	protein-coding	0,973531598	1,98E-05	0,000551851	up
ENSBTAG00000015386	REL	protein-coding	0,841546454	1,99E-05	0,000554294	up
ENSBTAG00000027181	LAMA3	protein-coding	0,619570184	2,03E-05	0,000563385	up
ENSBTAG00000015681	RGR	protein-coding	2,912751715	2,12E-05	0,000583654	up
ENSBTAG00000010742	PKD2L1	protein-coding	1,500166177	2,13E-05	0,000584302	up
ENSBTAG00000013573	BIRC5	protein-coding	0,834231886	2,15E-05	0,000590206	up
ENSBTAG00000009341	CCDC146	protein-coding	-0,520090387	2,17E-05	0,000592754	down
ENSBTAG00000015339	ENDOV	protein-coding	-0,961440535	2,23E-05	0,000606049	down
ENSBTAG00000000995	TENT5A	protein-coding	-0,747505205	2,25E-05	0,000610779	down
ENSBTAG00000012060	LPIN2	protein-coding	0,558469319	2,26E-05	0,000610779	up
ENSBTAG00000016801	RXRG	protein-coding	0,646399783	2,32E-05	0,000626078	up
ENSBTAG000000003177	SLC25A33	protein-coding	-0,897301355	2,34E-05	0,000628362	down
ENSBTAG00000008169	C24H18orf54	protein-coding	-0,562252422	2,34E-05	0,000629418	down
ENSBTAG000000045862	FERMT3	protein-coding	-0,651349517	2,36E-05	0,000632002	down
ENSBTAG00000003221	CCDC152	protein-coding	-0,680010115	2,37E-05	0,000633956	down
ENSBTAG00000012519	XDH	protein-coding	-0,777670991	2,41E-05	0,000640982	down
ENSBTAG000000050392	FAM171B	protein-coding	-0,836475628	2,61E-05	0,000688193	down
ENSBTAG000000054688	SOX7	protein-coding	0,50522845	2,64E-05	0,000694014	up
ENSBTAG000000052707	NA	NA	0,601508034	2,65E-05	0,000694624	up
ENSBTAG000000004735	CCNE1	protein-coding	0,578765427	2,69E-05	0,000702752	up
ENSBTAG00000009733	FBP1	protein-coding	-1,259915628	2,77E-05	0,000713574	down
ENSBTAG00000002894	TNFSF4	protein-coding	1,027336952	2,78E-05	0,000714233	up
ENSBTAG00000001881	SLC10A1	protein-coding	-0,728508219	2,78E-05	0,000714233	down
ENSBTAG00000002092	PI16	protein-coding	0,709610823	2,79E-05	0,000715533	up
ENSBTAG000000046158	CFB	protein-coding	-1,382319953	2,79E-05	0,000715533	down
ENSBTAG000000017450	KLHL24	protein-coding	0,543558682	2,88E-05	0,000735558	up
ENSBTAG000000051111	NA	NA	0,757147145	3,02E-05	0,000765181	up
ENSBTAG000000004126	MLF1	protein-coding	0,531620407	3,05E-05	0,000768421	up
ENSBTAG000000005048	DHRS7C	protein-coding	0,590264746	3,07E-05	0,000772598	up
ENSBTAG00000017223	MEST	protein-coding	0,762736504	3,10E-05	0,000778924	up
ENSBTAG000000050334	CD83	protein-coding	-1,020170588	3,22E-05	0,00080554	down
ENSBTAG00000002699	KIT	protein-coding	0,682341427	3,25E-05	0,000811288	up
ENSBTAG000000033731	PRCP	protein-coding	0,52739454	3,28E-05	0,000817993	up
ENSBTAG000000052838	NA	NA	0,648688023	3,34E-05	0,000832133	up
ENSBTAG000000008954	PSMB9	protein-coding	-0,538249645	3,35E-05	0,0008324	down
ENSBTAG000000004394	PKIB	protein-coding	-1,036862662	3,39E-05	0,000840448	down
ENSBTAG000000052248	NA	NA	0,567552707	3,48E-05	0,000858339	up
ENSBTAG000000049855	NA	NA	-0,697424482	3,49E-05	0,000868083	down
ENSBTAG000000008571	CUX2	protein-coding	1,099640718	3,58E-05	0,000879053	up
ENSBTAG000000022169	PREX2	protein-coding	0,501638065	3,61E-05	0,000879545	up
ENSBTAG00000010849	ANKRD23	protein-coding	0,540686997	3,61E-05	0,000879545	up
ENSBTAG000000002983	NTSC1A	protein-coding	0,665503991	3,62E-05	0,000879545	up
ENSBTAG00000010760	REV3L	protein-coding	-0,525981856	3,65E-05	0,000884532	down
ENSBTAG000000020696	HECW2	protein-coding	0,630570046	3,78E-05	0,000911642	up
ENSBTAG000000020037	CYB5RL	protein-coding	0,607513972	3,81E-05	0,000918521	up
ENSBTAG000000051082	DST	protein-coding	0,502457658	3,98E-05	0,000955208	up
ENSBTAG00000004862	TUB	protein-coding	0,869665875	4,00E-05	0,000957184	up
ENSBTAG000000050493	NA	NA	-0,701417567	4,00E-05	0,000957184	down
ENSBTAG000000021073	KIAA1549	protein-coding	0,649160802	4,08E-05	0,000971562	up
ENSBTAG00000009353	EVI2B	protein-coding	-0,78269647	4,09E-05	0,000971805	down
ENSBTAG000000039196	LOC510860	protein-coding	-1,638872386	4,14E-05	0,000976444	down
ENSBTAG00000010138	SEMA3B	protein-coding	-0,616830917	4,14E-05	0,000976444	down
ENSBTAG00000014831	PPP1R3C	protein-coding	0,993613778	4,15E-05	0,000976444	up
ENSBTAG000000044606	MIR2382	ncRNA	0,582217743	4,16E-05	0,000976444	up
ENSBTAG00000013666	SLC25A29	protein-coding	0,599551237	4,17E-05	0,000977842	up
ENSBTAG00000019230	PTGER3	protein-coding	-1,863746627	4,20E-05	0,000982445	down
ENSBTAG000000036127	AS3MT	protein-coding	0,585022946	4,64E-05	0,01070411	up
ENSBTAG00000008636	PDE4B	protein-coding	-0,665427843	4,66E-05	0,01073338	down

ENSBTAG00000014224	IGSF98	protein-coding	1,415607868	4,67E-05	0,0010746	up
ENSBTAG00000009846	MTHFD1L	protein-coding	-0,723901783	4,79E-05	0,00109641	down
ENSBTAG00000051103	NA	NA	0,706855996	4,80E-05	0,001098127	up
ENSBTAG00000012738	ZNF827	protein-coding	0,732178506	4,85E-05	0,00110682	up
ENSBTAG00000026326	SPN	protein-coding	-0,745972221	4,95E-05	0,001125371	down
ENSBTAG00000018248	MGLL	protein-coding	-0,550457719	5,02E-05	0,001139738	down
ENSBTAG00000049378	NA	NA	1,079973298	5,05E-05	0,001142749	up
ENSBTAG00000007668	AGPAT4	protein-coding	0,875617236	5,06E-05	0,00114509	up
ENSBTAG00000008714	CLSTN2	protein-coding	0,68149513	5,25E-05	0,00118341	up
ENSBTAG00000051237	NA	NA	-1,083490031	5,31E-05	0,00119432	down
ENSBTAG00000002096	FCGR3A	protein-coding	-0,866365674	5,33E-05	0,001196628	down
ENSBTAG000000009634	HOXC5	protein-coding	0,94843252	5,53E-05	0,001235352	up
ENSBTAG00000016711	PPIF	protein-coding	0,735148389	5,53E-05	0,001235352	up
ENSBTAG00000011622	C24H18orf21	protein-coding	-0,660727449	5,62E-05	0,001245593	down
ENSBTAG00000049909	AGBL1	protein-coding	0,732403446	5,63E-05	0,001245692	up
ENSBTAG00000017752	DYNLRB2	protein-coding	-1,043102501	5,89E-05	0,001292582	down
ENSBTAG00000003341	DOK2	protein-coding	-0,917809229	6,01E-05	0,001315346	down
ENSBTAG00000032899	NA	NA	0,688624238	6,04E-05	0,00131726	up
ENSBTAG00000021173	CCDC134	protein-coding	0,644764973	6,13E-05	0,001328479	up
ENSBTAG00000054018	NA	NA	-1,084951598	6,15E-05	0,00133156	down
ENSBTAG00000010389	STBD1	protein-coding	0,562405253	6,26E-05	0,001347233	up
ENSBTAG00000013017	GNAT2	protein-coding	0,501778931	6,35E-05	0,001362738	up
ENSBTAG00000047621	NA	NA	-1,090195903	6,56E-05	0,001404714	down
ENSBTAG00000011766	C7	protein-coding	-0,598385352	6,81E-05	0,001447603	down
ENSBTAG00000000604	GNPMB	protein-coding	-1,600928143	6,86E-05	0,001455219	down
ENSBTAG00000038700	FAM124B	protein-coding	0,985017777	6,87E-05	0,001455219	up
ENSBTAG00000008592	FCGR1A	protein-coding	-1,129120105	6,87E-05	0,001455219	down
ENSBTAG00000008401	PFKFB3	protein-coding	-1,330827236	7,09E-05	0,001493902	down
ENSBTAG00000004361	ZBTB37	protein-coding	0,724395962	7,15E-05	0,00150507	up
ENSBTAG00000014555	CASS4	protein-coding	-1,234110525	7,24E-05	0,001521883	down
ENSBTAG00000009844	CCN1	protein-coding	-0,738894768	7,33E-05	0,001535925	down
ENSBTAG00000000917	BMP1	protein-coding	0,502717241	7,35E-05	0,001537569	up
ENSBTAG00000021263	CYP4V2	protein-coding	-0,53843528	7,46E-05	0,00155767	down
ENSBTAG00000004468	BARX1	protein-coding	0,974709146	7,55E-05	0,001573259	up
ENSBTAG00000029906	MIR133A-2	ncRNA	0,701854331	7,67E-05	0,001593039	up
ENSBTAG00000002024	ASB18	protein-coding	0,709015102	7,87E-05	0,001624298	up
ENSBTAG00000015326	GSDME	protein-coding	-0,613026318	7,96E-05	0,001635375	down
ENSBTAG00000039340	SCN4B	protein-coding	0,789257288	8,25E-05	0,001688114	up
ENSBTAG00000011238	CD48	protein-coding	-0,680092987	8,34E-05	0,001704436	down
ENSBTAG00000014548	NIBAN1	protein-coding	0,507633186	8,37E-05	0,001707174	up
ENSBTAG00000003650	NR4A2	protein-coding	-0,871856552	8,60E-05	0,001746713	down
ENSBTAG00000017187	TMEM255A	protein-coding	-0,783945237	8,68E-05	0,001755415	down
ENSBTAG000000050876	NA	NA	0,657708255	9,02E-05	0,001807046	up
ENSBTAG00000015821	AMPD3	protein-coding	-1,107446692	9,10E-05	0,001813257	down
ENSBTAG00000037778	CXCL3	protein-coding	-0,907228935	9,12E-05	0,001815674	down
ENSBTAG00000000246	ME3	protein-coding	-0,650599623	9,22E-05	0,001829933	down
ENSBTAG00000051012	LOC104973829	ncRNA	1,565281671	9,56E-05	0,001894173	up
ENSBTAG00000002965	NEURL3	protein-coding	-1,162100788	9,61E-05	0,001895084	down
ENSBTAG000000002574	MYO22	protein-coding	0,620543837	9,62E-05	0,001895084	up
ENSBTAG00000006260	KIAA1614	protein-coding	0,553681759	9,63E-05	0,001895084	up
ENSBTAG00000052788	NA	NA	0,845600929	9,64E-05	0,001895852	up
ENSBTAG00000015739	MRC2	protein-coding	0,556053933	9,71E-05	0,00190588	up
ENSBTAG00000019533	ADTRP	protein-coding	0,791054817	9,83E-05	0,001926836	up
ENSBTAG00000011241	HPDL	protein-coding	1,431119642	9,99E-05	0,001953133	up
ENSBTAG00000051072	AQP4	protein-coding	1,084635553	9,99E-05	0,001953133	up
ENSBTAG00000019378	KIAA1755	protein-coding	-0,694952515	0,000100965	0,001967985	down
ENSBTAG00000053677	HERC1	protein-coding	0,533814575	0,000102308	0,001989308	up
ENSBTAG00000015656	WSCD1	protein-coding	0,581874741	0,000102777	0,001993661	up
ENSBTAG00000008605	DNAH2	protein-coding	0,893891396	0,000103338	0,002001169	up
ENSBTAG00000021971	SNCAIP	protein-coding	0,581030412	0,000104243	0,002013252	up
ENSBTAG00000050626	NA	NA	0,752094475	0,0001082	0,00207702	up
ENSBTAG00000007823	TG	protein-coding	-0,752809107	0,000111005	0,002115295	down
ENSBTAG00000012815	CLEC12A	protein-coding	-1,136968262	0,000115142	0,002175485	down
ENSBTAG00000016768	SCN3B	protein-coding	-1,2874549	0,000118251	0,002226691	down
ENSBTAG00000000570	RET	protein-coding	-0,679687219	0,000118811	0,002234301	down

ENSBTAG00000050446	NA	NA	0.809465599	0.000125007	0.002329389	up
ENSBTAG0000006957	SLC24B	protein-coding	-0.731933878	0.000127611	0.002365684	down
ENSBTAG00000020739	NXT2	protein-coding	-0.603723984	0.000130857	0.002413275	down
ENSBTAG00000051245	SOX4	protein-coding	0.819254421	0.000134191	0.002453058	up
ENSBTAG00000047827	REBP	protein-coding	-0.861110017	0.000134386	0.002453058	down
ENSBTAG00000011644	THSD4	protein-coding	0.54432921	0.000136827	0.002493846	up
ENSBTAG00000021041	PRAM1	protein-coding	-0.783568547	0.000136969	0.002493846	down
ENSBTAG00000011545	GDA	protein-coding	-0.521004561	0.000142191	0.002572561	down
ENSBTAG00000015980	FASN	protein-coding	0.948491304	0.000144693	0.002607446	up
ENSBTAG00000021487	CIART	protein-coding	-0.843060244	0.000144848	0.002607446	down
ENSBTAG00000013235	TINAGL1	protein-coding	-0.557171758	0.000146431	0.00262933	down
ENSBTAG00000054349	NA	NA	0.512257414	0.000148091	0.00265247	up
ENSBTAG00000008583	PALD1	protein-coding	0.636614213	0.000149261	0.002670091	up
ENSBTAG00000013205	IL1RAP	protein-coding	-0.855130242	0.000150292	0.002685177	down
ENSBTAG00000004849	IGSF3	protein-coding	0.532158625	0.000153232	0.0027241	up
ENSBTAG00000052600	NA	NA	0.949373079	0.000154355	0.002737239	up
ENSBTAG00000011788	CXHXorf38	protein-coding	0.571055913	0.000156986	0.002777035	up
ENSBTAG00000048075	IGSF23	protein-coding	0.604409468	0.000158941	0.002797798	up
ENSBTAG00000011359	CD7	protein-coding	-1.026546469	0.000160767	0.002816087	down
ENSBTAG00000021249	LAT	protein-coding	-0.741572379	0.000162853	0.002845647	down
ENSBTAG00000001462	FLT4	protein-coding	0.848849247	0.000163443	0.002849574	up
ENSBTAG000000046121	LOC100196897	protein-coding	1.332685889	0.000163476	0.002849574	up
ENSBTAG00000049004	NA	NA	-0.743335673	0.000163816	0.002852036	down
ENSBTAG00000019567	IL21R	protein-coding	-0.980320598	0.000165634	0.002876679	down
ENSBTAG00000037951	KLHL6	protein-coding	0.970457075	0.000178568	0.003071491	up
ENSBTAG00000009287	EBP	protein-coding	0.578520366	0.00018646	0.003184275	up
ENSBTAG00000010661	DPYSL3	protein-coding	0.611530906	0.000187197	0.003189264	up
ENSBTAG00000033386	TEX26	protein-coding	-0.655458658	0.000189727	0.003220859	down
ENSBTAG00000048122	CFD	protein-coding	-0.608440541	0.000194456	0.003285553	down
ENSBTAG00000038523	ATP1A4	protein-coding	0.810750421	0.000196069	0.003305002	up
ENSBTAG00000009852	NAV3	protein-coding	0.573818515	0.000198707	0.003334527	up
ENSBTAG00000020105	AQP7	protein-coding	0.530253946	0.000201724	0.003368573	up
ENSBTAG00000018223	CHI3L1	protein-coding	-0.917319997	0.000203684	0.003385505	down
ENSBTAG00000043570	NA	NA	-0.536195101	0.000206212	0.003415619	down
ENSBTAG00000004034	SESN3	protein-coding	0.539310354	0.000211783	0.003479716	up
ENSBTAG00000001229	SLC25A22	protein-coding	-0.783504221	0.000212072	0.003480458	down
ENSBTAG00000020713	BACH2	protein-coding	-0.555144021	0.000213147	0.003490101	down
ENSBTAG00000011482	SLC43A2	protein-coding	-1.164934935	0.000213483	0.003491603	down
ENSBTAG00000038124	FCGR2A	protein-coding	-1.269715996	0.000213886	0.003494211	down
ENSBTAG00000052719	NA	NA	0.613094692	0.000215902	0.003519111	up
ENSBTAG00000038286	PPDPFL	protein-coding	-1.070351816	0.000216804	0.003529782	down
ENSBTAG00000020661	ABCA1	protein-coding	-0.851898937	0.00021877	0.003553716	down
ENSBTAG000000027051	PTAFR	protein-coding	-0.847132029	0.00022114	0.003580207	down
ENSBTAG00000005504	TP53INP2	protein-coding	0.722447057	0.000221793	0.003580881	up
ENSBTAG00000004207	CD93	protein-coding	0.591627415	0.000224717	0.003613394	up
ENSBTAG00000013420	FSD1L	protein-coding	0.617092266	0.000225784	0.003626479	up
ENSBTAG00000007103	ITGAL	protein-coding	-0.577742067	0.000228091	0.003655336	down
ENSBTAG00000007467	MIB1	protein-coding	0.513037021	0.000230398	0.003676274	up
ENSBTAG00000008353	CDKN1A	protein-coding	-0.786349012	0.00023471	0.003732156	down
ENSBTAG00000000595	FBN3	protein-coding	0.961442441	0.000239788	0.003796029	up
ENSBTAG00000006777	TLCD1	protein-coding	-0.7525428	0.000241023	0.003807153	down
ENSBTAG00000017032	FREM2	protein-coding	0.717883379	0.000245309	0.003863324	up
ENSBTAG00000008792	RNASE6	protein-coding	-0.791392606	0.000250223	0.003910331	down
ENSBTAG00000011960	GOT1	protein-coding	0.64443418	0.000250347	0.003910331	up
ENSBTAG00000046555	WAS	protein-coding	-0.642173169	0.000250854	0.003910331	down
ENSBTAG00000014218	DKK1	protein-coding	-0.90966488	0.000260592	0.004044833	down
ENSBTAG00000000745	AQP1	protein-coding	0.665543237	0.000262488	0.004069842	up
ENSBTAG00000015032	CD14	protein-coding	-0.781273708	0.000264472	0.004091741	down
ENSBTAG00000003718	HACL1	protein-coding	-0.622107995	0.000266097	0.004112437	down
ENSBTAG00000015144	GMIP	protein-coding	-0.516671256	0.000270537	0.004167556	down
ENSBTAG00000005617	SLC41A3	protein-coding	0.652927848	0.000271128	0.004172161	up
ENSBTAG000000025398	LOC504548	protein-coding	-0.703383915	0.000272114	0.00417835	down
ENSBTAG00000019332	SLC9C1	protein-coding	0.733519344	0.000275862	0.004219376	up
ENSBTAG00000019053	MAP9	protein-coding	0.669767976	0.000282499	0.004287214	up
ENSBTAG00000014418	FHIT	protein-coding	-0.760439804	0.000284876	0.004309582	down

ENSBTAG00000023851	FAM102A	protein-coding	0.730332129	0.000290929	0.004382623	up
ENSBTAG00000019302	BCL2	protein-coding	-0.546952046	0.000293218	0.004393967	down
ENSBTAG00000012673	CDK18	protein-coding	0.630655464	0.000296651	0.004431499	up
ENSBTAG00000003088	LANCL3	protein-coding	0.755769486	0.000303647	0.004517147	up
ENSBTAG00000002025	AMIGO2	protein-coding	0.79596603	0.000304764	0.004529055	up
ENSBTAG00000008796	DRC3	protein-coding	0.805489061	0.000315035	0.004652702	up
ENSBTAG00000007379	ALK	protein-coding	-0.814871593	0.000317347	0.004663538	down
ENSBTAG00000007835	GPT	protein-coding	0.584100485	0.000317398	0.004663538	up
ENSBTAG000000055014	SH3BGRL2	protein-coding	-0.69925325	0.000319978	0.004691814	down
ENSBTAG00000012599	SMAD3	protein-coding	0.520779857	0.000325581	0.004750078	up
ENSBTAG00000012128	AASS	protein-coding	0.517824837	0.000328433	0.004773041	up
ENSBTAG00000009137	NKG7	protein-coding	-0.8369686	0.000329086	0.004773041	down
ENSBTAG00000023929	FOSL2	protein-coding	-0.650871533	0.000332847	0.004821235	down
ENSBTAG00000044348	MIR2466	ncRNA	0.555969209	0.00033325	0.004822183	up
ENSBTAG000000011266	ZBTB16	protein-coding	-0.520406787	0.000336051	0.004852906	down
ENSBTAG00000005431	LMCD1	protein-coding	0.59952641	0.000338727	0.004886619	up
ENSBTAG00000004950	BRB	protein-coding	-0.805253515	0.000340089	0.004901321	down
ENSBTAG000000033308	NA	NA	0.535012187	0.000342456	0.004925519	up
ENSBTAG000000005300	TMEM51	protein-coding	0.650772242	0.000344671	0.004939448	up
ENSBTAG00000012302	RTN4RL1	protein-coding	-0.613813813	0.000347488	0.004972898	down
ENSBTAG00000007094	MINAR1	protein-coding	0.929519724	0.000362784	0.00514549	up
ENSBTAG000000048796	NA	NA	0.573793782	0.000365393	0.005163356	up
ENSBTAG000000031777	GDPD5	protein-coding	-0.687830348	0.000366449	0.005171841	down
ENSBTAG000000038464	PLIN5	protein-coding	-0.598889821	0.000370414	0.00522266	down
ENSBTAG000000007415	SLC7A8	protein-coding	-1.107931319	0.000378517	0.005323321	down
ENSBTAG00000005284	SERPINE3	protein-coding	-0.541627277	0.000378799	0.005323321	down
ENSBTAG000000051059	NA	NA	0.682518309	0.000380378	0.005327313	up
ENSBTAG000000015160	PLD4	protein-coding	-0.762901318	0.000387699	0.005384319	down
ENSBTAG000000049281	NA	NA	0.714064514	0.000387824	0.005384319	up
ENSBTAG000000038938	LOC781710	protein-coding	-0.771306673	0.0003879	0.005384319	down
ENSBTAG000000052348	NA	NA	0.586360666	0.000390124	0.005398842	up
ENSBTAG000000049549	NA	NA	0.651646067	0.000391485	0.005407859	up
ENSBTAG000000000897	IQGAP2	protein-coding	-0.514686114	0.000394494	0.005426359	down
ENSBTAG00000005668	SLC39A8	protein-coding	-0.76735073	0.000395053	0.005426359	down
ENSBTAG00000013929	RRAD	protein-coding	0.726955568	0.000395099	0.005426359	up
ENSBTAG000000002333	HOPX	protein-coding	-0.638762561	0.000398681	0.005459831	down
ENSBTAG000000033335	LOC617694	pseudo	-1.745095483	0.000410781	0.005598746	down
ENSBTAG000000051075	NA	NA	0.628567256	0.000411603	0.005601072	up
ENSBTAG000000018424	ACKR3	protein-coding	0.54412314	0.000411734	0.005601072	up
ENSBTAG000000029826	MIR133B	ncRNA	0.748754392	0.000415035	0.005624582	up
ENSBTAG00000010981	CIB2	protein-coding	1.013645214	0.000418106	0.005660843	up
ENSBTAG000000049218	NA	NA	0.60781296	0.000421166	0.005696881	up
ENSBTAG000000016312	LGALS4	protein-coding	-0.514374789	0.00042282	0.005708466	down
ENSBTAG000000008509	SLC38A3	protein-coding	0.751319469	0.000439636	0.005891043	up
ENSBTAG000000017690	CARNS1	protein-coding	0.805037598	0.000441482	0.005910243	up
ENSBTAG000000046324	LOC100297676	protein-coding	-0.588267654	0.000443624	0.005929964	down
ENSBTAG00000012393	AGT	protein-coding	-0.939446673	0.000446692	0.005952153	down
ENSBTAG00000018571	IL1RL1	protein-coding	-1.440652266	0.000453508	0.006031743	down
ENSBTAG000000053497	GNLY	protein-coding	-0.707687697	0.000454221	0.006035612	down
ENSBTAG00000012409	POSTN	protein-coding	-1.134814026	0.000460981	0.006099559	down
ENSBTAG00000014237	CYTH4	protein-coding	-0.660986366	0.000466583	0.006137194	down
ENSBTAG00000011992	PTH2R	protein-coding	0.830375822	0.000474774	0.006193696	up
ENSBTAG000000047997	PRPS2	protein-coding	-0.534925449	0.000487722	0.006333957	down
ENSBTAG00000005461	SOX15	protein-coding	-0.519055532	0.000488574	0.00633906	down
ENSBTAG000000052721	NA	NA	-0.897062609	0.000492299	0.006375831	down
ENSBTAG000000047902	ULBP21	protein-coding	1.036069758	0.00049391	0.006390907	up
ENSBTAG000000051385	NA	NA	-0.814151564	0.00049942	0.00643892	down
ENSBTAG000000054325	NA	NA	-0.640317917	0.000501588	0.006455237	down
ENSBTAG000000005170	ADGRG5	protein-coding	-0.830548339	0.000515066	0.006587228	down
ENSBTAG000000007828	SLA	protein-coding	-0.70130839	0.000523988	0.006671529	down
ENSBTAG000000004705	ILDR1	protein-coding	-0.809685655	0.000528079	0.006711672	down
ENSBTAG000000021298	NTMT2	protein-coding	0.903396551	0.00053665	0.006802474	up
ENSBTAG000000026638	CATSPER4	protein-coding	0.578618527	0.000539385	0.0068311	up
ENSBTAG000000009830	PLEKHB1	protein-coding	0.577286588	0.000548985	0.006922048	up
ENSBTAG000000051933	NA	NA	-1.035396089	0.000558479	0.007017022	down

ENSBTAG00000001835	GIA1	protein-coding	0,645019263	0,000559443	0,007019575	up
ENSBTAG000000024503	FCER1G	protein-coding	-0,562935136	0,000560227	0,007020504	down
ENSBTAG000000009775	PRRG3	protein-coding	0,812375706	0,000571469	0,007136383	up
ENSBTAG000000016650	TIGAR	protein-coding	0,54623734	0,000585461	0,007273037	up
ENSBTAG000000024340	TRIL	protein-coding	0,719992367	0,000591212	0,007331745	up
ENSBTAG000000054043	NA	NA	0,911562617	0,00059291	0,007333734	up
ENSBTAG000000005708	KIF20B	protein-coding	-0,510550665	0,000612904	0,007528984	down
ENSBTAG000000023452	B9D2	protein-coding	0,502584808	0,000624492	0,007638547	up
ENSBTAG000000020872	CSAR1	protein-coding	-0,973474663	0,000629661	0,007683412	down
ENSBTAG000000019605	OPA3	protein-coding	0,607498592	0,000637134	0,007725239	up
ENSBTAG00000001852	BREH1	protein-coding	-0,602963961	0,000637191	0,007725239	down
ENSBTAG000000049048	NA	NA	0,70643523	0,000637517	0,007725239	up
ENSBTAG000000029926	MIR1-2	ncRNA	0,739482044	0,000639717	0,007739496	up
ENSBTAG00000001788	PDPN	protein-coding	-0,626602161	0,000639775	0,007739496	down
ENSBTAG000000015419	ARHGEF37	protein-coding	0,526764194	0,000640794	0,00774447	up
ENSBTAG000000006686	NPNT	protein-coding	0,697017538	0,00064154	0,00774447	up
ENSBTAG000000036363	MIR133A-1	ncRNA	0,753816155	0,000646726	0,007764504	up
ENSBTAG000000007262	ZNF536	protein-coding	0,648813199	0,000647801	0,007770896	up
ENSBTAG000000005215	IL10RA	protein-coding	-0,837224324	0,000649047	0,007779327	down
ENSBTAG000000006801	TMEM106A	protein-coding	-0,563441565	0,000651225	0,007792374	down
ENSBTAG000000034091	LRR72	protein-coding	0,585103286	0,000652044	0,007795657	up
ENSBTAG000000034519	SMIM29	protein-coding	-0,514984856	0,000656823	0,00782664	down
ENSBTAG000000019002	SLC2A12	protein-coding	0,502038853	0,000657883	0,007832744	up
ENSBTAG000000020355	KLF4	protein-coding	-0,569426782	0,000659603	0,007846704	down
ENSBTAG000000045912	NA	NA	-0,534391017	0,000660077	0,007854055	down
ENSBTAG000000048565	BASP1	protein-coding	-0,576470599	0,000665869	0,007901515	down
ENSBTAG000000020644	GPC4	protein-coding	0,583124724	0,000666419	0,007901515	up
ENSBTAG000000019181	BAIAP2L1	protein-coding	-0,608573908	0,000671508	0,007935554	down
ENSBTAG000000007689	LPIN1	protein-coding	-0,612072227	0,000673962	0,007953253	down
ENSBTAG000000027205	PGBD5	protein-coding	-0,996656294	0,000675218	0,007959675	down
ENSBTAG000000001992	CYP51A1	protein-coding	0,515842461	0,00067673	0,007970928	up
ENSBTAG000000010955	NUP54	protein-coding	-0,508112173	0,000686013	0,008042797	down
ENSBTAG000000009816	SCX	protein-coding	0,88464989	0,00068908	0,00806331	up
ENSBTAG000000006192	PLPPR2	protein-coding	0,694449762	0,000697409	0,008154099	up
ENSBTAG000000006688	RPS6KL1	protein-coding	0,539625893	0,000699366	0,008168529	up
ENSBTAG000000051104	C9REF1	protein-coding	-0,735292778	0,000702305	0,008184797	down
ENSBTAG000000021029	PRR5L	protein-coding	-0,857697587	0,00071414	0,008255292	down
ENSBTAG000000014551	TNFAIP8	protein-coding	-0,573316951	0,000715396	0,008257661	down
ENSBTAG000000033304	TCIM	protein-coding	-0,583484468	0,000715499	0,008257661	down
ENSBTAG000000021202	ACOT7	protein-coding	-0,72381563	0,000723008	0,008330897	down
ENSBTAG000000013152	NIPSNAP1	protein-coding	0,563513692	0,000727332	0,008368342	up
ENSBTAG000000009850	GIMAP7	protein-coding	-0,666261516	0,000730102	0,008385629	down
ENSBTAG000000034182	LOC782966	protein-coding	0,515438975	0,000734354	0,008427698	up
ENSBTAG000000031573	NMRK2	protein-coding	0,757227837	0,00074531	0,008512473	up
ENSBTAG000000023398	UBASH3A	protein-coding	-0,837844755	0,000761259	0,0086532	down
ENSBTAG000000027516	APLN1	protein-coding	0,560397843	0,000764883	0,00867373	up
ENSBTAG000000019968	GNA15	protein-coding	-0,792738415	0,000767894	0,008700969	down
ENSBTAG000000016185	ENAH	protein-coding	0,587716393	0,000780446	0,008829217	up
ENSBTAG000000049422	TIFA	protein-coding	-0,594338044	0,000800325	0,009004286	down
ENSBTAG000000021481	CA14	protein-coding	0,521769881	0,000806083	0,009054829	up
ENSBTAG000000044105	FOXO1	protein-coding	-0,889390383	0,0008324	0,009284861	down
ENSBTAG000000000133	CD68	protein-coding	-0,609691677	0,000840558	0,009339456	down
ENSBTAG000000051562	NA	NA	-0,833080405	0,000857788	0,009472069	down
ENSBTAG000000000987	OTOG	protein-coding	0,736836488	0,000859803	0,009479694	up
ENSBTAG000000000983	ABCC8	protein-coding	0,540686963	0,000868301	0,009558655	up
ENSBTAG000000018146	VAT1L	protein-coding	0,511800286	0,000871339	0,009580431	up
ENSBTAG000000054745	NA	NA	0,646558965	0,00087796	0,009637566	up
ENSBTAG000000019347	PLXDC1	protein-coding	0,564291897	0,000879909	0,009646975	up
ENSBTAG000000014127	PTGS2	protein-coding	-0,970362163	0,000882045	0,009657949	down
ENSBTAG000000053294	NA	NA	0,594010038	0,000886733	0,009701862	up
ENSBTAG000000003408	NA	NA	-1,105423695	0,000888709	0,009708634	down
ENSBTAG000000006937	NA	NA	-0,524499864	0,000891947	0,009736578	down
ENSBTAG000000043962	SLC2A13	protein-coding	-0,875803013	0,000894695	0,00975913	down
ENSBTAG000000054496	NA	NA	0,58777497	0,000896506	0,009771432	up
ENSBTAG000000013118	CD86	protein-coding	-0,649424808	0,000897613	0,009776053	down

ENSBTAG00000002605	TRIM16	protein-coding	0.501864035	0.000898805	0.009781592	up
ENSBTAG000000039652	PTGDR2	protein-coding	-0.563439595	0.000914646	0.009890881	down
ENSBTAG000000026637	CCDC162P	pseudo	0.559101267	0.000924472	0.009950306	up
ENSBTAG000000051767	NA	NA	0.508113692	0.000924986	0.009950306	up
ENSBTAG000000016688	NA	NA	0.524205429	0.000927444	0.009964456	up
ENSBTAG000000020087	CAMK2A	protein-coding	0.587653435	0.000961863	0.010251235	up
ENSBTAG000000021709	SPI1	protein-coding	-0.663911695	0.000962016	0.010251235	down
ENSBTAG000000014172	FGD2	protein-coding	-0.608726726	0.000969349	0.010314113	down
ENSBTAG000000031658	SEMA6B	protein-coding	0.515046673	0.000969358	0.010314113	up
ENSBTAG000000012991	NA	NA	0.899544472	0.000981552	0.010436102	up
ENSBTAG000000011896	GRIP2	protein-coding	0.529439809	0.001000316	0.010569899	up
ENSBTAG000000045925	CITED1	protein-coding	-0.625933744	0.001000784	0.010569899	down
ENSBTAG000000038584	OLFM1	protein-coding	0.914620488	0.00101553	0.010686212	up
ENSBTAG000000020747	ASS1	protein-coding	-0.590263039	0.001019908	0.01071652	down
ENSBTAG000000007827	RCOR2	protein-coding	0.725954313	0.001021057	0.010720723	up
ENSBTAG000000013476	CPA5	protein-coding	0.556559048	0.001022367	0.010726609	up
ENSBTAG000000037756	TET1	protein-coding	0.585391767	0.001054566	0.010960006	up
ENSBTAG000000003016	PTPN7	protein-coding	-0.790437754	0.001054568	0.010960006	down
ENSBTAG000000018948	HIF3A	protein-coding	-0.755855544	0.001064336	0.0110451	down
ENSBTAG000000011987	ERG28	protein-coding	0.538601601	0.001075344	0.01110335	up
ENSBTAG000000049736	NA	NA	0.75346933	0.001107695	0.011388096	up
ENSBTAG000000012338	FAH	protein-coding	-0.716805421	0.001118698	0.011476481	down
ENSBTAG000000034645	PON3	protein-coding	-0.519064721	0.001153115	0.011718005	down
ENSBTAG000000002151	ASB15	protein-coding	0.560344744	0.001163735	0.011769757	up
ENSBTAG000000012534	BEND3	protein-coding	0.555158746	0.001192954	0.012005887	up
ENSBTAG000000019497	ILDR2	protein-coding	0.590484097	0.001197179	0.012039936	up
ENSBTAG000000045579	LOC100295750	protein-coding	-0.605632279	0.00120572	0.012091842	down
ENSBTAG000000039050	P2RY2	protein-coding	0.536044731	0.001213966	0.012157495	up
ENSBTAG000000010954	ART3	protein-coding	-0.659508975	0.001217594	0.012168286	down
ENSBTAG000000010158	NA	NA	0.560887651	0.001242461	0.012382215	up
ENSBTAG000000008271	MEDAG	protein-coding	-0.555835345	0.001254446	0.012473816	down
ENSBTAG000000054310	NA	NA	0.522776706	0.001255139	0.012473816	up
ENSBTAG000000000181	SUSD3	protein-coding	-0.60636259	0.00127171	0.012603489	down
ENSBTAG000000012285	ESRRB	protein-coding	0.578603881	0.001275815	0.012621997	up
ENSBTAG000000003749	KCNMB4	protein-coding	-0.55109195	0.001277622	0.01262711	down
ENSBTAG000000048956	NA	NA	0.62664434	0.001278919	0.012631197	up
ENSBTAG000000019741	C3AR1	protein-coding	-1.004569602	0.001287235	0.012669613	down
ENSBTAG000000017060	ITGB2	protein-coding	-0.515841422	0.001294924	0.012727782	down
ENSBTAG000000010042	RIOK3	protein-coding	-0.501748986	0.001303531	0.012786041	down
ENSBTAG000000021189	ARHGAP36	protein-coding	0.996475848	0.001308344	0.012824456	up
ENSBTAG000000020984	RAPGEF4	protein-coding	-0.520270528	0.001309246	0.012824519	down
ENSBTAG000000015060	GBP5	protein-coding	-0.518330801	0.001312605	0.012848625	down
ENSBTAG000000009587	NRG3	protein-coding	-0.548755724	0.001319781	0.012892413	down
ENSBTAG000000052475	NA	NA	0.882941999	0.001326309	0.012947345	up
ENSBTAG000000048740	LOC518495	protein-coding	0.515032753	0.001332515	0.012999057	up
ENSBTAG000000018724	TMEM82	protein-coding	-0.900100501	0.001336869	0.013032653	down
ENSBTAG000000005812	TP73	protein-coding	-0.682734746	0.001351314	0.01313767	down
ENSBTAG000000011178	NA	NA	-0.659262517	0.001366848	0.013270666	down
ENSBTAG000000021144	PSTPIP1	protein-coding	-0.570044389	0.001373887	0.013314633	down
ENSBTAG000000014328	MGC138914	protein-coding	-0.625317081	0.001378503	0.013347606	down
ENSBTAG000000051330	WC-7	protein-coding	-1.15249335	0.001385483	0.013389845	down
ENSBTAG000000008464	ABC89	protein-coding	0.746643108	0.001395297	0.013464662	up
ENSBTAG000000000144	LOC100335205	protein-coding	-0.615925791	0.001456695	0.013887921	down
ENSBTAG000000001094	MTUS2	protein-coding	0.719128205	0.001457576	0.013887921	up
ENSBTAG000000007101	F3	protein-coding	-0.900505682	0.001474288	0.013991072	down
ENSBTAG000000021313	RUNDC38	protein-coding	-0.691692406	0.001511518	0.014271909	down
ENSBTAG000000002947	LY9	protein-coding	-0.56666201	0.001527868	0.014366176	down
ENSBTAG000000031814	SDS	protein-coding	0.64022676	0.001542459	0.014470957	up
ENSBTAG000000008057	PARV5	protein-coding	-0.654802851	0.001544752	0.014473209	down
ENSBTAG000000044087	NA	NA	0.610973872	0.001545319	0.014473209	up
ENSBTAG000000006800	FGF6	protein-coding	1.011250919	0.001590482	0.014818107	up
ENSBTAG000000005857	SLC6A1	protein-coding	0.65316213	0.001597119	0.014852134	up
ENSBTAG000000043951	IMPA2	protein-coding	-0.609641839	0.001623712	0.015055157	down
ENSBTAG000000049266	NA	NA	-0.609135548	0.001625548	0.015055157	down
ENSBTAG000000051359	NA	NA	0.86930878	0.00162639	0.015055157	up

ENSBTAG00000048660	C19H17orf113	protein-coding	-0.855376032	0.001671812	0.015371847	down
ENSBTAG00000012695	LCK	protein-coding	-0.516544969	0.001722966	0.01578577	down
ENSBTAG00000017370	ARFGF3	protein-coding	0.522144208	0.001751311	0.015984068	up
ENSBTAG00000020854	BCL6B	protein-coding	0.502164136	0.001768073	0.016085752	up
ENSBTAG00000008827	SPOCK2	protein-coding	-0.906160378	0.001772146	0.01610234	down
ENSBTAG00000019686	NCKAP1L	protein-coding	-0.594141106	0.001804975	0.016307444	down
ENSBTAG00000018235	SLC45A2	protein-coding	0.707237994	0.001807054	0.016315927	up
ENSBTAG00000004206	LRRC55	protein-coding	0.852730016	0.001832035	0.016468754	up
ENSBTAG000000050193	NA	NA	-1.041272392	0.00186938	0.016699561	down
ENSBTAG00000031214	LOC618409	protein-coding	-0.561217356	0.001880253	0.016755228	down
ENSBTAG00000009381	LCP2	protein-coding	-0.56736198	0.001880295	0.016755228	down
ENSBTAG00000039722	LOC782061	protein-coding	0.966477074	0.001901278	0.016910622	up
ENSBTAG00000015649	TMEM156	protein-coding	-0.581817536	0.001924341	0.017062728	down
ENSBTAG00000009405	TRPC4	protein-coding	-0.590794568	0.0019389	0.017159921	down
ENSBTAG00000010408	IKBKE	protein-coding	-0.751906259	0.001958234	0.017298939	down
ENSBTAG000000052744	C18H16orf74	protein-coding	0.610471806	0.001967883	0.017352046	up
ENSBTAG00000011120	NA	NA	0.592983994	0.001969676	0.017357163	up
ENSBTAG00000013918	ADGR3	protein-coding	0.679398553	0.001999671	0.017578185	up
ENSBTAG00000006963	RPL12	protein-coding	-0.675841171	0.002057716	0.018010992	down
ENSBTAG00000004727	PAQR4	protein-coding	0.5087773	0.002065515	0.018055138	up
ENSBTAG00000016444	RETBG1	protein-coding	0.693842131	0.002079166	0.018143263	up
ENSBTAG00000001235	CD200R1L	protein-coding	-0.878846689	0.002128569	0.018450602	down
ENSBTAG000000030340	IFFO2	protein-coding	0.510326826	0.002196074	0.018909759	up
ENSBTAG00000053361	KLHL30	protein-coding	-0.644951372	0.002217504	0.019059877	down
ENSBTAG00000019137	SCN7A	protein-coding	-0.986684552	0.002256194	0.019288166	down
ENSBTAG00000007397	FOLH1B	protein-coding	0.525042629	0.002271518	0.019396001	up
ENSBTAG00000013191	AGRN	protein-coding	0.512493714	0.002288889	0.019509405	up
ENSBTAG00000050237	NA	NA	-0.766681531	0.002299435	0.019577794	down
ENSBTAG00000002009	NA	NA	-0.766682805	0.002299666	0.019577794	down
ENSBTAG000000020590	FZD2	protein-coding	0.535479095	0.002342617	0.019860892	up
ENSBTAG00000027397	PPP1R3D	protein-coding	0.625784593	0.002368617	0.020010201	up
ENSBTAG00000051340	NA	NA	-0.978200599	0.002396125	0.020148319	down
ENSBTAG00000007325	TPS82	protein-coding	-0.814263355	0.002403269	0.020148319	down
ENSBTAG00000014470	ALDH1L1	protein-coding	0.911126317	0.002412581	0.020190905	up
ENSBTAG00000045854	LOC100852077	protein-coding	-0.851989208	0.002445214	0.020380583	down
ENSBTAG00000016998	ARL11	protein-coding	0.653672155	0.002486718	0.020582662	up
ENSBTAG00000052038	NA	NA	-1.14153032	0.002517369	0.020740395	down
ENSBTAG00000034609	NA	NA	-0.741494864	0.002555151	0.02095517	down
ENSBTAG00000013439	ARHGEF26	protein-coding	0.731578389	0.002557551	0.020962836	up
ENSBTAG000000020198	METRN	protein-coding	0.638605892	0.002567581	0.021008947	up
ENSBTAG00000053836	CCDC71L	protein-coding	-0.925541119	0.002570931	0.021013584	down
ENSBTAG00000045767	LAT2	protein-coding	-0.531644233	0.002600827	0.021182725	down
ENSBTAG00000004908	CHRNE	protein-coding	0.611816094	0.00260214	0.021182725	up
ENSBTAG00000000868	ZFP1	protein-coding	-0.585993589	0.002613872	0.021266134	down
ENSBTAG00000047743	KCNIP4	protein-coding	-1.932533945	0.002617237	0.02128141	down
ENSBTAG00000020028	NA	NA	0.553182066	0.002624834	0.02130686	up
ENSBTAG00000055017	SCIMP	protein-coding	-0.822712144	0.002664177	0.021540702	down
ENSBTAG00000050510	LOC112442215	protein-coding	-0.874745593	0.002825181	0.022474244	down
ENSBTAG00000014897	UNC5A	protein-coding	0.638853603	0.002887032	0.022877252	up
ENSBTAG00000015290	BAIAP2L2	protein-coding	-0.630046248	0.002893262	0.022889507	down
ENSBTAG00000026437	NA	NA	1.274235377	0.003008947	0.023556696	up
ENSBTAG00000008807	FBXL22	protein-coding	0.545325373	0.003008989	0.023556696	up
ENSBTAG00000050462	NA	NA	0.63687306	0.003032597	0.023689684	up
ENSBTAG00000012444	ADAM12	protein-coding	0.779536308	0.003041187	0.023743821	up
ENSBTAG00000046257	GIMAP4	protein-coding	-0.626959863	0.003061108	0.023849395	down
ENSBTAG00000008441	SOC3	protein-coding	-0.590448402	0.003112396	0.024128656	down
ENSBTAG00000021835	PRICKLE2	protein-coding	0.548629295	0.003147195	0.024319386	up
ENSBTAG00000054842	MIR2285AH	ncRNA	0.597760091	0.003158282	0.024347586	up
ENSBTAG00000014090	ARID5A	protein-coding	-0.535788253	0.003170036	0.024382318	down
ENSBTAG00000018366	SLC15A3	protein-coding	-0.528054644	0.003219523	0.024626309	down
ENSBTAG00000011602	RASAL3	protein-coding	-0.598428611	0.003253143	0.024750519	down
ENSBTAG00000053478	LOC112449602	protein-coding	-0.524752566	0.003323384	0.025137918	down
ENSBTAG00000051967	LOC112443014	ncRNA	0.858364319	0.003353798	0.025314452	up
ENSBTAG00000053974	NA	NA	0.543562649	0.003358964	0.025340078	up
ENSBTAG00000016520	LOC786948	protein-coding	-0.700127588	0.003401227	0.025497444	down

ENSBTAG000000021329	ZBTB3	protein-coding	0.64097296	0.003446537	0.025716054	up
ENSBTAG00000009409	CACNA2D2	protein-coding	0.620822237	0.003509319	0.026021695	up
ENSBTAG00000015991	CDH1	protein-coding	-0.949164195	0.00351957	0.026070687	down
ENSBTAG00000047531	ARHGAP4	protein-coding	-0.536218136	0.003548549	0.026203967	down
ENSBTAG00000013103	COL1A1	protein-coding	0.531490348	0.003566617	0.026294778	up
ENSBTAG00000051401	NA	NA	-0.510732052	0.003571569	0.026295351	down
ENSBTAG00000000243	HEBP2	protein-coding	0.769299978	0.003603585	0.026433063	up
ENSBTAG00000047225	BCL2L14	protein-coding	-0.904521657	0.003613149	0.026454158	down
ENSBTAG00000013736	PROM1	protein-coding	-0.801084225	0.003640065	0.026605193	down
ENSBTAG00000050953	LOC515828	protein-coding	-0.614111818	0.003656052	0.026653976	down
ENSBTAG00000020620	RGS2	protein-coding	-0.628296471	0.003662305	0.026672393	down
ENSBTAG00000018016	NUPR1	protein-coding	-0.640861825	0.00367935	0.026773346	down
ENSBTAG00000014051	ANGPT1	protein-coding	0.554026453	0.00384012	0.027699576	up
ENSBTAG00000002623	SAMSN1	protein-coding	-0.656595541	0.00384882	0.027730577	down
ENSBTAG00000011390	CHRNA	protein-coding	-0.72991247	0.003850231	0.027730577	down
ENSBTAG00000003845	CSRNP1	protein-coding	-0.577284511	0.003931291	0.028149419	down
ENSBTAG00000027204	LOC100300510	protein-coding	-0.621223678	0.003951516	0.028275074	down
ENSBTAG00000049718	NA	NA	0.539540202	0.003957904	0.028292488	up
ENSBTAG000000051333	ARID5B	protein-coding	-0.71686222	0.003995158	0.028416854	down
ENSBTAG00000040590	NA	NA	0.556155228	0.004019179	0.02855932	up
ENSBTAG00000047078	NTF4	protein-coding	0.57089343	0.004094521	0.028950936	up
ENSBTAG00000053653	NA	NA	1.060370696	0.004117229	0.029032452	up
ENSBTAG00000017733	CA2	protein-coding	0.570905007	0.004118222	0.029032452	up
ENSBTAG00000015582	HMOX1	protein-coding	-0.636181226	0.004127368	0.029068291	down
ENSBTAG00000017411	AK5	protein-coding	-0.866304049	0.004182327	0.029426394	down
ENSBTAG00000050861	NA	NA	0.560253944	0.004250035	0.029740203	up
ENSBTAG00000006563	KLHL40	protein-coding	-0.54250597	0.004388993	0.030510657	down
ENSBTAG00000050417	LOC788334	protein-coding	0.517106054	0.004393723	0.030510657	up
ENSBTAG00000055197	NA	NA	-0.585088516	0.00439449	0.030510657	down
ENSBTAG00000049469	MIR12003	ncRNA	-0.864353864	0.004402912	0.030510657	down
ENSBTAG00000010866	BMPER	protein-coding	0.757938933	0.004405419	0.030510657	up
ENSBTAG00000012896	METTL7B	protein-coding	-0.952887412	0.004425433	0.030551071	down
ENSBTAG000000007921	DAPP1	protein-coding	-0.538960465	0.004440187	0.030625168	down
ENSBTAG00000039686	NA	NA	0.667691884	0.004547939	0.031216097	up
ENSBTAG00000019076	PAK6	protein-coding	0.820642215	0.004631675	0.031654202	up
ENSBTAG00000013125	PLAUR	protein-coding	-0.794559423	0.004817971	0.032615885	down
ENSBTAG00000006762	SH3RF2	protein-coding	-0.598599732	0.004832244	0.032661568	down
ENSBTAG00000043580	NA	NA	0.680165587	0.004844003	0.032699304	up
ENSBTAG00000001801	SYT4	protein-coding	-0.558429133	0.004937702	0.033183179	down
ENSBTAG000000031809	DENND1C	protein-coding	-0.541566199	0.004959928	0.033293401	down
ENSBTAG00000039922	ARAP2	protein-coding	-0.561207333	0.004966892	0.033308899	down
ENSBTAG00000022449	SCD5	protein-coding	0.581697781	0.005001597	0.033463235	up
ENSBTAG000000080004	NCF2	protein-coding	-0.705132865	0.005029431	0.033570982	down
ENSBTAG00000027563	ALX4	protein-coding	0.660252814	0.00505732	0.033650822	up
ENSBTAG00000009656	BOLA-DQA2	protein-coding	-0.554490521	0.005066011	0.033650822	down
ENSBTAG00000007253	TSPAN33	protein-coding	-0.504557503	0.005072896	0.033672641	down
ENSBTAG00000017020	S100G	protein-coding	-1.519065397	0.005091428	0.033748689	down
ENSBTAG00000002647	RGS10	protein-coding	-0.545452225	0.005198166	0.034297354	down
ENSBTAG00000046900	GGT1	protein-coding	0.545457313	0.005230457	0.03442783	up
ENSBTAG00000012526	APBB1P	protein-coding	-0.507551668	0.005232376	0.03442783	down
ENSBTAG00000044073	CD248	protein-coding	0.506222989	0.005273211	0.034609505	up
ENSBTAG00000021272	ABCG1	protein-coding	-0.703060295	0.005406739	0.035218864	down
ENSBTAG0000001034	IL18R1	protein-coding	-0.850523784	0.005477744	0.03553581	down
ENSBTAG00000014536	SFXN1	protein-coding	-0.70243733	0.005490549	0.035602741	down
ENSBTAG00000008597	SLC45A4	protein-coding	0.562639322	0.005773139	0.037032451	up
ENSBTAG00000019960	TM4SF18	protein-coding	0.685423489	0.005806212	0.037118528	up
ENSBTAG00000020745	HIVEP3	protein-coding	0.597220447	0.005867707	0.037404348	up
ENSBTAG00000012349	LAX1	protein-coding	-0.629454001	0.005928703	0.037654155	down
ENSBTAG00000009907	MAPK4	protein-coding	0.575161218	0.005992927	0.037960426	up
ENSBTAG00000010732	MMP23	protein-coding	-0.603822649	0.006002686	0.037960426	down
ENSBTAG00000020147	BBS1	protein-coding	0.506456416	0.006066651	0.038179349	up
ENSBTAG00000005078	UCHL1	protein-coding	-0.858160421	0.006082728	0.038240011	down
ENSBTAG00000039462	PCLAF	protein-coding	-0.546202529	0.006170647	0.038663802	down
ENSBTAG00000008897	BIN2	protein-coding	-0.533158114	0.00618917	0.038762891	down
ENSBTAG00000030322	NA	NA	0.733767834	0.00622198	0.038900288	up

ENSBTAG00000051251	NA	NA	0,667903885	0,006271296	0,039097318	up
ENSBTAG00000047426	LYPD6	protein-coding	0,573174006	0,006274997	0,039097318	up
ENSBTAG0000004175	HPD	protein-coding	0,789750106	0,006382596	0,039627477	up
ENSBTAG00000047664	GNAZ	protein-coding	0,622114216	0,006404401	0,039692943	up
ENSBTAG00000002471	CHL1	protein-coding	-0,891787961	0,006440752	0,039867473	down
ENSBTAG00000007809	PPP1R36	protein-coding	0,539833841	0,0064816	0,040078978	up
ENSBTAG00000014912	FMOD	protein-coding	0,538432956	0,00655767	0,040354854	up
ENSBTAG00000026080	LAIR1	protein-coding	-0,73863141	0,006563518	0,040354854	down
ENSBTAG00000008092	RAB37	protein-coding	-0,57549231	0,006564608	0,040354854	down
ENSBTAG00000000328	TPPP2	protein-coding	0,74556738	0,006652029	0,040752218	up
ENSBTAG00000016704	SLC37A2	protein-coding	-0,577486233	0,006658362	0,040756124	down
ENSBTAG00000001562	NFE2	protein-coding	0,690115119	0,006725777	0,041072806	up
ENSBTAG00000003696	BICDL1	protein-coding	-0,506519185	0,006749889	0,041105386	down
ENSBTAG000000012834	ARSI	protein-coding	0,612431526	0,006870639	0,04166149	up
ENSBTAG00000012837	NA	NA	0,539482393	0,006919125	0,041815709	up
ENSBTAG000000051798	NA	NA	-0,536625647	0,006977273	0,042004186	down
ENSBTAG000000005419	AOC1	protein-coding	-0,761589754	0,00699881	0,042031038	down
ENSBTAG000000013334	NA	NA	0,637532056	0,007016182	0,042117693	up
ENSBTAG00000044071	HRH2	protein-coding	0,80338848	0,007043256	0,042227076	up
ENSBTAG000000005628	CD52	protein-coding	-0,504397426	0,007087973	0,042353228	down
ENSBTAG000000053581	SUCNR1	protein-coding	-0,579276642	0,007101168	0,042371357	down
ENSBTAG000000008380	ITGA11	protein-coding	0,506296005	0,007133682	0,042524743	up
ENSBTAG000000003920	TGM1	protein-coding	-0,555865157	0,007137477	0,042524743	down
ENSBTAG000000054461	ITGAX	protein-coding	-0,641102455	0,007161656	0,042609154	down
ENSBTAG000000017514	CCND1	protein-coding	0,555637266	0,007233724	0,042866178	up
ENSBTAG000000052033	NA	NA	0,526702498	0,007331116	0,043335644	up
ENSBTAG000000005244	RASL11A	protein-coding	-0,610041053	0,007782886	0,045121906	down
ENSBTAG000000002258	APOA1	protein-coding	-0,740284512	0,007818297	0,045261993	down
ENSBTAG000000001900	NA	NA	0,729867665	0,007896159	0,045620479	up
ENSBTAG000000030940	GIMAP7	protein-coding	-0,524571867	0,008212748	0,046900496	down
ENSBTAG000000035064	C4H7orf57	protein-coding	0,688670017	0,008274236	0,047176329	up
ENSBTAG000000049851	PMAIP1	protein-coding	-0,72609995	0,008328557	0,047448242	down
ENSBTAG000000044195	SDK2	protein-coding	0,549253876	0,008334445	0,047452047	up
ENSBTAG000000049393	NA	NA	-0,899096782	0,008347868	0,047483594	down
ENSBTAG000000004952	MFSD4A	protein-coding	0,585851782	0,008357988	0,047483594	up
ENSBTAG000000052931	NA	NA	-0,944550442	0,008536006	0,048207885	down
ENSBTAG000000007932	HCK	protein-coding	-0,564136747	0,008556521	0,048285637	down
ENSBTAG000000006515	ESPN	protein-coding	-0,545726794	0,008586238	0,048377027	down
ENSBTAG000000013160	GFRA4	protein-coding	-0,641099662	0,008667275	0,048642106	down
ENSBTAG000000050371	NA	NA	0,563619283	0,008734272	0,048875178	up

NA: Not Annotated

Apêndice S3

Table S3. Enriched KEGG pathways for up-regulated genes in group 2 at weaning

Category	Term	Count	P value	Genes
KEGG_PATHWAY	bta05410:Hypertrophic cardiomyopathy	11	3.85E-5	CACNG7, PRKAB2, PRKAA2, TPM3, MYL2, MYL3, ITGA11, DAG1, CACNA2D2, TNNI3, MYH7
KEGG_PATHWAY	bta04261:Adrenergic signaling in cardiomyocytes	13	1.37E-5	TPM3, CAMK2A, ATP1A4, CACNA2D2, ATP2B2, PRKCA, CACNG7, MYL2, MYL3, TNNI3, CALM3, SCN4B, MYH7
KEGG_PATHWAY	bta05200:Pathways in cancer	27	2.01E-5	FLT4, LAMA3, CAMK2A, CXCR4, CBL, RASGRP1, RASGRP3, DLL4, FGF6, MECOM, CCND1, GNA12, E2F3, RXRG, NQO1, FZD2, SMAD3, TPM3, PRKCA, ESR1, AR, HEYL, COL4A2, CCNE1, KIT, BIRC5, CALM3
KEGG_PATHWAY	bta03320:PPAR signaling pathway	9	5.75E-4	FADS2, FABP3, SLC27A1, SCD, SCD5, AQP7, DBI, PPARA, RXRG
KEGG_PATHWAY	bta04512:ECM-receptor interaction	9	8.47E-4	COL1A1, COL4A2, LAMA3, ITGA11, DAG1, NPNT, AGRN, FREM1, FREM2
KEGG_PATHWAY	bta00100:Steroid biosynthesis	5	9.08E-4	SQLE, EBP, CYP51A1, DHCR24, LSS
KEGG_PATHWAY	bta04260:Cardiac muscle contraction	9	0.00113	CACNG7, TPM3, MYL2, MYL3, ATP1A4, CASQ2, CACNA2D2, TNNI3, MYH7
KEGG_PATHWAY	bta05414:Dilated cardiomyopathy	9	0.00169	CACNG7, TPM3, MYL2, MYL3, ITGA11, DAG1, CACNA2D2, TNNI3, MYH7
KEGG_PATHWAY	bta04971:Gastric acid secretion	7	0.00712	CA2, HRH2, CAMK2A, ATP1A4, CALM3, PRKCA, KCNJ2
KEGG_PATHWAY	bta04921:Oxytocin signaling pathway	10	0.00758	CACNG7, PRKAB2, PRKAA2, CCND1, CAMK2A, CACNA2D2, CALM3, PRKCA, MYL6B, KCNJ2
KEGG_PATHWAY	bta04964:Proximal tubule bicarbonate reclamation	4	0.01260	CA2, ATP1A4, SLC38A3, AQP1
KEGG_PATHWAY	bta04360:Axon guidance	10	0.01964	ENAH, EFNB2, SEMA6B, SEMA6C, UNC5A, CAMK2A, PAK6, PLXNA1, CXCR4, PRKCA
KEGG_PATHWAY	bta05224:Breast cancer	9	0.01983	DLL4, FGF6, HEYL, FZD2, CCND1, FLT4, KIT, E2F3, ESR1
KEGG_PATHWAY	bta04020:Calcium signaling pathway	12	0.02686	FGF6, HRH2, FLT4, CAMK2A, CASQ2, PP1F, CXCR4, ATP2B2, CALM3, PRKCA, CASQ1, TPCN1
KEGG_PATHWAY	bta01040:Biosynthesis of unsaturated fatty acids	4	0.02915	FADS2, SCD, SCD5, FADS1
KEGG_PATHWAY	bta04010:MAPK signaling pathway	13	0.03196	ANGPT1, SRF, FLT4, CACNA2D2, PRKCA, RASGRP1, RASGRP3, NTF4, CACNG7, FGF6, MECOM, KIT, GNA12
KEGG_PATHWAY	bta04510:Focal adhesion	10	0.03761	COL1A1, CCND1, COL4A2, MYL2, FLT4, LAMA3, ITGA11, PAK6, PRKCA, PARVB
KEGG_PATHWAY	bta04371:Apelin signaling pathway	8	0.03974	PRKAB2, SMAD3, PRKAA2, CCND1, MYL2, MYL3, APLNR, CALM3
KEGG_PATHWAY	bta01212:Fatty acid metabolism	5	0.04109	FADS2, SCD, FASN, SCD5, FADS1
KEGG_PATHWAY	bta00760:Nicotinate and nicotinamide metabolism	4	0.04652	NNT, NMRK2, NT5C1A, QPRT
KEGG_PATHWAY	bta04014:Ras signaling pathway	11	0.04773	NTF4, FGF6, ANGPT1, FLT4, KIT, REL, PAK6, CALM3, PRKCA, RASGRP1, RASGRP3

Apêndice S4

Table S4. Enriched biological processes (GO Terms) for up-regulated genes in group 2 at weaning

Category	Term	Count	P value	Genes
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0006695~cholesterol biosynthetic process	5	0,00231	<i>EBP, INSIG1, CYP51A1, DHCR24, LSS</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0045214~sarcomere organization	5	0,00265	<i>TNNT1, SRF, CASQ1, MYOZ2, MYPN</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0006636~unsaturated fatty acid biosynthetic process	4	0,00349	<i>FADS2, SCD, SCD5, FADS1</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0055010~ventricular cardiac muscle tissue morphogenesis	4	0,00506	<i>MYL2, MYL3, PROX1, MYH7</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0030240~skeletal muscle thin filament assembly	3	0,00627	<i>ACTA1, PROX1, LMOD3</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0043069~negative regulation of programmed cell death	3	0,00866	<i>TIGAR, MECOM, KIT</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0007507~heart development	8	0,01043	<i>ACVR1, PDLIM1, POPDC2, GJA1, MYL2, APLNR, SOX4, FREM2</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0010628~positive regulation of gene expression	14	0,01052	<i>RARG, SMAD3, ANGPT1, SCX, DLL4, AR, FGF6, ACTA1, GJA1, CUX2, DNAJA4, SOX8, ADTRP, LDLR</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0006936~muscle contraction	5	0,01153	<i>MYH2, MYBPC1, TNNT1, TPM3, LMOD3</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0001947~heart looping	5	0,01817	<i>GJA1, SMAD3, SRF, APLNR, MIB1</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0016126~sterol biosynthetic process	3	0,02145	<i>SQLE, EBP, INSIG1</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0043951~negative regulation of cAMP-mediated signaling	3	0,02539	<i>RNF157, PDE11A, APLNR</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0007512~adult heart development	3	0,02539	<i>GJA1, APLNR, MYH7</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0061351~neural precursor cell proliferation	3	0,02539	<i>BBS1, NDUFS2, DBN1</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0002026~regulation of the force of heart contraction	3	0,02539	<i>MYL2, MYL3, MYH7</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0007219~Notch signaling pathway	6	0,03078	<i>DLL4, HEYL, GOT1, NRARP, GRIP2, MIB1</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0022008~neurogenesis	4	0,03170	<i>NAV3, NDUFS2, CXCR4, DCHS1</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0032869~cellular response to insulin stimulus	5	0,03188	<i>GOT1, INSIG1, INHBB, LPIN2, HDAC9</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0001894~tissue homeostasis	3	0,03406	<i>TP53INP2, COL11A2, SCX</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0007154~cell communication	3	0,03406	<i>GJA1, FREM1, FREM2</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0060749~mammary gland alveolus development	3	0,03406	<i>AR, CCND1, ESR1</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0001701~in utero embryonic development	9	0,03408	<i>ACVR1, AR, GJA1, SMAD3, GNA12, SOX8, DBN1, TANC2, MIB1</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0001568~blood vessel development	4	0,03424	<i>COL1A1, BMPER, APLNR, MIB1</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0001649~osteoblast differentiation	5	0,03557	<i>COL1A1, GJA1, IGFBP5, TP53INP2, SOX8</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0006730~one-carbon metabolic process	4	0,03689	<i>ALDH1L1, CA3, CA2, CA14</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0000082~G1/S transition of mitotic cell cycle	4	0,03963	<i>CCND1, CCNE1, E2F3, CACUL1</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0007188~adenylate cyclase-modulating G-protein coupled receptor signaling pathway	4	0,03963	<i>GNAZ, GNAT2, GNA12, PTH2R</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0090263~positive regulation of canonical Wnt signaling pathway	6	0,04145	<i>COL1A1, FAM53B, NRARP, LYPD6, DKK2, SOX4</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0002042~cell migration involved in sprouting angiogenesis	3	0,04369	<i>EFNB2, SRF, ADTRP</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0002009~morphogenesis of an epithelium	3	0,04369	<i>DAG1, SOX8, FREM2</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0002027~regulation of heart rate	3	0,04369	<i>CASQ2, CALM3, MYH7</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0035914~skeletal muscle cell differentiation	4	0,04542	<i>HEYL, SCX, SOX8, HIVEP3</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0051965~positive regulation of synapse assembly	4	0,04846	<i>CUX2, CLSTN2, AMIGO2, LRRN1</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0003009~skeletal muscle contraction	3	0,04884	<i>MYH3, TNNT1, MYH7</i>

Apêndice S5

Table S5. Enriched KEGG pathways for down-regulated genes in group 2 at weaning

Category	Term	Count	P value	Genes
KEGG_PATHWAY	bta04610:Complement and coagulation cascades	17	2.84E-10	CFD, C1QB, C1QA, C5AR1, ITGB2, SERPINE1, PLAUR, F13A1, F3, C2, C3, C7, ITGAX, C3AR1, VSIG4, CFB, C1QC
KEGG_PATHWAY	bta05150:Staphylococcus aureus infection	18	3.30E-10	CFD, C1QB, C1QA, C5AR1, PTAFR, ITGB2, BOLA-DQA2, ITGAL, C2, C3, FCGR3A, FCGR2A, LOC100300510, C3AR1, FCGR1A, BOLA-DMB, CFB, C1QC
KEGG_PATHWAY	bta05202:Transcriptional misregulation in cancer	20	1.68E-7	CD86, CSF1R, CEBPB, CDKN1A, SPI1, MAX, GADD45A, FLT3, ZBTB16, FOXO1, GADD45G, RUNX1, HOXA9, LOC100300510, MYC, IL2RB, NUPR1, CD14, PROM1, FCGR1A
KEGG_PATHWAY	bta04936:Alcoholic liver disease	17	4.61E-7	C1QB, C1QA, CPT1A, C5AR1, CXCL3, CPT1B, MAPK12, FOXO1, C2, C3, NFKBIA, C3AR1, MLYCD, CD14, LPIN1, IKBE, C1QC
KEGG_PATHWAY	bta05140:Leishmaniasis	11	1.09E-5	C3, NFKBIA, FCGR3A, FCGR2A, NCF2, ITGB2, BOLA-DQA2, PTGS2, FCGR1A, BOLA-DMB, MAPK12
KEGG_PATHWAY	bta04659:Th17 cell differentiation	12	7.09E-5	NFKBIA, LOC618409, LOC100300510, LCK, IL2RB, IL21R, BOLA-DQA2, IL1RAP, BOLA-DMB, LAT, MAPK12, RUNX1
KEGG_PATHWAY	bta05221:Acute myeloid leukemia	9	1.57E-4	CSF1R, SPI1, FLT3, MYC, ZBTB16, EIF4EBP1, CD14, FCGR1A, RUNX1
KEGG_PATHWAY	bta05152:Tuberculosis	15	2.70E-4	CEBPB, FCER1G, IL10RA, ITGB2, BOLA-DQA2, MAPK12, C3, FCGR3A, FCGR2A, MRC1, ITGAX, BCL2, CD14, FCGR1A, BOLA-DMB
KEGG_PATHWAY	bta04380:Osteoclast differentiation	12	3.34E-4	NFKBIA, SOCS3, CSF1R, FCGR3A, FCGR2A, SPI1, NCF2, LCK, LCP2, FCGR1A, MAPK12, FOSL2
KEGG_PATHWAY	bta05133:Pertussis	9	4.09E-4	C3, C1QB, C1QA, ITGB2, IRF8, CD14, MAPK12, C1QC, C2
KEGG_PATHWAY	bta04064:NF-kappa B signaling pathway	10	0,00109	NFKBIA, GADD45A, LOC100300510, LCK, BCL2, CD14, PTGS2, CXCL3, LAT, GADD45G
KEGG_PATHWAY	bta05222:Small cell lung cancer	9	0,00142	NFKBIA, CDKN1A, GADD45A, MAX, MYC, BCL2, PTGS2, FHIT, GADD45G
KEGG_PATHWAY	bta05142:Chagas disease	10	0,00199	C3, C1QB, NFKBIA, C1QA, GNA15, LOC100300510, SERPINE1, PLCB2, MAPK12, C1QC
KEGG_PATHWAY	bta04145:Phagosome	12	0,00207	C3, MSR1, FCGR3A, FCGR2A, NCF2, ITGB2, MRC1, BOLA-DQA2, CD14, FCGR1A, RILP, BOLA-DMB
KEGG_PATHWAY	bta05171:Coronavirus disease - COVID-19	16	0,00212	CFD, C1QB, C1QA, RPL12, C5AR1, F13A1, MAPK12, C2, C3, NFKBIA, CXCL10, C7, C3AR1, IKBE, CFB, C1QC
KEGG_PATHWAY	bta05216:Thyroid cancer	6	0,00212	RET, CDKN1A, GADD45A, CDH1, MYC, GADD45G
KEGG_PATHWAY	bta04115:p53 signaling pathway	8	0,00239	CDKN1A, GADD45A, SESN1, SERPINE1, BCL2, PMAIP1, TP73, GADD45G
KEGG_PATHWAY	bta05200:Pathways in cancer	24	0,00337	ALK, RET, CSF1R, GSTM3, CDKN1A, SPI1, MAX, GADD45A, FLT3, ZBTB16, PTGER3, PTGS2, AGT, FOXO1, GADD45G, RUNX1, NFKBIA, CDH1, MYC, IL2RB, BCL2, HMOX1, PMAIP1, PLCB2
KEGG_PATHWAY	bta04640:Hematopoietic cell lineage	9	0,00382	CD2, CSF1R, CD8A, FLT3, CD7, BOLA-DQA2, CD14, FCGR1A, BOLA-DMB
KEGG_PATHWAY	bta04621:NOD-like receptor signaling pathway	12	0,00535	GSDMD, LOC781710, NFKBIA, GBP5, PSTPIP1, NAMPT, BCL2, TXNIP, CXCL3, IKBE, PLCB2, MAPK12
KEGG_PATHWAY	bta04061:Viral protein interaction with cytokine and cytokine receptor	8	0,00623	CXCL10, CSF1R, CXCL9, CCL22, IL10RA, IL2RB, CXCL3, IL18R1
KEGG_PATHWAY	bta05322:Systemic lupus erythematosus	12	0,00728	C3, C1QB, CD86, C1QA, FCGR3A, C7, LOC100300510, BOLA-DQA2, FCGR1A, BOLA-DMB, C1QC, C2
KEGG_PATHWAY	bta04658:Th1 and Th2 cell differentiation	8	0,00778	NFKBIA, LOC100300510, LCK, IL2RB, BOLA-DQA2, BOLA-DMB, LAT, MAPK12
KEGG_PATHWAY	bta05169:Epstein-Barr virus infection	13	0,00813	CDKN1A, GADD45A, BOLA-DQA2, ITGAL, MAPK12, GADD45G, NFKBIA, CXCL10, LOC100300510, MYC, BCL2, IKBE, BOLA-DMB
KEGG_PATHWAY	bta04514:Cell adhesion molecules	10	0,01304	CD2, SPN, CD86, CD8A, LOC100300510, CDH1, ITGB2, BOLA-DQA2, ITGAL, BOLA-DMB
KEGG_PATHWAY	bta05235:PD-L1 expression and PD-1 checkpoint pathway in cancer	7	0,02123	NFKBIA, ALK, BATF3, LOC100300510, LCK, LAT, MAPK12
KEGG_PATHWAY	bta04657:IL-17 signaling pathway	7	0,02225	NFKBIA, CXCL10, CEBPB, PTGS2, CXCL3, IKBE, MAPK12
KEGG_PATHWAY	bta04152:AMPK signaling pathway	8	0,02346	PFKFB4, CPT1A, PFKFB3, EIF4EBP1, MLYCD, CPT1B, FBP1, FOXO1
KEGG_PATHWAY	bta04668:TNF signaling pathway	8	0,02439	NFKBIA, SOCS3, CXCL10, CEBPB, PTGS2, CXCL3, IL18R1, MAPK12
KEGG_PATHWAY	bta00330:Arginine and proline metabolism	5	0,02592	AOC1, P4HA3, CKB, SAT1, AGMAT
KEGG_PATHWAY	bta05223:Non-small cell lung cancer	6	0,02631	RET, ALK, CDKN1A, GADD45A, FHIT, GADD45G
KEGG_PATHWAY	bta04650:Natural killer cell mediated cytotoxicity	9	0,02869	FCGR3A, LOC100336869, FCER1G, LCK, ITGB2, CD48, LCP2, ITGAL, LAT
KEGG_PATHWAY	bta04015:Rap1 signaling pathway	11	0,02883	APBB1IP, CSF1R, LOC100300510, CDH1, ITGB2, LCP2, ITGAL, PLCB2, LAT, MAPK12, RAPGEF4
KEGG_PATHWAY	bta05167:Kaposi sarcoma-associated herpesvirus infection	11	0,03097	C3, NFKBIA, CD86, HCK, CDKN1A, MYC, CD200R1L, PTGS2, CXCL3, IKBE, MAPK12
KEGG_PATHWAY	bta04933:AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications	7	0,03152	SERPINE1, BCL2, F3, PLCB2, AGT, MAPK12, FOXO1
KEGG_PATHWAY	bta04922:Glucagon signaling pathway	7	0,03152	CPT1A, GCGR, SIK1, CPT1B, FBP1, PLCB2, FOXO1
KEGG_PATHWAY	bta05220:Chronic myeloid leukemia	6	0,03217	NFKBIA, CDKN1A, GADD45A, MYC, RUNX1, GADD45G
KEGG_PATHWAY	bta05416:Viral myocarditis	6	0,03376	CD86, LOC100300510, ITGB2, BOLA-DQA2, ITGAL, BOLA-DMB
KEGG_PATHWAY	bta05323:Rheumatoid arthritis	7	0,03556	CD86, LOC100300510, ITGB2, BOLA-DQA2, ITGAL, CXCL3, BOLA-DMB
KEGG_PATHWAY	bta04218:Cellular senescence	9	0,03695	CDKN1A, LIN37, GADD45A, MYC, SERPINE1, EIF4EBP1, MAPK12, FOXO1, GADD45G
KEGG_PATHWAY	bta04660:T cell receptor signaling pathway	7	0,03993	NFKBIA, CD8A, LOC100300510, LCK, LCP2, LAT, MAPK12
KEGG_PATHWAY	bta03320:PPAR signaling pathway	6	0,04427	CPT1A, APOA1, ME3, ANGPTL4, CPT1B, PLIN5
KEGG_PATHWAY	bta05213:Endometrial cancer	5	0,04670	CDKN1A, GADD45A, CDH1, MYC, GADD45G
KEGG_PATHWAY	bta05134:Legionellosis	5	0,04670	C3, NFKBIA, ITGB2, CD14, CXCL3
KEGG_PATHWAY	bta05166:Human T-cell leukemia virus 1 infection	11	0,04858	NFKBIA, CDKN1A, SPI1, LOC100300510, LCK, MYC, ITGB2, IL2RB, BOLA-DQA2, ITGAL, BOLA-DMB
KEGG_PATHWAY	bta05417:Lipid and atherosclerosis	11	0,04976	NFKBIA, ABCA1, NCF2, BCL2, APOA1, CD14, CXCL3, IKBE, PLCB2, MAPK12, ABCG1

Apêndice S6

Table S6. Enriched biological processes (GO Terms) for down-regulated genes in group 2 at weaning

Category	Term	Count	P value	Genes
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0006954~inflammatory response	17	3.12E-5	CSF1R, CXCL9, CCL22, LOC504773, C5AR1, PTAFR, PTGER3, PTGS2, CXCL3, AIF1, C3, CXCL10, C3AR1, CHI3L1, CD14, LAT, IDO1
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0030593~neutrophil chemotaxis	9	4.39E-5	CXCL10, FCER1G, CCL22, ITGB2, LOC504773, C5AR1, PDE4B, NCKAP1L, CXCL3
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0009617~response to bacterium	9	1.76E-4	C3, CFD, CXCL9, BAIAP2L1, RGS1, SCN7A, TENT5A, CD14, FKBP5
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0071222~cellular response to lipopolysaccharide	9	7.29E-4	CD86, CXCL10, TNIP3, MRC1, ARID5A, PDE4B, IRF8, CD14, CXCL3
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0010884~positive regulation of lipid storage	4	7.37E-4	C3, IKBKE, FAM71F2, PLIN5
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0090501~RNA phosphodiester bond hydrolysis	4	7.37E-4	BRB, RNASE6, RNASE1
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0045087~innate immune response	18	9.98E-4	C1QB, BTNL9, C1QA, FCER1G, RIOK3, RNASE6, ARID5A, SLA, MPEG1, C2, HCK, C7, LOC100300510, LCK, TIFA, LOC515676, CD14, TMEM106A
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0007169~transmembrane receptor protein tyrosine kinase signaling pathway	9	0,00111	RET, ALK, HCK, CSF1R, FLT3, LCK, CASS4, SLA, LCP2
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0071346~cellular response to interferon-gamma	8	0,00118	LOC781710, GBP5, CCL22, LOC504773, MRC1, WAS, IRF8, AIF1
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0006957~complement activation, alternative pathway	4	0,00140	C3, CFD, C7, CFB
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0098586~cellular response to virus	5	0,00182	CXCL10, RIOK3, WDFY4, IKBKE, GSDME
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0006958~complement activation, classical pathway	6	0,00237	C3, C1QB, C1QA, C7, LOC100300510, C2
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0072593~reactive oxygen species metabolic process	5	0,00279	SESN1, DDIT4, PDK4, BCL2, CCN1
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0051017~actin filament bundle assembly	5	0,00319	BAIAP2L2, BAIAP2L1, LCP1, ESPN, AIF1
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0042742~defense response to bacterium	10	0,00381	GSDMD, SPN, CEBPB, FCER1G, LOC100300510, GNLY, LOC104968634, IRF8, LYZ, MPEG1
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0097242~beta-amyloid clearance	3	0,00436	C3, MSR1, C5AR1
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0006631~fatty acid metabolic process	6	0,00536	C3, CPT1A, ACOT7, UCP3, HAC1L, CPT1B
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0007229~integrin-mediated signaling pathway	7	0,00568	ITGB2, ITGAX, APOA1, ITGAL, PRAM1, LAT, FERMT3
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0032729~positive regulation of interferon-gamma production	6	0,00628	CD2, ARID5A, PDE4B, IRF8, CD14, IL18R1
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0042832~defense response to protozoan	4	0,00966	LOC781710, CCDC88B, IRF8, NKG7
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0034612~response to tumor necrosis factor	4	0,00966	UBD, CHI3L1, LOC504548, CXCL16
GOTERM_BP_DIRECT	GO:1990542~mitochondrial transmembrane transport	3	0,01170	UCP3, UCP2, SFXN1
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0006898~receptor-mediated endocytosis	5	0,01210	MSR1, MRC1, CD14, SCARF1, CXCL16
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0048008~platelet-derived growth factor receptor signaling pathway	4	0,01403	CSRN1P1, ZFAND5, TXNIP, ARID5B
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0006000~fructose metabolic process	3	0,01483	PFKFB4, PFKFB3, FBP1
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0006935~chemotaxis	5	0,01651	CXCL10, CXCL9, PTGDR2, PTAFR, C3AR1
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0045766~positive regulation of angiogenesis	7	0,01693	C3, BTG1, C5AR1, C3AR1, CHI3L1, HMOX1, F3
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0034341~response to interferon-gamma	4	0,01747	CITED1, UBD, LOC504548, CXCL16
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0050776~regulation of immune response	4	0,01747	SPN, FCGR3A, FCGR2A, FCGR1A
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0016322~neuron remodeling	3	0,01828	C3, C1QA, SCARF1
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0006909~phagocytosis	5	0,02040	NCF2, ITGB2, IRF8, PLD4, ITGAL
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0050853~B cell receptor signaling pathway	5	0,02181	LAT2, LOC100300510, LCK, BCL2, NCKAP1L
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0007155~cell adhesion	13	0,02190	POSTN, TNC, ITGAL, PARVG, GPNMB, LOC112442215, CHL1, CASS4, ITGAX, LPXN, CCN1, FOLR2, FERMT3
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0051764~actin crosslink formation	3	0,02204	BAIAP2L2, BAIAP2L1, AIF1
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0045820~negative regulation of glycolytic process	3	0,02204	DDIT4, NUPR1, FBP1
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0031663~lipopolysaccharide-mediated signaling pathway	4	0,02793	NFKBIA, SPI1, PTAFR, CD14
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0006919~activation of cysteine-type endopeptidase activity involved in apoptotic process	5	0,02804	LCK, MYC, PMAIP1, XDH, F3
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0050729~positive regulation of inflammatory response	5	0,02804	NFKBIA, IL1RL1, CEBPB, SUCNR1, NKG7
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0050919~negative chemotaxis	4	0,03287	SEMA4A, RTN4RL1, SEMA3B, APOA1
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0071356~cellular response to tumor necrosis factor	6	0,03391	LOC781710, CCL22, LOC504773, CHI3L1, YBX3, GSDME
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0034142~toll-like receptor 4 signaling pathway	3	0,03496	NFKBIA, TNIP3, CD14
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0010759~positive regulation of macrophage chemotaxis	3	0,03496	CSF1R, C5AR1, C3AR1
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0007166~cell surface receptor signaling pathway	8	0,03741	SPN, CD86, FCGR3A, FCGR2A, CD8A, ADGRG5, GCGR, FCGR1A
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0007159~leukocyte cell-cell adhesion	3	0,03978	ITGB2, ITGAL, FERMT3
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0090023~positive regulation of neutrophil chemotaxis	3	0,03978	C5AR1, C3AR1, NCKAP1L
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0042493~response to drug	5	0,04126	LCK, MYC, BCL2, APOD, NCKAP1L
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0050830~defense response to Gram-positive bacterium	6	0,04189	GSDMD, LOC781710, C5AR1, RNASE6, LYZ, MPEG1
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0006915~apoptotic process	11	0,04281	TNFAIP8, CITED1, TCIM, DDIT4, BCL2, CHI3L1, HMOX1, DNASE1L3, BCL2L14, FOXO1, GADD45G
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0006911~phagocytosis, engulfment	4	0,04400	MSR1, BIN2, LOC100300510, AIF1
GOTERM_BP_DIRECT	GO:2000379~positive regulation of reactive oxygen species metabolic process	3	0,04483	CDKN1A, GADD45A, XDH
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0030335~positive regulation of cell migration	8	0,04621	RET, SH3RF2, SEMA4A, PDPN, SEMA3B, CCN1, CXCL16, FERMT3
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0043065~positive regulation of apoptotic process	9	0,04905	KLF11, TNFAIP8, GADD45A, ZBTB16, UBD, HMOX1, CCN1, LOC504548, FOXO1