

Andréia Dornas Pereira

**Alterações Estruturais e Perfil da Expressão Gênica
durante o Desenvolvimento Muscular Esquelético Pós-
Natal em Suínos de Diferentes Pesos ao Nascimento**

Instituto de Ciências Biológicas
Universidade Federal de Minas Gerais
Maio/2017

Andréia Dornas Pereira

Alterações Estruturais e Perfil da Expressão Gênica durante o Desenvolvimento Muscular Esquelético Pós-Natal em Suínos de Diferentes Pesos ao Nascimento

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular do Departamento de Morfologia, do Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Biologia Celular
Orientadora: Prof^a Fernanda R. C. L. Almeida
Co-orientadora: Prof^a Erika Cristina Jorge

Instituto de Ciências Biológicas
Universidade Federal de Minas Gerais
Maio/2017



ATA DA DEFESA DE TESE DE DOUTORADO DE

ANDRÉIA DORNAS PEREIRA

180/2017
entrada
2º/2013
2013745790

Às **quatorze horas** do dia **05 de maio de 2017**, reuniu-se, no Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, a Comissão Examinadora da Tese, indicada pelo Colegiado do Programa, para julgar, em exame final, o trabalho final intitulado: "**ALTERAÇÕES ESTRUTURAIS E PERFIL DA EXPRESSÃO GÊNICA DURANTE O DESENVOLVIMENTO MUSCULAR ESQUELÉTICO PÓS-NATAL EM SUÍNOS DE DIFERENTES PESOS AO NASCIMENTO**", requisito final para obtenção do grau de Doutora em Biologia Celular. Abrindo a sessão, a Presidente da Comissão, **Dra. Fernanda Radicchi C. L. de Almeida**, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares do Trabalho Final, passou a palavra à candidata, para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa da candidata. Logo após, a Comissão se reuniu, sem a presença da candidata e do público, para julgamento e expedição de resultado final. Foram atribuídas as seguintes indicações:

Prof./Pesq.	Instituição	Indicação
Dra. Fernanda Radicchi C. L. de Almeida	UFMG	APROVADA
Dra. Érika Cristina Jorge (co-orientadora)	UFMG	APROVADA
Dra. Gleide Fernandes de Avelar	UFMG	APROVADA
Dra. Ana Luisa Neves Alvarenga Dias	UFU	APROVADA
Dr. José Carlos Nogueira	FASEH	APROVADA
Dr. Rubens Stahlberg	PUC	APROVADA

Pelas indicações, a candidata foi considerada: APROVADA
O resultado final foi comunicado publicamente à candidata pela Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, a Presidente encerrou a reunião e lavrou a presente ATA, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora. **Belo Horizonte, 05 de maio de 2017.**

Dra. Fernanda Radicchi C. L. de Almeida (Orientadora) Fernanda Radicchi Almeida
Dra. Érika Cristina Jorge (co-orientadora) Érika Cristina Jorge
Dra. Gleide Fernandes de Avelar Gleide Fernandes de Avelar
Dra. Ana Luisa Neves Alvarenga Dias Ana Luisa Neves Alvarenga Dias
Dr. José Carlos Nogueira José Carlos Nogueira
Dr. Rubens Stahlberg Rubens Stahlberg

Obs: Este documento não terá validade sem a assinatura e carimbo do Coordenador

Luciana de Oliveira Andrade
Prof.ª Luciana de Oliveira Andrade
COORDENADORA DO PROGRAMA DE
PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR (ICB/UFMG)

Este trabalho de tese foi desenvolvido no Laboratório de Biologia Estrutural e Reprodução (LABER) do Departamento de Morfologia, do Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Minas Gerais, sob a orientação da Profª Fernanda R. C. L. Almeida e co-orientação da Profª Erika Cristina Jorge.

O presente experimento foi realizado em colaboração com o Prof. Fernando Bortolozzo da Faculdade de Veterinária da UFRGS, sendo parte integrante do projeto intitulado “FATORES ENVOLVIDOS NO DESENVOLVIMENTO CORPORAL E DESEMPENHO REPRODUTIVO DE REPRODUTORAS SUÍNAS”. Todas as amostras de músculo semitendíneo foram coletadas na UFRGS e enviadas para a UFMG.

As análises genômicas das amostras de músculo semitendíneo coletadas em animais de alto e baixo peso ao nascimento foram realizadas durante o período de setembro/2014 a janeiro/2015, em colaboração com Dr. Walter Dixon, Michael Dyck e Stephen Tsoi do laboratório de genômica do Department of Agricultural, Food and Nutritional Science da University of Alberta (Canadá).

O suporte financeiro para a realização deste trabalho foi provido pelas instituições:

- Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)
- Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)
- Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG)

Todo caminho da gente é resvaloso.
Mas também, cair não prejudica demais - a gente levanta, a gente sobe, a gente volta!...

O correr da vida embrulha tudo,
a vida é assim: esquenta e esfria, aperta e daí afrouxa, sossega e depois desinquieta.

O que ela quer da gente é coragem.

Guimarães Rosa

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo dom da vida! Sendo presença constante em todos os momentos, iluminando e guiando meus passos e responsável por todas as bênçãos e conquistas da minha vida, inclusive esta.

Aos meus queridos pais, Carlinhos e Valéria que são meu porto seguro e meus exemplos de vida, amor, fé, caráter, coragem e perseverança. Amo vocês! Obrigada por tudo!

Ao grande amor da minha vida Fio, pelo amor, apoio, companheirismo e por não me deixar desistir nunca! Você é o maior presente que Deus poderia me dar! Com você ao meu lado, toda luta e conquista vale a pena. Amo você!

Ao Pedro, por ser a razão da minha vida. Só de sentir você, meus dias se tornam especiais!

As minhas irmãs Titica e Carlinha, pela cumplicidade, amor, apoio e por me encorajar a seguir em frente sempre. Amo demais vocês!

Aos meus sobrinhos Beto, Nando, Heitor e Luíza que fazem da minha vida mais leve e divertida!

Aos meus cunhados pelo apoio, incentivo e amizade!

À vovó Icléia pelo amor e apoio. Por entender a minha ausência nestes últimos anos!

À Universidade de Itaúna, administração superior, colegas de trabalho e alunos pela compreensão, apoio e incentivo.

À professora Dra. Fernanda Almeida, pela orientação, apoio, incentivo, confiança, dedicação e ensinamentos. Que você continue sendo este exemplo de profissional para todos seus alunos e que Deus retribua a você tudo que fez por mim! Palavras não expressarão toda gratidão e carinho que tenho por você! Obrigada por tudo!

À professora Dra. Erika Cristina Jorge pela co-orientação, dedicação e disponibilidade. Obrigada pela confiança!

Ao professor Dr. Hélio Chiarini Garcia pela colaboração e apoio durante estes anos de estudo.

Ao professor Dr. Fernando Bortolozzo e Dr. Diogo Magnabosco, pela colaboração e coleta do material de estudo.

À professora Patrícia Martinelli pela colaboração.

Aos demais membros da banca, professores Dra. Ana Luísa Neves Alvarenga, Dra. Gleide Fernandes de Avelar, Dr. Rubens Stahlberg, e Dr. José Carlos Nogueira, pelas correções e sugestões que certamente serão de grande valia para este trabalho.

À Universidade Federal de Minas Gerais pela brilhante contribuição na capacitação de novos profissionais.

Ao curso de Pós-Graduação em Biologia Celular pela seriedade dos seus trabalhos.

Aos professores, coordenadora e vice-coordenadora do curso de Pós-Graduação em Biologia Celular, pelo apoio e ensinamentos adquiridos durante o curso.

Às Agências financiadoras, FAPEMIG, CNPq e CAPES pelo auxílio financeiro que possibilitaram a realização deste trabalho.

A secretária do programa de Pós-graduação em Biologia Celular, Rhuana, pela preocupação permanente com as documentações necessárias durante a realização do curso e por estar sempre disponível para solucionar qualquer problema.

A University of Alberta (Canadá) pela colaboração.

Aos queridos colegas do LABER e do programa de Pós- graduação pela amizade, colaboração e apoio durante estes anos de convivência.

As minhas grandes amigas, Fabíola e Rafa pela amizade e por estarem sempre presentes, me apoiando em todos os momentos da minha vida. Vocês são especiais demais! Amo vocês e levarei nossa amizade por toda vida!

Ao grande amigo Fernando, pela ajuda, apoio e incentivo. Que Deus ilumine seus passos!

As amigas do coração, Cynthia e Karen pelo carinho, apoio, incentivo. Por estarem sempre presentes na minha vida e não me deixarem desistir nunca! Amo vocês!

Aos queridos amigos de Itaúna que sempre torceram por mim.

A todos os meus familiares pelo amor e torcida constante.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente, me ajudaram na conquista de mais esta etapa importante de minha vida.

A todos vocês o meu carinho e MUITO OBRIGADA !!!

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Sequências de primers para qPCR específicos de suínos

Tabela 2. Dados da curva de calibração das análises de qPCR

Tabela 3. Peso corporal ao nascimento (kg) e peso absoluto de órgãos (g) em leitões de alto peso (AP) e baixo peso (BP) ao nascer

Tabela 4. Análises histomorfométricas do músculo semitendíneo em animais recém-nascidos, 100 e 150 dias de idade, pertencentes aos grupos de alto peso (AP) e baixo peso (BP) ao nascimento

Tabela 5. Quantificação de fibras musculares tipo MHCI (contração lenta) e MHCIIa, MHCIIb, MHCIIx (contração rápida) no músculo semitendíneo em animais RN, pertencentes aos grupos de alto peso (AP) e baixo (BP) peso ao nascimento

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama esquemático mostrando fatores que afetam o crescimento fetal em suínos (modificado de Ashworth., 2013).

Figura 2. Esquema representativo dos eventos celulares básicos que ocorrem durante a miogênese (modificado Rehfeldt et al., 2000)

Figura 3. Representação esquemática da formação das fibras musculares esqueléticas durante o período gestacional em suínos (modificado Wigmore & Sticklan, 1983).

Figura 4. Representação esquemática dos principais eventos da miogênese pós-natal, bem como dos genes reguladores em cada etapa (modificado Le grand & Rudnicki, 2007).

Figura 5. Esquema modificado representando divisão celular assimétrica durante a ativação de células satélites (Tedesco et al., 2010).

Figura 6. Ação do PPAR γ na captura e aprisionamento de ácidos graxos em adipócitos (modificado Semple et al., 2006)

Figura 7. Peso corporal dos animais recém-nascidos (RN) e aos 100 e 150 dias de idade dos grupos experimentais alto peso (AP) e baixo peso (BP) ao nascimento no momento da eutanásia. a,b: letras diferentes na mesma idade apresentam diferença estatisticamente significativa ($P < 0,05$).

Figura 8. Fotomicrografias de cortes transversais do músculo semitendíneo em suínos recém-nascidos de alto peso (A-B) e baixo peso (C-D) ao nascimento. PE, perimísio; VS, vaso sanguíneo; seta, núcleo de célula muscular; F, fibroblasto. Barras: A-C, 80 μ m; B-D, 13 μ m.

Figura 9. Fotomicrografias de cortes transversais de fascículos de músculo semitendíneo e de inúmeras fibras musculares de suínos de alto peso ao nascimento, nas idades de 100 (A) e 150 (B) dias. PE, perimísio, A, adipócito; VS, vaso sanguíneo. Barras: 60 µm.

Figura 10. Comparação entre os valores dos diâmetros das fibras musculares nas idades em estudo: recém-nascidos - RN (A), 100 (B) e 150 dias (C), em animais de alto (AP) e baixo (BP) peso ao nascimento (^{a,b} P < 0,05).

Figura 11 . Reação de imunofluorescência para miofibras MHC-I em suínos (A), e os respectivos controles positivo (B) e negativo (C).

Figure 12. Hipertrofia das fibras musculares esqueléticas durante o crescimento dos animais de 100 para 150 dias de idade: **(A)** MHCI (contração lenta), **(B)** MHCIIa, **(C)** MHCIIb and **(D)** MHCIIx.

Figura 13. Expressão relativa de genes adipogênicos, miogênicos e de crescimento em animais recém-nascidos (A), 100 dias (B) e 150 dias (C) de idade, pertencentes aos grupos experimentais de baixo peso ao nascimento, comparadas aos indivíduos de alto peso ao nascimento (valor de referência 1 na linha pontilhada).

LISTA DE ABREVIATURAS

A-Adipócito
ACTBL2- Actin β
ACTG2- Actin δ
ADSCs- Células embrionárias derivadas-adipócitos
AP- Alto peso
 μm - Micrômetro
BP- baixo peso
CAP - Centro de aquisição e processamento de imagens
CEUA - Comitê de Ética na Utilização de Animais
CKM- Creatine Kinase
CS- células satélites
DAPI- 4',6-diamidino-2-phenylindole
DES- Desmin
F- Fibroblasto
FABP- Fatty acid binding protein 4
GHR- Growth hormone receptor
ICB - Instituto de Ciências Biológicas
IGF1- Insulin- like growth factor 1
IGF1RL- Insulin- like growth factor 1 receptor
IUGR- Intrauterine growth restriction
LDHA- Lactate dehydrogenase A
LPL- Lipoprotein lipase
LEPR- Leptin receptor
MSCs- Células satélites musculares
MET - Microscopia eletrônica de transmissão
mg - Miligrama
MHCI- Myosin heavy chain type I
MHCIa- Myosin heavy chain type IIa
MHCIb- Myosin heavy chain type IIb
MHCIx- Myosin heavy chain type IIx
mL -Mililitro
mm – Milímetro
 mm^2 – Milímetro quadrado
MSCs- células satélites musculares
MSTN- Myostatin
MYOD- Myogenic differentiation
MYF5- Myogenic factor 5
MYOG- Myogenin
OMS -Organização Mundial da Saúde
PAX3- Paired Box gene 3
PAX7- Paired Box gene 7
PBS – Phosphate buffered saline
PE- Perimísio
PPAR- Peroxisome proliferator activated

PPARG -Peroxisome proliferator activated gama

qPCR- PCR quantitativo

pH - Potencial hidrogeniônico

RN- Recém-nascido

RNA -Ácido ribonucleico

RT- PCR -Reverse transcription polymerase chain reaction

UFMG - Universidade Federal de Minas Gerais

UFRGS- Universidade Federal do Rio Grande do Sul

VS - Vaso sanguíneo

Vv% - Proporção Volumétrica

SUMÁRIO

RESUMO	1
ABSTRACT	2
1.INTRODUÇÃO	3
2.OBJETIVOS	5
2.1.Objetivo geral	5
2.2.Objetivos específicos	5
3.REVISÃO DE LITERATURA	6
3.1. Intrauterine Growth Restriction (IUGR)	6
3.2. Efeitos da IUGR sobre o crescimento pós-natal	9
3.3. Miogênese na espécie suína	11
3.3.1 Regulação miogênica na espécie suína	16
3.3.1.1. Fatores genéticos	16
3.3.1.2. Fatores adipogênicos e metabólicos	22
3.3.1.3. Fatores relacionados ao crescimento	25
3.4 Tipificação das fibras musculares	25
4.MATERIAL E MÉTODOS	29
4.1. Animais e local de execução	29
4.2. Grupos experimentais	29
4.3. Eutanásia das leitoas pertencentes ao experimento	29
4.4. Pesagem dos órgãos para avaliação de IUGR	30
4.5. Processamento histológico	30
4.5.1. Avaliações morfológicas	31
4.5.2. Avaliações morfométricas	31
4.5.2.1. Número de fibras musculares por área	32
4.5.2.2. Diâmetro das fibras musculares	32
4.5.2.3. Histograma de frequência	33
4.5.2.5. Área total e número total de fibras musculares em recém-nascidos	33
4.5.2.6. Proporção volumétrica	33
4.6. Processamento para avaliações de Imunofluorescência	34

4.6.1. Imunomarcção das proteínas MHC (I, IIa, IIb e IIx)	34
4.6.2. Quantificação dos diferentes tipos de fibras musculares	35
4.7. Processamentos para avaliações moleculares	35
4.7.1. Análise de qPCR	36
4.8. Processamento da Análise Estatística	38
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
5.1. Peso corporal e peso dos órgãos ao nascimento	39
5.2. Crescimento pós-natal	39
5.3 Avaliações morfológicas e morfométricas	41
5.3.1 Avaliações Morfológicas	41
5.3.2 Avaliações Morfométricas	43
5.3.2.1. Histograma de frequência	45
5.4 Quantificação dos diferentes tipos de fibras musculares	47
5.5 Avaliações Moleculares	51
6. CONCLUSÕES	54
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55
8. ANEXOS	68
Anexo 1 – Aprovação pelo Comitê de Ética na Utilização de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)	68

RESUMO

Os leitões de baixo peso ao nascer apresentam crescimento pós-natal prejudicado em função de alterações no desenvolvimento das fibras musculares esqueléticas, fato este que pode comprometer a qualidade da carne desses animais. O presente estudo investigou o desenvolvimento muscular esquelético em fêmeas de diferentes pesos ao nascimento avaliando parâmetros histomorfométricos das fibras musculares, a expressão de genes relacionados à miogênese, adipogênese e crescimento, bem como a quantificação de diferentes tipos de miofibras. Foram selecionados 30 pares de fêmeas irmãs de mesma leitegada, que foram alocadas em dois grupos experimentais conforme o peso ao nascer: alto peso (AP: 1,4-1,7 kg) e baixo peso (BP: 0,8-1,0 kg). Após a seleção, foram obtidos três sub-grupos de 10 pares de leitões de cada grupo experimental: um sub-grupo foi eutanasiado ao nascimento, outro aos 100 dias e terceiro aos 150 dias de idade. Observou-se que fêmeas do grupo AP apresentaram pesos corporais maiores em comparação às do grupo BP em todas as idades avaliadas ($P < 0,05$). Além disso, as fêmeas BP recém-nascidas apresentaram maior relação entre peso do cérebro e peso do fígado, comprovando que esses animais sofreram restrição de crescimento intrauterino ($P < 0,05$). Embora as fibras musculares apresentassem maior diâmetro ao nascimento no grupo AP, essa diferença não se manteve ao longo do desenvolvimento pós-natal, uma vez que aos 100 e 150 dias de idade os diâmetros das miofibras foram semelhantes em ambos os grupos experimentais. A porcentagem de miofibras apresentando miosina de cadeia pesada (MHC) tipo I foi maior nas fêmeas BP ($P < 0,05$) ao nascimento, porém em fêmeas mais velhas (150 d), o grupo AP apresentou maior porcentagem de fibras MHCIIx ($P < 0,05$). Os níveis de RNAm de genes miogênicos, adipogênicos e relacionados ao crescimento mostraram padrões semelhantes de expressão genética no músculo semitendíneo nas três idades avaliadas. Assim, as alterações estruturais das miofibras observadas no presente estudo parecem ser mediadas por alterações na expressão gênica durante o desenvolvimento embrionário, podendo predeterminar a relação entre o crescimento muscular, o desempenho pós-natal e a qualidade da carne em suínos.

Palavras-chave: fibra muscular, miosina de cadeia pesada, peso ao nascimento, restrição intra-uterina de crescimento, crescimento pós-natal, qualidade de carne e suínos.

ABSTRACT

Low birth weight piglets have compromised postnatal growth due to impaired muscle accretion, which may affect meat quality in these animals. The present study investigated skeletal muscle development in different birth weight female pigs by evaluating histomorphometrical changes in muscle fibers, the expression of genes related to myogenesis, adipogenesis and growth, as well as the quantification of different myofiber types. Sixty pairs of littermate gilts were selected: one piglet with high (HW) and the other with low birth weight (LW) within a litter. Three sub-sets of 20 pairs of female littermates from each experimental group were obtained after selection: one sub-set was euthanized at birth, one at 100 days (-d) and another at 150-d of age. HW gilts were observed to have greater body weights than their LW counterparts at all ages evaluated ($P < 0.05$). In addition, LW newborn females showed higher brain to liver weight ratio, providing evidence of intrauterine growth restriction ($P < 0.05$). Even though muscle fibers were larger at birth in the HW group, they presented similar diameters at 100-d and 150-d old. The percentage of myosine heavy chain (MHC)-I myofibers was higher in LW females ($P < 0.05$) at birth, however in older gilts (150-d), HW showed higher percentage of MHCII-x fibers ($P < 0.05$). The mRNA levels of myogenic, adipogenic and growth-related genes showed similar patterns of gene expression in the semitendinosus muscle of the three ages evaluated. Hence, the myofibers structural changes presented herein may be mediated by gene expression alterations during the embryonic phase, which may predetermine the reported relationship between muscle growth, postnatal growth performance and meat quality.

Key words: muscle fiber, myosine heavy chain, birth weight, intra-uterine growth restriction, postnatal growth, meat quality

1. INTRODUÇÃO

Nas espécies de mamíferos, o crescimento adequado durante o período pré-natal é fundamental para a sobrevivência da prole, bem como para o desenvolvimento de todos os seus órgãos. Insultos que acometem indivíduos ainda dentro do útero podem afetar seu desenvolvimento pós-natal, fato este importante especialmente para espécies domésticas envolvidas no agronegócio (Ashworth, 2013; Che et al., 2017). Dentre estas, cabe ressaltar aquelas espécies criadas para a produção de carne, onde o ganho de peso corporal e a deposição de tecido muscular até o momento do abate poderão interferir na quantidade e na qualidade do produto final (Rehfeldt et al., 2011; Alvarenga et al., 2013).

Vários são os fatores que interferem no crescimento fetal, tais como genética, tamanho do útero, tamanho da placenta, maturidade e nutrição maternas, fatores ambientais dentre outros (Gondret et al., 2011; Perruchot et al., 2015). No entanto, capacidade uterina insuficiente (definida como alterações fisiológicas e bioquímicas impostas ao feto em função de limitações na anatomia do útero) e nutrição materna inadequada têm sido apontadas como os principais responsáveis por alterações no crescimento pré-natal dos indivíduos (Wu et al., 2006; Foxcroft et al., 2009). Estes insultos afetam a eficiência placentária, e consequentemente a transferência materna de nutrientes e gases ao feto, levando à restrição do crescimento do indivíduo ainda no útero, condição essa conhecida como Intrauterine growth restriction (IUGR) (Martin-Gronert & Ozanne, 2006; Che et al., 2017).

O desenvolvimento pré-natal inadequado origina indivíduos pequenos e fracos ao nascimento, que não conseguem expressar o seu potencial de crescimento ao longo da vida (Rehfeldt et al., 2011), provavelmente em função de um menor número de fibras musculares (Bérard et al., 2010; 2011). Como a formação das fibras musculares ocorre durante a vida intrauterina, insultos durante o período pré-natal podem ter consequências tanto imediatas quanto a longo prazo sobre o desenvolvimento muscular (Rehfeldt et al., 2011). Vale ressaltar que esta fase do desenvolvimento pré-natal do músculo esquelético é crucial para o crescimento pós-natal do indivíduo (Yang et al., 2014).

O suíno é uma espécie onde o IUGR ocorre de forma natural e severa (Wu et al., 2006). Dada à sua importância, não somente para a indústria mundial de carne, mas também a sua ampla utilização como modelo biomédico (Walters et al., 2011), um detalhamento das alterações tempo-dependentes que acometem a fibra muscular esquelética torna-se necessário para um melhor entendimento do impacto do IUGR sobre a miogênese e suas consequências sobre o desempenho pós-natal e a qualidade da carne em suínos.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O presente trabalho teve por objetivo investigar a miogênese e o desenvolvimento das fibras musculares esqueléticas em leitões de diferentes pesos ao nascimento em diferentes fases do desenvolvimento pós-natal: neonato, 100 e 150 dias de idade.

2.2 Objetivos Específicos:

Sempre comparando os animais de diferentes pesos ao nascimento nas três fases do desenvolvimento pós-natal (neonato, 100 e 150 dias de idade), os objetivos específicos foram:

I. Avaliar a ocorrência de restrição intra uterina do crescimento (IUGR) por meio da pesagem dos órgãos nos animais recém-nascidos, bem como o crescimento pós-natal em leitões aos 100 e 150 dias de idade.

II. Avaliar, por meio de estudos morfológicos, sob microscopia de luz, o músculo semitendíneo, pertencente ao grupo muscular da face caudal do membro pelvino;

III. Avaliar, por meio de estudos morfométricos, sob microscopia de luz, parâmetros quantitativos do músculo semitendíneo, tais como: número e diâmetro das fibras musculares, proporção volumétrica dos componentes teciduais do músculo e número de fibras e área total do músculo semitendíneo do recém-nascido.

IV. Quantificar, por meio de análises de imunofluorescência, os marcadores dos diferentes tipos de fibras musculares (fibras de contração rápida- MHCIIa, MHCIIb, MHCIIx- e contração lenta - MCHI) no músculo semitendíneo;

V. Quantificar a expressão relativa dos genes relacionados à miogênese, adipogênese e crescimento por meio de PCR quantitativo (qPCR).

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Intrauterine Growth Restriction (IUGR)

A programação do crescimento e desenvolvimento fetais é coordenada por uma associação entre o genótipo do embrião/feto e a regulação das expressões gênicas, sendo denominada programação fetal. Esta, por sua vez, é extremamente influenciada pelo ambiente intrauterino materno no qual o feto se desenvolve. Um dos fatores mais importantes para o desenvolvimento *in utero* é a capacidade materna em fornecer o suprimento adequado de nutrientes e oxigênio, permitindo que o feto atinja seu potencial de crescimento e apresente, ao nascimento, o desenvolvimento e o tamanho apropriados para a sua sobrevivência na vida pós-natal (Wu et al., 2004; Martin-Gronert e Ozanne, 2006).

A habilidade materna em fornecer nutrientes para o feto depende do seu estado nutricional, tamanho, composição e metabolismo corporais. Qualquer anormalidade nestes parâmetros pode resultar em uma deficiência no aporte nutricional para o feto, levando ao comprometimento do crescimento e desenvolvimento deste (Chiswick, 1985; Martin-Gronert e Ozanne, 2006, Ashworth, 2013 – Figura 1).

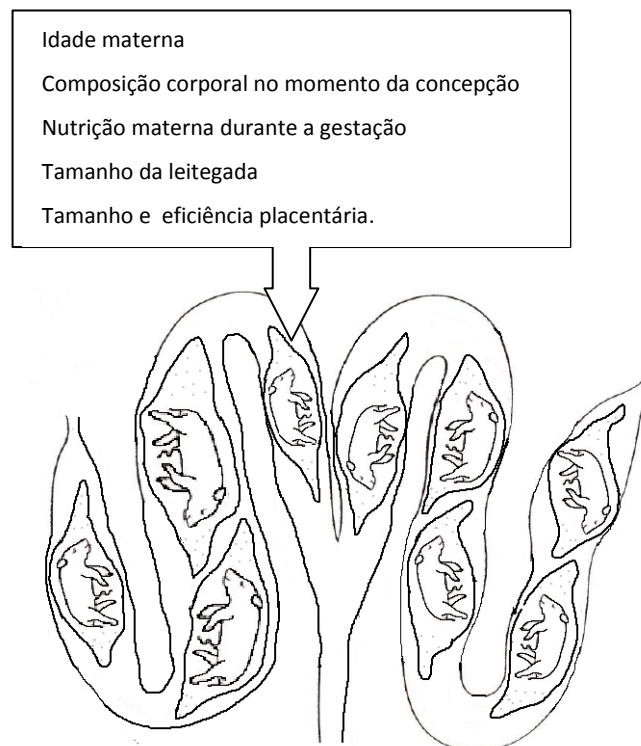


Figura 1. Diagrama esquemático mostrando fatores que afetam o crescimento fetal em suínos (modificado de Ashworth., 2013).

Assim, a restrição do crescimento intrauterino pode ser definida como prejuízos ao crescimento e desenvolvimento do embrião/feto de mamíferos ou de seus órgãos durante a gestação, sendo o peso fetal ou o peso ao nascer relativo à idade gestacional frequentemente usado como critério de identificação de IUGR (Wu et al., 2008).

Animais acometidos pela IUGR apresentam maior taxa de mortalidade durante o período perinatal, além de comprometimento do crescimento pós-natal. Este foi o fundamento da teoria "origem fetal da doença no adulto" estabelecida por Barker em 1995, na qual alterações nutricionais, metabólicas e endócrinas no feto poderiam resultar em adaptações que mudariam permanentemente a estrutura, fisiologia e metabolismo do indivíduo, predispondo-o a doenças metabólicas, endócrinas e cardiovasculares na vida adulta. Dessa forma, capacidade uterina e função placentária adequadas são cruciais para o crescimento e desenvolvimento normais dos fetos em todas as espécies. Isto se deve ao fato que, frente a uma deficiência nutricional, um processo de adaptação fetal é desencadeado, com o objetivo de aumentar as chances de sobrevivência após o nascimento. De acordo com Barker (1998) e Martin-Gronert e Ozanne (2006), a resposta imediata a esse insulto é a obtenção de energia por meio de acúmulo de tecido adiposo, redução da taxa metabólica, alterações na produção hormonal e na sensibilidade dos tecidos aos hormônios produzidos. Além destas, outra importante alteração é a redistribuição do fluxo sanguíneo para órgãos-chave, especialmente o cérebro, caracterizando um crescimento cerebral normal à custa dos demais órgãos internos e tecidos, tais como músculos, rins, pâncreas e fígado, efeito este conhecido por "brain sparing effect" ou efeito de poupar o cérebro. Com isso, os indivíduos apresentam um crescimento assimétrico de órgãos (Ashworth, 2013; Bauer et al., 1998). Em geral, essas adaptações metabólicas e fisiológicas determinam um menor crescimento fetal, aquém do seu potencial, o que resulta no nascimento de indivíduos pequenos e fracos, caracterizando a ocorrência de IUGR (Finchi et al., 2004; Pardo et al., 2012). Neste sentido, o baixo peso dos animais ao nascer pode ser considerado uma característica de restrição do crescimento, entretanto nem todo o leitão que nasce leve sofreu IUGR. O diagnóstico é realizado por meio da relação entre o peso do cérebro e o peso do fígado, onde o quociente menor que 1, indica animal normal (Foxcroft et al., 2009).

A IUGR está presente em algumas espécies de mamíferos, incluindo seres humanos, oferecendo assim oportunidades de se investigar esta enfermidade utilizando modelos

animais (Ferenc et al. 2014). Uma variedade de modelos animais tem sido utilizada para este fim, no entanto, a maioria dos estudos envolve intervenção cirúrgica. Não obstante, na espécie suína, a IUGR ocorre naturalmente e de forma severa, sendo essa espécie amplamente utilizada e considerada o modelo experimental adequado para o estudo em humanos (Cooper, 1975; Ferenc et al., 2014). Adicionalmente, há algumas semelhanças entre o leitão recém-nascido e o recém-nascido humano, que englobam o nível de maturidade ao nascimento, estruturas anatômicas, suscetibilidade à hipotermia, capacidade de termogênese e o aumento da taxa metabólica nos primeiros dias de vida. Há ainda semelhanças quanto ao desenvolvimento do trato gastrointestinal, o que reforça seu uso como um modelo pré-clínico para estudos de transplante e doenças gastrointestinais (Ferenc et al., 2014).

A placenta é o órgão que desempenha papel crucial neste cenário, sendo que a capacidade em transportar nutrientes apresenta efeito direto sobre o crescimento fetal (Finch et al., 2004). Conforme demonstrado no estudo de Ashworth et al. (2001), placentas que envolvem os menores fetos no útero são desproporcionalmente mais leves em comparação àquelas que envolvem fetos maiores na mesma leitegada. Achados semelhantes foram descritos por Town et al. (2004), enfatizando a importância do tamanho placentário para o crescimento do feto. Adicionalmente, alterações na dieta materna durante a gestação provocaram mudanças permanentes na prole, incluindo alterações na pressão sanguínea, metabolismo do colesterol, secreção de insulina, e principalmente os efeitos tecido-específicos, resultando em mudanças no número de fibras musculares (Dwyer et al., 1995).

No trabalho de Alvarenga et al. (2013), foi investigado a ocorrência da IUGR e seu impacto sobre o desenvolvimento pós-natal de leitões de diferentes pesos ao nascimento. Neste trabalho, concluiu-se que animais de baixo peso ao nascer sofreram IUGR e apresentaram pior crescimento pós-natal, devido a alterações no desenvolvimento muscular e na morfologia da mucosa intestinal, fatores responsáveis pela diminuição do ganho médio de peso diário. Neste estudo, os piores desempenhos no crescimento, qualidade de carcaça e maior taxa de mortalidade ocorreram em animais de baixo peso ao nascer, fato este que leva a grandes perdas econômicas para produtores de suínos. Segundo Pardo et al. (2012), o pior desempenho dos animais de baixo peso ao nascer pode estar associado ao

comprometimento da hiperplasia de miofibras, especialmente das miofibras secundárias no músculo semitendíneo.

Existem evidências de que a IUGR, além de afetar o desenvolvimento pós-natal em suínos, também pode afetar a qualidade da carne nesta espécie. Este fato foi demonstrado no trabalho de Gondret et al. (2006), no qual foi observada uma estreita relação entre baixo peso ao nascer e pior qualidade de carne, devido em parte ao baixo número de miofibras e a uma hipertrofia acelerada de fibras. Neste trabalho foram determinadas as influências do peso ao nascimento sobre o tecido adiposo, o desenvolvimento muscular e as consequências sobre a qualidade alimentar quando os suínos foram criados e alimentados individualmente durante o período de crescimento e abate. O acesso livre ao alimento durante o período de crescimento e abate favoreceu a deposição de gordura em suínos que apresentaram baixo peso ao nascimento, resultando em uma carcaça com maior taxa de gordura e aumento do conteúdo lipídico do músculo semitendíneo dos animais que nasceram mais leves, comparados relativamente aos seus irmãos de leitegada mais pesados. Além disso, este estudo reforçou a evidência de que as áreas de miofibras foram menores em leitões de baixo peso ao nascimento comparado aos suínos mais pesados ao abate.

3.2. Efeitos da IUGR sobre o crescimento pós- natal

O fenótipo de um leitão recém-nascido é resultante da interação entre seu desenvolvimento fetal e o ambiente intrauterino no qual foi gerado, sendo amplamente influenciado pelo suprimento de nutrientes ao embrião/feto e de sua habilidade em utilizar os substratos disponíveis para seu desenvolvimento (Rehfeldt & Kuhn, 2006). Além da nutrição materna, a competição entre os fetos dentro do útero pelos nutrientes também afetaria o crescimento fetal, visto que já foi demonstrado que o peso ao nascer seria inversamente correlacionado ao tamanho da leitegada (Town et al., 2004). Dessa forma, a incidência de leitões pequenos ao nascimento seria maior em leitegadas grandes (acima de 10 leitões) (Milligan et al., 2002).

Leitões de baixo peso ao nascer apresentam perda de peso nas primeiras 24 horas de vida, fato este que pode contribuir para a maior taxa de mortalidade durante o período neonatal nestes indivíduos (Baxter et al., 2008). Há evidências de que leitões pequenos ao

nascimento também necessitam de mais dias para atingirem o peso de abate e acumulam mais gordura na carcaça que leitões que nasceram mais pesados. Isto poderia estar relacionado ao desenvolvimento inadequado do trato gastrointestinal, contribuindo para um pior desempenho destes animais (Wang et al., 2005). Assim, o peso ao nascer é uma importante característica econômica para a suinocultura, visto que leitões pequenos ao nascimento, além de apresentarem menores taxas de sobrevivência, podem também apresentar piores taxas de crescimento pós-natal (Quiniou et al., 2002).

Estudos sobre os efeitos do peso ao nascimento sobre o desempenho futuro do suíno são bastante antigos, datando da década de 1980 (Powell & Aberle, 1980; Campbell & Dunkin, 1982). Em trabalhos mais recentes, diversos autores comprovaram o efeito do peso ao nascer sobre o desempenho dos leitões ao longo das diferentes fases do ciclo de produção, conhecido como efeito multiplicador dos pesos (Quiniou et al., 2002; Rehfeldt & Kuhn, 2006; Beaulieu et al., 2010; Alvarenga et al., 2013; Almeida et al., 2017). Todos estes trabalhos evidenciaram que o efeito multiplicador dos pesos é real e consolidado, sendo que a principal explicação biológica para tal fato seria o desenvolvimento das fibras musculares nos fetos suínos, que ocorre de forma diferenciada entre leitões leves e pesados ao nascer (Rehfeldt & Kuhn, 2006; Alvarenga et al., 2013). Entretanto, alguns relatos não encontraram variação consistente no número total de fibras em relação ao peso de nascimento (Dwyer et al., 1993).

No recente estudo de Alvarenga et al. (2013), foi demonstrado que leitões com alto peso ao nascimento apresentaram maior número total de fibras musculares em relação aos animais mais leves, característica esta que estaria definida antes do nascimento (Wigmore & Stickland, 1983). Aos 150 dias, os animais de alto peso ao nascer ainda apresentavam maior densidade de miofibras (número de fibras musculares/mm²), o que poderia justificar a melhor taxa de crescimento neste grupo experimental.

Os suínos experimentam um período de crescimento compensatório durante pelo menos as duas primeiras semanas de vida, durante o qual crescem de forma eficiente em função da hipertrofia das fibras musculares (Rehfeldt & Kuhn, 2006). Entretanto, há evidências de que leitões pequenos ao nascimento necessitariam de mais dias para atingirem o peso de abate que animais mais pesados (Quiniou et al., 2002; Gondret et al.,

2006; Alvarenga et al., 2013). No trabalho de Gondret et al. (2006), também foi demonstrado que a qualidade da carne dos animais de baixo peso ao nascer seria pior.

Neste sentido, menores taxas de crescimento pós-natal estariam relacionadas ao menor número de miofibras em leitões de baixo peso ao nascer, devido aos insultos ocorridos durante a miogênese. Assim sendo, as características associadas ao desenvolvimento pós-natal e qualidade de carne poderiam ser influenciadas pelo número e tamanho das fibras musculares, determinadas em torno dos 90-95 dias de gestação (Gondret et al., 2006). Adicionalmente, o crescimento e a regeneração do músculo esquelético durante o desenvolvimento pós-natal dependem, em grande parte, da ativação de células denominadas células satélites (CS) (Zhu et al., 2013). De particular interesse para o agronegócio, estas células contribuem para o crescimento das fibras musculares, sendo necessárias para a hipertrofia muscular que ocorre durante o crescimento normal do músculo (Moss and Leblond, 1971). Além disso, as CS contribuem para a determinação do tipo de fibra (contração rápida ou lenta), dependendo em grande parte de como estes miotubos crescem e se fundem (Zhu et al., 2013).

Dwyer et al. (1994) demonstraram que o peso ao nascimento não determina, necessariamente, o potencial de crescimento até a idade de abate, de tal forma que o número de fibras musculares pode ser o melhor indicador de crescimento neste período. A correlação positiva entre o peso ao nascimento e o número de fibras/mm² observada no estudo de Alvarenga et al. (2013) vem reforçar os achados de Dwyer e colaboradores (1994).

No entanto, a possibilidade de que o peso ao nascer afetaria, irreversivelmente, o desenvolvimento muscular continua controversa (Bee et al., 2007; Poore & Fowden, 2004; Gondret et al., 2005) em função da interferência de fatores externos, como a competição entre os leitões, que afeta diretamente o consumo de ração dos animais (Powell & Aberle, 1980). Portanto, estudos dos mecanismos envolvidos durante a miogênese poderiam auxiliar a elucidar tais questões.

3.3. Miogênese na espécie suína

O desenvolvimento pré-natal do tecido muscular, processo conhecido como miogênese, pode ser dividido em três fases: embrionária, fetal e pós-natal. Estas fases

correspondem à miogênese primária, secundária e pós-natal, respectivamente (Wigmore & Stickland, 1983). As fibras musculares são originadas a partir de células precursoras miogênicas denominadas mioblastos. No entanto, as células chamadas de progenitoras miogênicas, ainda não são células musculares. Ambas as células precursoras miogênicas e mioblastos proliferam para aumentar seu número. Como as células miogênicas são derivadas de células progenitoras miogênicas, o aumento da proliferação de células progenitoras aumenta o número de células miogênicas que formarão mais miofibras primárias (Yan et al. 2013) (Figura 2).

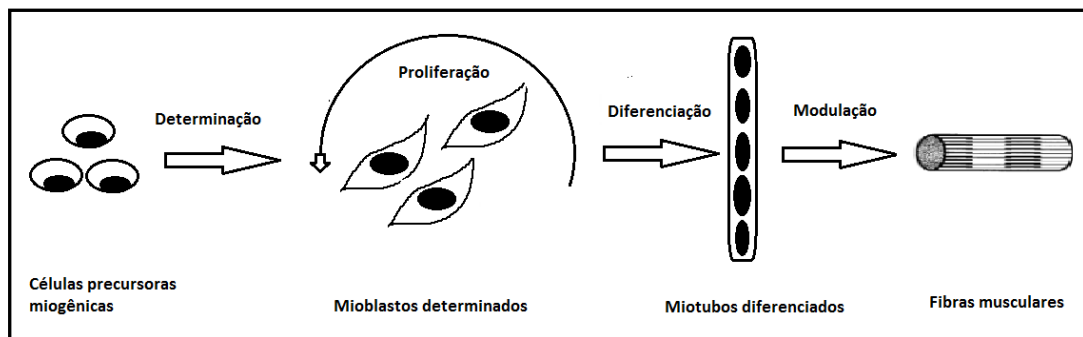


Figura 2. Esquema representativo dos eventos celulares básicos que ocorrem durante a miogênese (modificado de Rehfeldt et al. 2000)

Quando existem sinais ambientais pertinentes, tais como nutrição, os mioblastos alinham-se uns aos outros, fundem-se, diferenciam-se em fibras musculares imaturas conhecidas como miotubos, e finalmente, diferenciam-se em fibras musculares (Yan et al. 2013). Dessa forma, a primeira onda de formação de miotubos é originada de mioblastos embrionários, e a segunda, de mioblastos fetais, que por sua vez, darão origem às fibras musculares primárias e secundárias. Há evidências de que a segunda onda miogênica constituiria a maior parte das fibras musculares (Du & Zhu, 2009). Portanto, a fase fetal, quando a miogênese secundária está em curso, é considerada crítica para o desenvolvimento do músculo esquelético. Uma vez que o número de fibras musculares formado durante a fase fetal é dependente do número de células progenitoras miogênicas disponíveis e sua proliferação ser altamente sensível ao aporte de nutrientes, a nutrição materna pode afetar drasticamente o desenvolvimento muscular esquelético (Yan et al. 2013), sendo, a desnutrição materna um possível fator de redução do número de fibras musculares no feto (Zhu et al., 2008).

Em suínos, a natureza bifásica da formação das fibras musculares foi bem estabelecida e os períodos críticos do desenvolvimento muscular no feto durante a gestação foram identificados (Wigmore & Stickland, 1983, Lefaucher et al., 1995). No início do desenvolvimento embrionário, células mesenquimais se diferenciam em células miogênicas precursoras mioblastos mononucleados. A partir destas células, uma população inicial de fibras primárias se desenvolve entre 35 e 55 dias de gestação, por meio de rápida fusão dos mioblastos para formar os miotubos primários (células multinucleadas alongadas que não se dividem). Posteriormente, entre os dias 55 a 90-95 de gestação, uma segunda geração de miotubos aparece, originando a massa muscular principal. As fibras secundárias se formam ao redor dos miotubos primários, usando os mesmos como moldura, o que direciona seu crescimento para os tendões. No músculo semitendíneo, por exemplo, em média 20 fibras secundárias envolvem cada fibra primária (Bridi, 2009). Finalmente, por volta dos 85-90 dias de gestação, cessa a formação de fibras (Figura 3). Logo, considera-se que o número total de fibras seja determinado definitivamente aos 90-95 dias de gestação, porém a hipertrofia e maturação musculares continuam após o nascimento (Wigmore & Stickland, 1983; Lefaucher et al. 1995; Muráni et al., 2007; Reis et al., 2016).

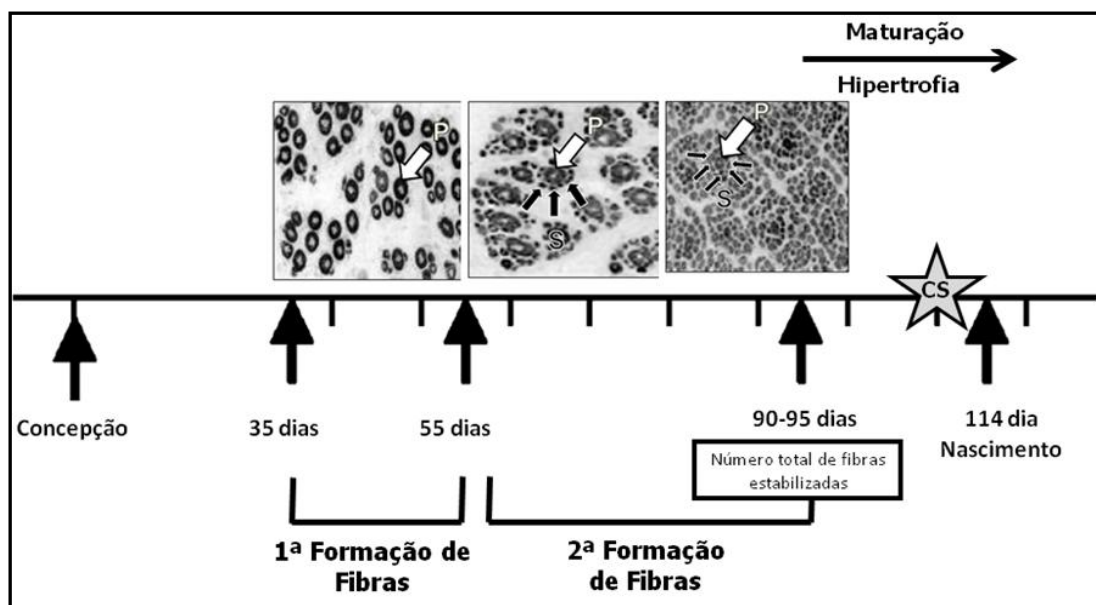


Figura 3. Representação esquemática da formação das fibras musculares esqueléticas durante o período gestacional em suínos (modificado de Wigmore & Sticklan, 1983).

Na espécie suína, os miotubos primários constituem um menor número de fibras musculares. No músculo adulto, a proporção de miotubos primários para secundários é de cerca de 1:20. No entanto, ambas as populações de miotubos influenciam significativamente o número de fibras e o tamanho do músculo (Muráni et al., 2007).

O período inicial da miogênese, que envolve a diferenciação das fibras musculares primárias parece ser resistente à manipulação nutricional, ao passo que os efeitos nutricionais e hormonais sobre a diferenciação e hiperplasia de fibras secundárias tem sido demonstrada entre os dias 25 a 90 de gestação (Dwyer et al., 1994; Silva et al., 2012).

A existência de uma terceira geração de fibras tem sido descrita em ovinos (Picard et al., 2002), suínos (Lefaucher et al., 1995; Picard et al., 2002), humanos (Draeger et al., 1997; Tedesco et al., 2010; Otto et al., 2009) e bovinos (Gagnière et al., 1999). Quando se formam, estas células estão estreitamente associadas aos miotubos secundários assim como os miotubos recém-formados se associam aos miotubos primários. Em bovinos, ovinos e humanos, elas são observadas quando cerca de 40% do período de gestação está completo (Draeger et al., 1997), e nos suínos, elas aparecem próximo ao nascimento (Picard et al., 2002). Segundo Bridi (2009), esta terceira população de mioblastos não forma fibras musculares, mas ficaria localizada próximo às miofibras, sendo chamada de células satélites.

Durante o período de crescimento pós-natal do animal, o crescimento muscular ocorre somente por hipertrofia (aumento do tamanho e comprimento individual da célula), principalmente pelo acréscimo de proteínas e de núcleos originados da proliferação e fusão das células satélites à célula muscular. Além disso, o número de células satélites varia conforme a idade, o tipo de músculo, a nutrição e a demanda de esforço do indivíduo (Bridi, 2009).

A hipertrofia ocorre primeiramente no sentido longitudinal da fibra pelo aumento do número de sarcômeros e, posteriormente, ocorre um aumento do diâmetro pela deposição de proteínas miofibrilares. Portanto, o aumento do tamanho da fibra muscular está limitado por fatores genéticos e nutricionais que irão determinar a capacidade do músculo sintetizar proteínas musculares (Bridi, 2009).

A extensão da hipertrofia da fibra muscular e, conseqüentemente, a capacidade do músculo em crescer, depende também do número de miofibras dentro do músculo, que é fixo ao nascimento. Este fato vem de encontro às evidências de que o tamanho da miofibra é

inversamente proporcional ao número de fibras, ou seja, a taxa de crescimento individual da fibra muscular é menor quando há um alto número de miofibras, sendo esta taxa alta, quando o número de fibras musculares for baixo (Rehfeldt et al., 2000). No entanto, alguns questionamentos ainda permanecem, dentre eles esclarecimentos sobre o fator mais importante para o crescimento do tecido muscular (hipertrofia ou número de miofibras). De acordo com Rehfeldt et al. (2000), o crescimento potencial do tecido muscular dependeria primariamente do número de fibras formadas no período pré-natal, uma vez que a hipertrofia seria influenciada por fatores genéticos e fisiológicos. Consequentemente, prejuízos no crescimento pós-natal poderiam ser esperados em animais com baixo número de fibras.

O desenvolvimento muscular é um processo complexo, incluindo não apenas miogênese embrionária, como também a maturação de miofibras adultas (Qin et al. 2013). Existem evidências de que peso ao nascimento ou peso muscular ao nascimento correlaciona-se principalmente com o número de miofibras formado durante miogênese pré-natal (Gondret et al., 2006). Em contraste, o crescimento muscular no período pós-natal é geralmente associado à hipertrofia das fibras existentes, que por sua vez está associada à atividade de células satélites (Paredes et al., 2014). Neste sentido, o baixo peso ao nascer de leitões parece ter uma relação positiva com a redução do número de fibras musculares, decorrente principalmente da deficiência do aporte de nutrientes na unidade feto placentária (Gondret et al., 2006).

Dessa forma, a miogênese representa um modelo ideal para o estudo da diferenciação celular. Como a regeneração muscular é um processo semelhante à miogênese, seu estudo fornece conhecimentos básicos para o desenvolvimento de terapias importantes no tratamento de doenças musculares em humanos. Por outro lado, em animais de produção, o interesse sobre o estudo da miogênese é impulsionado principalmente pela percepção de que o potencial de crescimento muscular está associado ao número e estrutura das fibras musculares, características estas determinadas durante o desenvolvimento pré-natal (Muráni et al., 2007). Portanto, o controle da miogênese visando aumentar o número de mioblastos e de fibras musculares em espécies destinadas à produção de carne é uma estratégia importante, onde o ganho de peso corporal e a

deposição de tecido muscular até o momento do abate poderão interferir na qualidade do produto final.

3.3.1. Regulação da miogênese na espécie suína

Todos os eventos moleculares que ocorrem durante a formação das fibras musculares são controlados por fatores de regulação miogênica (Hou et al., 2012). Assim, o conhecimento dos processos moleculares que governam as características fenotípicas do desenvolvimento do músculo esquelético é fundamental para a compreensão do processo de crescimento pós-natal de espécies de cunho zootécnico, onde a produção de carne apresenta grande importância econômica. (Wu et al., 2013). A título de esclarecimento, o termo carne tem por definição o tecido muscular esquelético em animais abatidos (Te Pas et al., 2004). Assim sendo, a análise das alterações na expressão de genes miogênicos durante o período pré-natal, quando ocorrem as duas ondas de fusão de mioblastos, pode ser muito importante para a compreensão das diferenças bioquímicas na musculatura e qualidade da carne em animais descendentes de cruzamentos de raças diferentes (Reis et al. 2016).

3.3.1.1. Fatores genéticos

As alterações na expressão gênica associadas ao desenvolvimento e crescimento musculares foram examinadas em diferentes raças de suínos em várias idades gestacionais (Te Pas et al., 2004, Muráni et al., 2007; Yang et al. 2014; Zhao et al., 2011). No trabalho de Yang et al. (2014), utilizando as raças de suínos Yorkshire e Chenghua para elucidar os mecanismos envolvidos no desenvolvimento muscular em animais com aptidão para depósito de carne magra ou gordura, foram examinados a expressão de genes relacionados à miogênese, adipogênese e crescimento de músculo esquelético durante o desenvolvimento fetal (50 e 90 dias), utilizando RT-PCR (Reverse transcription polymerase chain reaction). Os genes analisados foram divididos em miogênicos: CKM, MYOD, MYOG, DES, LEPR, PAX7; adipogênicos: PPARG, LPL, FABP4 e crescimento: GHR, IGF-1. Devido ao seu papel regulador tanto miogênico quanto adipogênico, a MSTN não foi adicionada a estes grupos e sim agrupada com GHR, IGF-1, relacionada ao crescimento. Houve diferenças nos padrões de expressão de genes miogênicos e adipogênicos em fetos nos dias 50 e 90 de gestação nas raças Chenghua e Yorkshire. Os autores concluíram que, para o músculo

esquelético, as fases primária e secundária da miogênese desempenhariam papéis vitais no desenvolvimento muscular durante os períodos fetal e pós-natal, sendo importantes para a transformação do músculo em carne em suínos. Nesse estudo, também foram observadas diferenças significativas entre as raças quanto ao desenvolvimento do músculo esquelético, sendo este maior em raças com maior deposição de músculo.

O conhecimento dos fatores genéticos e epigenéticos que governam a formação de ambas as gerações de miotubos é fundamental para a compreensão do controle do crescimento e estrutura muscular, uma vez que os genes podem regular positiva ou negativamente a miogênese. Neste sentido, Muráni et al. (2007) realizaram um estudo do perfil da expressão gênica do desenvolvimento do músculo esquelético em suínos, utilizando tecido embrionário e fetal do músculo longissimus dorsi em sete estágios gestacionais principais (dias 14, 21, 35, 49, 63, 77 e 91 pós-concepção) abrangendo toda a miogênese, desde a somitogênese até a maturação dos miotubos em miofibras, utilizando RT-PCR. As expressões gênicas foram determinadas em duas raças, Pietrain e Duroc, dividindo os genes analisados em categorias funcionais, como genes que codificam genes miofibrilares (8 genes: *MYH3*, *MYH1*, *TNNI2*, *MYPN*, *MYH2*, *TTN*, *NRAP*, *TPM1*), genes envolvidos na adesão celular, sinalização celular e síntese/ remodelação da matriz extracelular (8 genes: *SDC3*, *LAMB1*, *SSPN*, *IGSF1*, *SPARCL1*, *SPP1*, *TIMP2*, *TJP1*), genes reguladores da expressão gênica (8 genes: *BICC1*, *GATA3*, *HMGGA2*, *HMGGN1*, *JMJD2A*, *RAB6IP2*, *SETBP1*, *SMAD7*) e metabólicos (8 genes: *ARNIP*, *GLUD1*, *LTB4DH*, *LXN*, *ND2*, *ND4L*, *NDUFA10*, *RPL37*). Este estudo revelou a existência de vários genes e transcrições novas (*GATA3*, *HMGGA2*, *NRAP*, *SMC6L1*, *SPP1*, *RAB6IP2*, *TJP1*) não previamente associadas à miogênese, bem como o conhecimento de fatores genéticos que operam durante a miogênese. Genes que exibiram diferenças entre as raças representariam genes candidatos para o crescimento e estrutura muscular. Foram identificados genes novos que poderiam estar envolvidos nestes processos (*IGFBPL1*), durante a miogênese. Particularmente interessantes, são os genes que apresentam expressão diferencial entre as duas raças, diferindo acentuadamente na estrutura muscular. As diferenças associadas às raças quanto à expressão de *RAB6IP2*, *PDGFRA* e *SPP1* sugerem que a miogênese é tardia especialmente durante a primeira onda em Pietrain, provavelmente atrasando a formação de miotubos primários, sendo esta raça a mais musculosa, permitindo a geração de um maior conjunto de células precursoras musculares.

O número e o tamanho dos miotubos primários são fatores intrínsecos que afetam o número de miotubos secundários. Assim, a seleção genética pode afetar a primeira onda da miogênese, promovendo genes ativos nesta fase, considerados como candidatos primários à manipulação do músculo em crescimento.

Como o desenvolvimento do músculo esquelético é complexo, em virtude de vários genes participarem da regulação, proliferação e diferenciação celular durante os diferentes períodos de crescimento, a coleta de amostras em apenas alguns destes momentos pode não conseguir detectar os muitos miRNAs (micro-RNA) envolvidos no desenvolvimento muscular (Hou et al., 2012).

No trabalho de Hou et al. (2012), para investigar miRNAs de forma abrangente, foram necessárias coletas do músculo esquelético em 18 estágios de desenvolvimento (estágios gestacional, neonatal e adulto) e assim reuniram-se todos os RNAs para identificar os miRNAs envolvidos na miogênese. Os miRNAs que são expressos abundantemente em células musculares esqueléticas ou miocárdicas e são chamadas de myomiRs (como por exemplo miR-1, miR-206 e miR-133). Estes, por sua vez desempenham papéis importantes na regulação do desenvolvimento muscular, sendo sua expressão regulada por fatores miogênicos, como MYOD, podendo também os miRNAs controlarem o tipo de fibra de músculos esqueléticos (Hou et al. 2012).

O músculo esquelético enquanto órgão é constituído por vários tipos de células, tais como fibras musculares, adipócitos, células endoteliais, células do tecido conjuntivo e células satélites. Desta forma, para melhor compreender os mecanismos moleculares de desenvolvimento muscular, faz-se necessário investigar a expressão miogênica, adipogênica e de fatores relacionados ao crescimento muscular (Yang et al., 2014). Dentre eles, os mais importantes relacionados ao desenvolvimento muscular são os fatores reguladores miogênicos (MRFs), tais como *MYOD* (diferenciação miogênica 1), *MYF5* (fator miogênico 5), *MYOG* (miogenina) e *MYF6* (fator miogênico 6) (Qin et al., 2013), importantes para o desenvolvimento muscular em mamíferos, pois estão comprometidos com a formação, maturação e desenvolvimento pós-natal das fibras musculares (Liu et al., 2015). *MYF5* e *MYOD* são primeiramente expressos para especificar a linhagem miogênica durante o desenvolvimento embrionário, que contribuem para a especificação e diferenciação em mioblastos (Megoney & Rudnicki, 1995; Te Pas et al., 2004; Qin et al., 2013), enquanto

MYOG e *MRF4* são fatores de diferenciação miogênica que contribuem para a fusão de mioblastos e formação de miotubos (Megney &, Rudnicki 1995), induzindo a diferenciação terminal das fibras musculares (Te Pas et al., 2004; Qin et al., 2013). *MYOD* desempenha um papel vital na miogênese do músculo esquelético em desenvolvimento, sendo considerado um gene importante para as características de produção de carne (Yang et al., 2014).

Em se tratando de fatores reguladores miogênicos (MRFs), no trabalho de Reis et al. (2016), onde se investigou a expressão gênica durante a miogênese em linhagem de suíno comercial (Duroc, Landrace e Large-White) e na raça Piau, em 21 dias pós- inseminação (embriões) e 40, 70 e 90 dias pós- inseminação (fetos), a análise da expressão gênica nesses períodos esclareceu possíveis diferenças na miogênese e muscularidade entre as raças estudadas, como por exemplo maior expressão de *MYOG* durante os períodos de formação de fibras primárias (40 dias pós inseminação) e secundárias (70 e 90 dias pós inseminação) em suínos de linhagem comercial e na raça Piau. Este gene está relacionado aos processos biológicos de desenvolvimento da estrutura muscular, e os resultados deste trabalho confirmaram a importância deste fator de transcrição para a formação de fibras primárias e secundárias durante a diferenciação miogênica.

A Família 'Paired Box', ou Pax, corresponde aos genes que funcionam como fatores de transcrição e desempenham um papel essencial durante o desenvolvimento embrionário. *PAX3* e *PAX7* são genes homólogos que compõem um dos quatro subgrupos. Apesar da sua homologia estrutural, *PAX3* e *PAX7* têm funções diferentes durante o desenvolvimento embrionário, atuando na via miogênica embrionária, particularmente na especificação de células embrionárias miogênicas (Otto et. al., 2009), na indução da expressão de fatores reguladores miogênicos, incluindo a diferenciação de *MYOD* e *MYOG*. A expressão de MRFs é regulada por *PAX3* e *PAX7* (Hu et al., 2008). Pax3 está envolvido no controle das células precursoras da linhagem miogênica, atuando como fator regulador do *MYOD*. *PAX7* atua na especificação da linhagem celular satélite em vertebrados e age como um sinal de sobrevivência dessas células, por meio da expressão dos fatores reguladores miogênicos *MYOD* e *MYOG*, como mostra a Figura 4 (Le grand & Rudnicki, 2007). *PAX3* e *PAX7* desempenham papéis importantes na manutenção da proliferação de células progenitoras, prevenindo assim a diferenciação precoce das fibras musculares (Wang e Rudnicki, 2012).

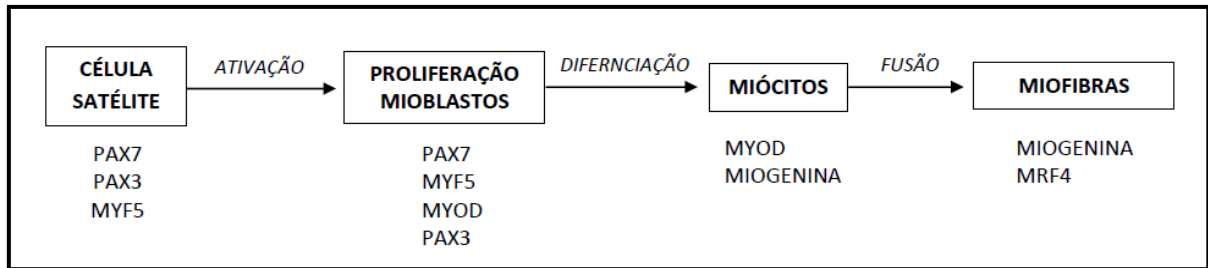


Figura 4. Representação esquemática dos principais eventos da miogênese pós-natal, bem como dos genes reguladores em cada etapa (modificado de Le grand & Rudnicki, 2007).

Há evidências de que *PAX3* contribui para a linhagem de células de mioblastos embrionários e a linhagem endotelial, enquanto *PAX7* contribui para células mioblastos fetais, representando linhagens miogênicas distintas. Além disso, *PAX7* continua a ser expresso durante a miogênese fetal e por células satélites adultas (Hutcheson et al., 2009).

O músculo esquelético, tecido mais abundante do corpo, tem a capacidade de regenerar novas fibras musculares depois de sofrer lesão ou em consequência a doenças, como a distrofia muscular. Em resposta a uma lesão muscular, células satélites são ativadas e começam a proliferar. Nesta fase, são frequentemente referidas como células precursoras miogênicas ou mioblastos. O processo de ativação de células satélites na diferenciação miogênica é controlado, principalmente, por *MYF5* e *MYOD*. Durante este processo, as células satélites seguem destinos diferentes, seja originando células que retornarão à quiescência (para manter como progenitor), sendo controladas por *PAX7* e *MYOD*, seja originando outras células que estarão comprometidas com a diferenciação celular, sendo também controladas pelos mesmos genes, como mostra a Figura 5 .

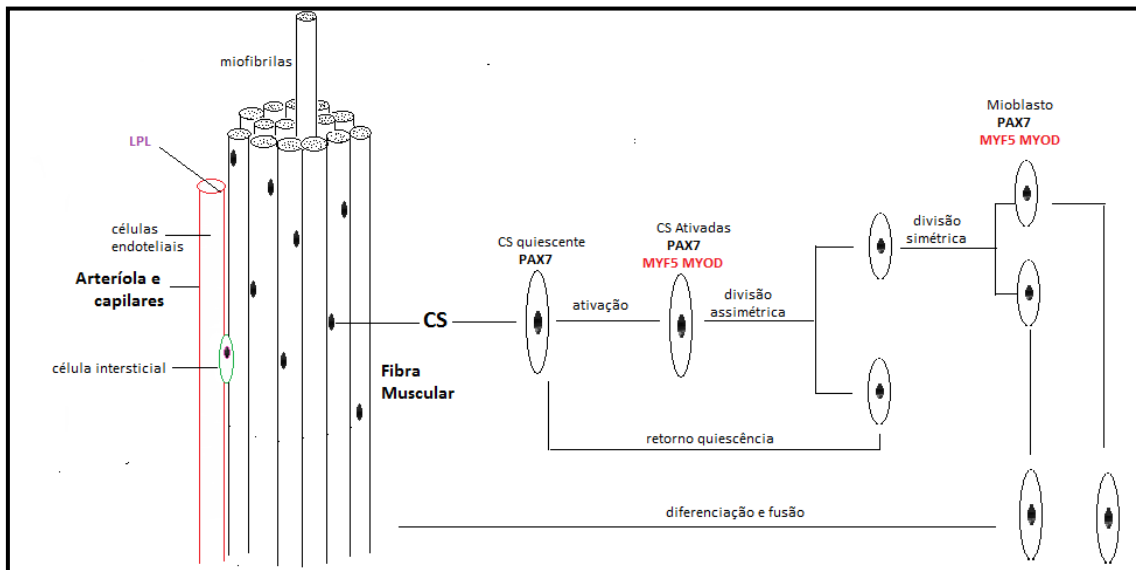


Figura 5. Esquema modificado representando divisão celular assimétrica durante a ativação de células satélites (modificado de Tedesco et al., 2010).

Entre os fatores que regulam o desenvolvimento do músculo esquelético, a miostatina (*MSTN*), a qual é detectada em todas as espécies de mamíferos, bem como em aves, é expressa tanto no desenvolvimento muscular fetal quanto em músculos esqueléticos adultos e, portanto envolvida na regulação do crescimento das massas musculares esqueléticas nos períodos fetal e pós-natal (McPherron & Lee, 1997, 2002; McPherron et al., 1997). A inibição da expressão da *MSTN* aumenta drasticamente a massa muscular em animais (McPherron e Lee, 1997; McPherron et al, 1997). Assim sendo, *MSTN* não só inibe o crescimento muscular, mas também afeta o crescimento de tecido adiposo proporcionalmente, apresentando diferentes funções adipogênicas em diferentes células-tronco (Zhang et al., 2015). Em geral, promove a diferenciação de células mesenquimais multipotentes em pré-adipócitos (Artaza et al. 2005) e também inibe a diferenciação de pré-adipócito (Kim et al. 2009), de tal forma que camundongos *MSTN* nulos têm menos acúmulo de gordura que animais do tipo selvagem (McPherron & Lee, 2002).

O gene *DES* codifica a expressão da desmina, que é o filamento intermediário mais importante da musculatura esquelética e cardíaca (Diokmetzidou et al., 2016). Tem a função de manter a estrutura e a integridade funcional das miofibrilas, funcionando como um citoesqueleto protéico ligando as bandas Z à membrana plasmática (Charrier et al., 2016).

3.3.1.2. Fatores adipogênicos e metabólicos

Há evidências de que os processos de miogênese e adipogênese se originam do mesmo microambiente (Du et al. 2009). Assim genes relacionados tanto à adipogênese como à miogênese podem ser expressos no músculo esquelético (Yang et al. 2014). Dentre os genes relacionados à adipogênese, *PPARG* (“*Peroxisome proliferator-activated receptor*”) é específico do tecido adiposo, onde sua expressão é mais elevada, agindo como coordenador da cascata transcricional de diferenciação de adipócitos. *PPARG* também desempenha um papel chave no metabolismo lipídico. Sua expressão é mais elevada no período pós-refeição e sua ativação leva à regulação positiva de genes que modulam a captação de ácidos graxos e seu aprisionamento nas células adiposas, com ajuda da lipoproteína lipase, *LPL* (Semple et al., 2006). As lipoproteínas funcionam tanto para manter os lipídeos solúveis, à medida que os transportam no plasma, quanto para fornecer um mecanismo eficiente de provimento lipídico aos tecidos (Champe e Harvey, 2009). A lipoproteína lipase (*LPL*), codificada pelo gene *LPL*, é uma enzima extracelular carregada negativamente encontrada no endotélio de capilares da maioria dos tecidos, mas é encontrada predominantemente nos capilares do tecido adiposo e músculo cardíaco e esquelético (Champe & Harvey, 2009). É uma enzima chave na hidrólise de triacilglicerol a partir de partículas de lipoproteína ricas em triacilglicerol para fornecer ácidos graxos a diferentes tecidos, estando envolvida na via de sinalização *PPAR* (Wang et al.2013), como mostra a Figura 3. *FABP4* é um membro de uma família de genes de mamíferos *FABP*'s e foi identificado como uma proteína citosólica fortemente regulada durante a diferenciação de pré-adipócitos em adipócitos. Esta proteína é uma das mais abundantes encontradas em adipócitos maduros e tecido adiposo, envolvidos também na esterificação de ácidos graxos de cadeia longa. A expressão de *FABP4* é especificamente induzida pela insulina e / ou *IGF-1*, dexametasona, ácidos graxos e ocorre como um alvo de ativação do *PPAR* (Hotamisligil & Bernlohr, 2015). Dessa forma, essas proteínas não parecem simplesmente reserva de lipídios, mas são de fato mediadores cruciais das atividades metabólicas e biológicas.

Importante para o músculo esquelético, o lactato, formado pela ação da lactato desidrogenase, é o produto final da glicólise anaeróbica em células eucarióticas. A formação de lactato é o principal destino do piruvato. Ao exercitar o músculo esquelético, a produção de NADH (pela gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase e pelas três desidrogenases ligadas ao

NAD^+ do ciclo de Krebs) excede a capacidade oxidativa da cadeia respiratória. Isto resulta em uma relação elevada NADH/NAD^+ , favorecendo a redução de piruvato para lactato. Assim, durante a atividade intensa, o lactato se acumula no músculo, causando uma queda no pH intracelular, potencialmente resultando em câimbras. Posteriormente, grande parte desse lactato se difunde para a corrente sanguínea (Champe e Harvey, 2009).

A descarboxilação oxidativa do piruvato pelo complexo piruvato desidrogenase é uma rota importante em tecidos com uma elevada capacidade oxidativa, como o músculo cardíaco. A piruvato desidrogenase converte irreversivelmente o piruvato, o produto final da glicólise, em acetil-CoA, um importante combustível para o ciclo de Krebs e o bloco estrutural na síntese dos ácidos graxos (Champe e Harvey, 2009), como pode ser visto também no esquema modificado de Semple et al. (2006) (Figura 6).

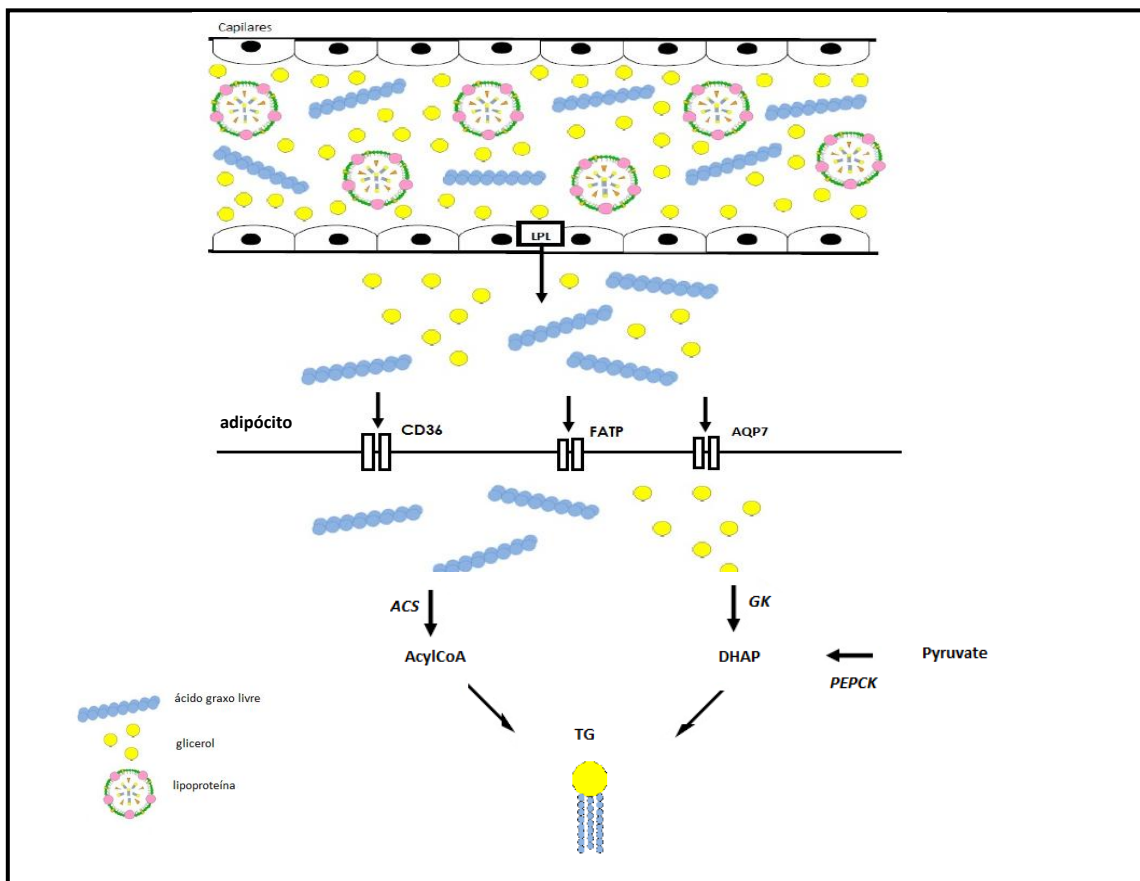


Figura 6. Ação do PPARG na captura e aprisionamento de ácidos graxos em adipócitos (modificado de Semple et. al. 2006)

Encontrado no músculo, a creatina fosfato, derivado fosforilado de creatina, é um composto de alta energia que pode doar reversivelmente um grupo fosfato ao ADP para formar ATP. A reação é catalisada pela creatina quinase, e fornece uma reserva pequena, mas rapidamente mobilizada, de fosfato de alta energia, que pode ser usada para manter o nível intracelular de ATP durante os primeiros minutos de contração muscular intensa (Champe e Harvey, 2009).

No trabalho de Zhang et al. (2015), foram analisados o mRNA de *PPARG* e *MYOD* em dois tipos celulares, ADSCs (células embrionárias derivadas- adipócitos) e MSCs (células satélites musculares), para se entender como a *MSTN* poderia diferenciar a adipogênese naquelas células, objetivando elucidar a origem de adipócitos no tecido muscular. Assim, foi demonstrado que *PPARG* e *MYOD* são dois fatores de transcrição no desenvolvimento de células de gordura e musculares, podendo ser regulados pela *MSTN*. ADSCs e MSCs são células embrionárias no músculo que exibem potencial adipogênico. Quando estas células embrionárias estão num ambiente lipogênico e reguladas pela *MSTN*, ADSCs poderão exibir potencial adipogênico (presença de *MSTN*-induzida pela expressão de *PPARG* e *MyoD*). No entanto, em MSCs, a expressão de *PPARG* e *MyoD* foram inibidos por *MSTN*, inibindo assim a adipogênese. A partir desses resultados, a hipótese de que os papéis reguladores adipogênicos da *MSTN* em ADSCs e MSCs foi atribuída à regulação diferencial de *PPARG* e *MYOD*.

A Leptina é uma proteína da família das citocinas, composta por 146 aminoácidos com um peso molecular de 16 kDa, secretada como hormônio dos adipócitos e sua produção depende dos depósitos de gordura corporal. O receptor de leptina, codificado por *LEPR*, é um receptor do domínio transmembrana, que inibe a via orexigênica e estimula a via anorexigênica no hipotálamo. O receptor de leptina desempenha um papel importante no controle da ingestão de alimentos, secreção do hormônio de crescimento, homeostase energética e mobilização de gordura (Wang et al. 2013). No trabalho de Wang et al. (2013), concluiu-se que o sexo tem efeito significativo no conteúdo do FMI (gordura intramuscular) e nos ácidos graxos, sugerindo que *LEPR* seja uma ferramenta útil para a seleção de carcaças com sabor favorável e para a melhoria da qualidade da carne em suínos.

3.3.1.3. Fatores relacionados ao crescimento

A determinação das vias fisiológicas que podem ser estimuladas para potencializar a síntese proteica muscular, a partir de uma equilibrada relação entre hormônio do crescimento (*GH*) e somatomedina-C (fator de crescimento semelhante à insulina tipo I -*IGF-1*) tem sido objeto de investigação (Castilhos & Liberali, 2008). As somatomedinas atuam diretamente nos processos de crescimento e desenvolvimento das fibras musculares, tanto na fase de hiperplasia como de hipertrofia, provavelmente por estarem associadas à indução da miogenina (Bridi 2007). O *GH* é secretado pela hipófise, de maneira pulsátil, sendo sua secreção modulada por vários fatores, tais como: hormônio hipotalâmico liberador de *GH* (*GHRH*), hormônio hipotalâmico inibidor da secreção de *GH* (somatostatina– *SM*), grelina, glicocorticoides, ácidos graxos, glicose, insulina, hormônios esteroides, estado nutricional, composição corporal e idade. O sistema do *GH* é constituído pela molécula do hormônio de crescimento (*GH*), pelo receptor para o hormônio de crescimento (*GHR*) e pela proteína carreadora do hormônio de crescimento (*GHBP*), correspondente à porção extracelular do *GHR1*. Atribui-se ao *GHR* o crescimento linear pós-natal de mamíferos e as atividades endócrinas em todos os órgãos e tecidos, promovendo diminuição de gordura e aumento de massa magra (músculos, órgãos e ossos). Isto se deve à ação direta no seu receptor específico ou por promover a produção de *IGF-I* (insulin-like growth factor-1), que intermedia, de maneira endócrina, parácrina e autócrina algumas de suas funções (Póvoa & Diniz, 2011).

Dessa forma, a relação entre o tecido adiposo e o tecido muscular constitui a motivação das pesquisas contemporâneas e futuras que visam harmonizar os aspectos quantitativos (maior deposição de tecido muscular) e qualitativos desejados da carne (presença de tecido adiposo dentro de limites adequados) (Gondret et al., 2016).

3.4. Tipificação das Fibras Musculares

O músculo esquelético é composto por uma população heterogênea de fibras musculares que exibem um amplo espectro de características contráteis e metabólicas (Brown et al., 2014). Seu componente primário é a miosina, uma proteína assimétrica, hexamérica, formada por quatro cadeias leves (aproximadamente 20kDa cada) e duas cadeias pesadas (aproximadamente 200kDa cada) (Pette & Staron ,1990). O tipo presente no

músculo é de grande importância fisiológica, sendo a composição de sua isoforma o principal determinante de seu desempenho contrátil (Toniolo et al., 2004).

Baseado em estudos bioquímicos, Peter *et al.* (1972) propuseram a classificação das fibras musculares, considerando a velocidade de contração e o tipo de metabolismo, de tal modo que as fibras do tipo I apresentariam contração lenta, metabolismo aeróbico, baixa atividade glicolítica e de moderada a alta atividade aeróbica; fibras do tipo IIa seriam de contração rápida, metabolismo oxidativo glicolítico, moderada a alta atividade anaeróbica, alto teor de citocromos e atividade oxidativa e as fibras do tipo IIb também seriam de contração rápida, metabolismo glicolítico, alto teor de glicogênio, baixo teor de citocromos e baixa atividade oxidativa. Posteriormente, foi possível a realização de análises mais precisas das propriedades metabólicas das fibras por meio da microdissecção, que apresentaram ampla variação nas atividades enzimáticas dentro das diferentes populações de fibras (Schiaffino & Reggiani, 2012). Uma etapa adicional na caracterização dos principais tipos de fibras presentes no músculo esquelético dos mamíferos ocorreu no final da década de 1980 e início da década de 1990, com a descoberta de um terceiro tipo de fibra rápida de cadeia pesada de miosina (MHC), diferente das fibras IIa e IIb, segundo Schiaffino & Reggiani (2012). Os anticorpos anti-MHC levaram à identificação de fibras do tipo IIx, cujas unidades motoras (fibras IIX) teriam propriedades de contração (tempo de contração e relaxamento) semelhantes às das unidades IIa e IIb, e sua resistência à fadiga seria intermediária a essas respectivas unidades (Larsson et al., 1991).

Até o presente momento, o método mais adequado para se determinar os tipos de fibras musculares se baseia em perfis específicos de miosina, em particular o complemento da isoforma miosina de cadeia pesada (MHC- myosin heavy chain). Vários estudos demonstraram que as cadeias pesadas determinam o nível de atividade enzimática da miosina, enquanto as cadeias leves não apresentariam envolvimento direto no mecanismo de ação da proteína (Picard et al., 1994). A velocidade de encurtamento máximo de uma fibra muscular é estabelecida pela isoforma predominante da MHC expressa, aumentando na seguinte ordem: de MHC I para IIa, desta para IIx, e desta para IIb (Pellegrino et al., 2003). Assim sendo, são conhecidos onze genes de isoformas sarcoméricas de MHC, e dentre estes, quatro são expressos no músculo esquelético adulto: uma isoforma MHC associada a músculo de "contração lenta" (Tipo I) e três de "contração rápida" (Tipos IIa, IIx e IIb) (Weiss

& Leinwand, 1996; Tonge et al., 2010). O gene MyH4 codifica as isoformas de proteínas designadas MHC IIa, IIx e IIb.

As características fisiológicas e metabólicas, bem como o tamanho final do músculo, uma vez cessado o crescimento, dependem grandemente da proporção dos tipos de fibras. A ocorrência de cada tipo de fibras e sua frequência no músculo são influenciadas pela genética, nutrição e manejo dos animais (Bridi, 2009).

Segundo Lefaucheur *et al.* (1995), as isoformas embrionárias e fetais de MyHC são isoformas de transição MHC, que no período de duas semanas após o nascimento amadurecem para se tornar isoformas tipo II em adultos. Desde a gestação até as primeiras semanas pós-natais, essas fibras sofrem um processo de maturação quando o padrão altamente organizado encontrado em suínos adultos é estabelecido. Posteriormente, a conversão de fibras oxidativas glicolíticas em fibras glicolíticas ocorre principalmente na periferia de fibras de contração lenta e traduzem a passagem de um metabolismo óxido-glicolítico para um metabolismo glicolítico (Dierckx et al., 2004).

Estudos desenvolvidos com as espécies equina, bovina e suína descreveram isoformas de miosina e tipos de fibras musculares em relação às performances na corrida de cavalos ou à produção de carne (bovinos e suínos) (Toniolo et al., 2004). Entre os grandes mamíferos domésticos, o suíno tem recebido atenção crescente nos últimos anos. Afinal, a carne suína é uma importante fonte de proteína para os humanos e a relação entre a qualidade da carne e as características musculares foi motivo de investigação em várias raças (Davoli et al., 2003). Segundo Bridi (2009), considerando os aspectos tecnológico e sensorial, a qualidade da carne é oriunda de uma série de processos físicos e químicos envolvidos, que irão alterar as suas características originais, culminando com a transformação do tecido muscular em carne propriamente dita. Estes processos, por sua vez, podem ser influenciados por fatores intrínsecos e extrínsecos. Dentre os fatores mais importantes nesta conversão, citam-se: quantidade de energia (ATD – trifosfato de adenosina, ADP – difosfato de adenosina, fosfocreatina, glicose hexafosfato e glicogênio) no músculo no momento do abate; a velocidade da glicogenólise *post mortem* e o tamanho final dos sarcômeros.

Adicionalmente, a produção de carne está intimamente relacionada ao número, bem como às características morfológicas das fibras musculares (Lee et al., 2016), cuja

composição está poderá interferir diretamente sobre a qualidade final e propriedades tecnológicas da carne (textura, capacidade de retenção de água, dentre outras) . Na espécie suína, em particular, a qualidade da carne pode ser influenciada pelo número total de fibras musculares, bem como pela área e tipo das mesmas. Dessa forma, maior número total e maiores áreas das fibras musculares estariam associados à melhor qualidade de carne. Além disso, maiores proporções de fibras tipos I e IIa, associadas à menor proporção de fibras do tipo IIb, também poderiam favorecer a melhor qualidade de carne (Lee et al., 2016). Isto se deve ao fato de as fibras glicolíticas (tipo IIb) possuírem menor conteúdo de lipídios, mais tecido conjuntivo, interferindo na maciez da carne (Bridi, 2007; Lee et al., 2016).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Animais e local de execução

Este experimento foi realizado em uma granja localizada na região Centro-Oeste do estado de Santa Catarina (Master Agropecuária – Curitibanos – SC), entre o terceiro e quarto trimestres de 2012. Foram selecionadas 60 leitoas ao nascimento, irmãs de mesma leitegada, da linhagem genética DB-DanBred.

4.2. Grupos experimentais

As fêmeas selecionadas foram pesadas ao nascimento e alocadas aos seguintes grupos experimentais:

A. Leitoas de baixo peso (BP) = 0,8 – 1,0 kg

B. Leitoas de alto peso (AP) = 1,4 – 1,7 kg

Para estabelecer as faixas de peso que representariam cada grupo experimental, foram pesados imediatamente após o nascimento aproximadamente 1000 (mil) leitões do plantel, originados da mesma linhagem materna. Dessa forma, foram calculados a média (μ) e o desvio padrão (σ) da variável peso ao nascimento. As faixas de peso de cada grupo foram determinadas como sendo: $\mu + \sigma$ a $\mu + 2\sigma$, para o grupo AP e $\mu - 2\sigma$ a $\mu - \sigma$, para o grupo BP.

4.3. Eutanásia das leitoas pertencentes ao experimento

Foi realizada a eutanásia das fêmeas (n=60) em três idades:

- a) Até 12 horas após o nascimento (n= 20, sendo 10 AP e 10 BP);
- b) Aos 100 dias de idade (n= 20, sendo 10 AP e 10 BP);
- c) Aos 150 dias idade (n= 20, sendo 10 AP e 10 BP).

Todos os procedimentos de manipulação e eutanásia dos animais experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética na Utilização de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), processo nº 23732. O presente experimento foi realizado em colaboração com o Prof. Fernando Bortolozzo da Faculdade de Veterinária da UFRGS, sendo parte integrante do projeto intitulado “FATORES ENVOLVIDOS NO DESENVOLVIMENTO CORPORAL E DESEMPENHO REPRODUTIVO DE REPRODUTORAS

SUÍNAS”. Todas as amostras de músculo semitendíneo foram coletadas na UFRGS e enviadas para a UFMG. Como não foram feitas novas coletas de material biológico, optou-se por não submeter outro protocolo para o CEUA/UFMG.

4.4. Pesagem dos órgãos para avaliação de IUGR

O peso de diversos órgãos foi obtido dos animais recém-nascidos (n= 20), os quais foram eutanasiados até 12 horas após o nascimento. Uma incisão na linha média do corpo foi realizada, quando se procedeu à remoção e posterior pesagem dos seguintes órgãos: cérebro, fígado, intestino delgado, intestino grosso, estômago, rins, coração, baço e pulmões. Para tal, foi utilizada balança digital da marca Marte (modelo AS 2000). Posteriormente, calcularam-se as razões entre o peso do cérebro e dos demais órgãos, como forma de mensuração da ocorrência da IUGR (Bauer et al., 1998a).

4.5. Processamento histológico

Imediatamente após a eutanásia das fêmeas nas três idades (recém-nascidos, 100 e 150 dias) foram coletadas amostras do músculo semitendíneo, sendo que os animais recém-nascidos foram separados em um laboratório dentro da granja Master Curitiba em Curitiba-SC, onde foram feitas as eutanásias e coleta de material. Os animais de 100 e 150 dias foram abatidos no frigorífico Sagrinco Agroindustrial Ltda., em Videira-SC.

Anatomicamente, o músculo semitendíneo pertence ao grupo muscular da face caudal do membro pelvino, tendo sido coletado no membro direito. Nos recém-nascidos foi coletado o terço médio, enquanto nos animais de 100 e 150 dias na porção proximal. A escolha do músculo semitendíneo para a realização de tais avaliações se deve ao fato de ser citado na literatura e considerado um bom indicador da musculatura geral do corpo, não apresentando evidências de fibras intrafasciculares terminais, que poderiam influenciar na contagem de fibras musculares.

Os fragmentos transversais de músculo semitendíneo utilizados para as avaliações morfológicas e morfométricas foram fixados por imersão em solução de glutaraldeído a 5% em tampão fosfato a 0,05M e pH 7,2, por 24 horas, a 4°C. Após este período, as amostras foram armazenadas em tampão fosfato a 0,05M e pH 7,2 a 4°C até o momento da inclusão. Os fragmentos foram desidratados em série crescente de alcoóis, infiltrados e incluídos em

resina plástica à base de glicol metacrilato (Historesin, Leica). Dos blocos, foram obtidos cortes histológicos de 3µm de espessura, utilizando-se navalhas de vidro (preparadas em *Knife maker* da LKB, modelo 7880B), no micrótomo Reichert Jung (mod. 1140 / Autocut). Estes os foram corados com azul de toluidina-borato de sódio para avaliações histomorfométricas (Chiarini-Garcia et al., 2011). As lâminas foram analisadas sob microscopia de luz (microscópio CX31) e fotografadas em microscópio BX51 (ambos Olympus) no qual estava acoplada uma câmera fotográfica digital Q-Color 3 (Olympus).

Os estudos morfológicos e morfométricos foram desenvolvidos utilizando-se o programa de análise de imagens Image-Pro Express (Media Cybernetics) ou Image J Software (National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA) do Laboratório de Biologia Estrutural e Reprodução (Laber) do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG.

4.5.1. Avaliações morfológicas

Para a análise morfológica do músculo semitendíneo, foram utilizados 10 animais (AP = 5 e BP = 5), selecionados ao acaso, para cada uma das idades estudadas (RN, 100 e 150 dias), totalizando 30 animais.

Quanto à morfologia foram consideradas algumas características tais como: formato e tamanho das fibras musculares, distribuição e quantidade de núcleos entre as fibras musculares bem como a composição do tecido conjuntivo. Tais características foram observadas e registradas em fotomicrografias digitais obtidas com sistema descrito anteriormente, para avaliação e divulgação dos resultados. As imagens digitais foram tratadas com o programa Adobe Photohsop e montadas em pranchas utilizando o programa Adobe Illustrator.

4.5.2. Avaliações morfométricas

Para as análises morfométricas do músculo semitendíneo, foram utilizados 10 animais (AP = 5 e BP = 5), selecionados ao acaso, para cada uma das idades estudadas (RN, 100 e 150 dias), totalizando 30 animais.

Foram realizadas sete diferentes determinações morfométricas do músculo semitendíneo, procurando avaliar, de forma comparativa entre os grupos experimentais de alto e baixo peso ao nascimento nas diferentes idades:

- Número de fibras musculares por área
- Diâmetro das fibras musculares
- Histograma de frequência
- Proporção volumétrica de componentes do músculo semitendíneo (fibras musculares, interstício, adipócitos e vasos).
- Número total de fibras musculares (somente em recém-nascidos)
- Área total do músculo semitendíneo (somente em recém-nascidos)

4.5.2.1. Número de fibras musculares por área

Utilizando as fotomicrografias digitais descritas anteriormente, foram selecionadas aleatoriamente para cada animal, em cada idade e tratamentos estudados, 35 áreas contendo fibras musculares em cortes transversais. As áreas foram delimitadas e mensuradas por meio do programa Image J e o número de fibras musculares contidas nesta área delimitada foi contado, para cada animal. A densidade foi calculada pelo número de fibras musculares divididos pela área nas três idades estudadas e posteriormente equalizadas para um milímetro quadrado.

4.5.2.2. Diâmetro das fibras musculares

Diante da observação de que as fibras musculares apresentavam contornos irregulares nas idades estudadas, o método escolhido para calcular o diâmetro das fibras baseou-se na determinação do tamanho destas utilizando-se método proposto por Ferret (Dubach-Powell, 2011). Ao contrário de outros parâmetros morfométricos, o diâmetro calculado segundo Ferret é muito confiável contra erros experimentais, pois determina a distância média entre pares de retas paralelas tangentes ao contorno projetado (Dubach-Powell, 2011).

Utilizando as fotomicrografias digitais descritas anteriormente, foram selecionadas aleatoriamente para cada animal, em cada idade e tratamento estudados, uma média de 250 fibras musculares e calculados o diâmetro segundo Ferret, em micrômetros, através do programa Image J.

4.5.2.3. Histograma de frequência

Após obter os resultados da análise do diâmetro das fibras musculares, foi construído o histograma de frequência para cada uma das idades (recém-nascidos, 100 e 150 dias) e tratamentos (AP e BP) estudados, utilizando o programa GraphPad Prism 5.

Os valores correspondentes ao diâmetro foram agrupados em classes e assim as frequências dessas classes foram estabelecidas.

Observando uma grande variabilidade de valores do diâmetro em cada idade e tratamento estudados, foi construído um gráfico do tipo “*boxplot*”, para uma melhor visualização dos dois tratamentos, comparando-se os valores da mediana dos diâmetros entre eles.

4.5.2.5. Área total e número total de fibras musculares em recém-nascidos

Amostras do músculo semitendíneo de 10 leitões recém-nascidos (AP = 5 e BP = 5) foram colocados sobre uma folha de papel A4 e a sua circunferência transversal desenhada. Estes desenhos foram digitalizados e a área transversal total de cada músculo foi determinada (mm^2) utilizando-se o programa de análise Image-Pro Express. Depois de medir a área transversal total de cada músculo, o número total de fibras musculares foi contado nesta mesma área, sendo, posteriormente, determinado o número de fibras musculares por mm^2 (densidade) no músculo semitendíneo dos animais recém-nascidos.

4.5.2.6. Proporção volumétrica

Utilizando as fotomicrografias digitais descritas anteriormente, as proporções volumétricas dos componentes do músculo esquelético (fibras musculares, adipócitos, vasos sanguíneos e tecido conjuntivo/interstício) foram estimadas a partir da contagem de aproximadamente 2.840 pontos. Para tanto, projetou-se sobre 10 imagens digitais por animal, utilizando o programa Image Pro Plus, um retículo com 284 intersecções (pontos) onde cada um dos constituintes selecionados foi contado, quando coincidente com um dos 284 pontos do retículo. O número de pontos coincidentes com os componentes citados acima e equalizados para 100 correspondem à proporção volumétrica (**Vv%**) de cada um deles.

4.6. Processamentos para avaliações de Imunofluorescência

Para determinar os diferentes tipos de fibras musculares (fibras de contração rápida e lenta) no músculo semitendíneo, utilizou-se análise de imunofluorescência em 6 animais (AP = 3 e BP = 3), para cada uma das idades estudadas (RN, 100 e 150 dias), totalizando 18 animais.

Os fragmentos (secções transversais) de músculo semitendíneo foram fixados em paraformaldeído a 4% em tampão fosfato 0,05M, pH 7,4, por 24 horas e posteriormente armazenados em tampão fosfato 0,05M, pH 7,2, a 4°C, até o momento de inclusão. Para inclusão, após desidratação em série crescente de etanol, diafanizados em xilol e incluídos de forma convencional em paraplast (Histosec, Merck). Posteriormente, durante microtomia, cortes de 5µm de espessura foram aderidos às lâminas histológicas previamente silanizadas.

4.6.1. Imunomarcção das proteínas MHC (I, IIa, IIb e IIx)

Os cortes foram desparafinizados com xilol e hidratados em soluções com concentração decrescente de etanol. Para melhor acesso às proteínas pelo anticorpo, foi feita recuperação antigênica com tampão citrato (10 mM; pH 6) em microondas durante 5 minutos em potência 7, por três vezes. O bloqueio de aldeídos foi realizado com metanol 100% durante 30 minutos. Em seguida, os cortes foram delimitados com caneta hidrofóbica PapPen® e incubados por 5 minutos em Tween 20/PBS 0,1%. Os cortes foram então lavados em PBS e os sítios de ligação inespecífica foram bloqueados com solução de BSA 1% (BSA:PBS) por 30 minutos.

Em continuidade, para ligação dos anticorpos primários com as respectivas proteínas MHC (Myosin Heavy Chain), os cortes foram incubados, overnight, na proporção 1:100 (anticorpo:PBS) em câmara úmida a 4°C utilizando os anticorpos primários anti-MHCI (IgG1, NCL- MHCs, Novocastra, Leica Biosystems), anti-MHCIIa (MIgG1, SC-71, DSHB), anti-MHCIIb (MIgM, BF-F3, DSHB) e anti-MHCIIx (MIgG1, BF-35, DSHB), separadamente.

No dia seguinte, as secções foram lavadas novamente com PBS e incubadas por 90 minutos a 4°C em câmara úmida com anticorpo secundário na proporção 1:200 (anticorpo:PBS). Para ligação aos anticorpos primários anti-MHCI, anti-MHCIIa e anti-MHCIIx

foram utilizados anticorpos secundários goat anti-mouse (Thermo Fisher, IgG, 555nm) e para ligação aos anticorpos primários anti-MHC2b, foram utilizados anticorpos secundários goat anti-mouse (Thermo Fisher, IgM, 633nm).

Em seguida, os cortes foram lavados com PBS e incubados com DAPI na proporção 1:1000 (DAPI:PBS) por 3 minutos em câmara úmida em temperatura ambiente. Os cortes foram novamente lavados com PBS e as lâminas foram montadas com lamínula e glicerol 50% (1:1; Glicerol:PBS).

4.6.2. Quantificação dos diferentes tipos de fibras musculares

A imunomarcção foi avaliada em fotomicrografias obtidas em aumento de 10 vezes por meio de microscópio fotônico *Zeiss ApoTome*[®] acoplado a câmara de captura de imagens (AxioCam, 503, mono, Zeiss) e software de análise (Zen 2.3, blue edition, Carl Zeiss Microscopy GmbH, 2011). Para quaisquer análises foram consideradas apenas fibras cujo corte transversal estivesse inteiramente visível em fotomicrografia. Por meio do software Zen foram quantificadas as fibras MHCI, MHCIIa, MHCIIb e MHCIIx positivas bem como o número total de fibras musculares presentes. Pelo software Image J foi mensurado o diâmetro (segundo Ferret, 1900) das fibras MHC+ (positivas). A quantidade de fibras MHC+ para cada uma das proteínas avaliadas foi expressa em relação à quantidade total de fibras presentes no campo (fibras MHC+/total de fibras musculares que corresponde à soma de MHC+ e MHC-). O diâmetro de cada um dos tipos de fibras musculares (MHCI, MHCIIa, MHCIIb e MHCIIx) foi expresso em μm .

4.7. Processamentos para avaliações moleculares

Para avaliar a expressão dos genes relacionados com a miogênese, adipogênese e crescimento por meio de PCR quantitativo, foram utilizados 14 animais (AP = 7 e BP = 7) para recém-nascidos; 8 animais (AP = 3 e BP = 5), para 100 dias e 10 animais (AP = 5 e BP = 5) para 150 dias, totalizando 32 animais.

Todo o procedimento de qPCR quantitativo foi realizado durante o “Doutorado sanduíche”, junto à University of Alberta, Canadá (com apoio da CAPES). Este trabalho foi executado em colaboração com os doutores Walter Dixon, Michael Dyck e Stephen Tsoi do laboratório de genômica do Department of Agricultural, Food and Nutritional Science.

As amostras de músculo semitendíneo nas três idades estudadas foram pesadas (~0,05 g), preservadas em RNA Holder (Bio Agency) e congeladas em nitrogênio líquido. Posteriormente foram trituradas manualmente (utilizando almofariz com pistilo) e adicionados 500 µl de Trizol® Reagent (Life Technologies) para posterior extração de RNA total. A extração de RNA foi realizada de acordo com protocolo *Direct – zol RNA miniPrep* (Zymo Research). A concentração do RNA extraído foi analisada posteriormente, utilizando os protocolos *Agilent RNA Screen Tape System* (Agilent Technologies) e *Agilent R6K Screen Tape System* (Agilent Technologies), para avaliar a qualidade total de RNA (QC= Quality Control).

Para conversão do RNA em cDNA, foi utilizado o kit *High Capacity cDNA Reverse Transcription Kits – For 200 and 1000 Reactions* (Applied Biosystems), conforme recomendação do fabricante.

A análise de qPCR foi realizada usando o *Fast SYBR® Green Master Mix* (Applied Biosystem) e o equipamento Real-Time PCR *machine*(7900, Applied Biosystems), sendo os resultados obtidos pelo programa SDS. 2.2.2 para 7900HT (Applied Biosystems). Posteriormente foi realizada a análise da expressão gênica, sendo que todas as mensurações foram realizadas em duplicata.

Para a análise da expressão gênica, os genes controle foram: ACTBL2 e ACTG2 (recém-nascidos e 150 dias), ACTG2 (100 dias), pois foram os genes que menos sofreram variações nas três idades estudadas. Os genes avaliados estão descritos na **Tabela 1** e a inclinação média (*mean slope*), interceptação (*intercept*), eficiência de PCR (*PCR efficiency*) e valores de R² são mostrados na **Tabela 2**.

4.7.1. Análise de qPCR

A análise da expressão gênica relativa foi realizada para cada uma das três idades estudadas, utilizando genes de referência para normalizar o nível de expressão de cada um dos genes alvo.

A quantificação relativa da expressão gênica foi realizada utilizando o método $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (Livak & Schmittgen, 2001), onde:

$$2^{-\Delta\Delta Ct} = \Delta\Delta Ct \text{ gene alvo} - \Delta\Delta Ct \text{ gene referência}$$

Tabela 1. Sequências de primers para qPCR específicos de suínos

Categoria	Primer	Sequência (5'- 3')	Tamanho da amplificação (bp)	Número de Acesso
Miogênicos	β -actin	Forward : CCATCTACGAGGGGTACGCC Reverse: TGCTCGAAGTCCAGGGCGACGTA	184	AY550069
	δ -actin	Forward : TTGGTAACAGGTCCCAGAAAG Reverse: GAATCCAGGACGATGCCTAAG	90	NM_009609.2
	MSTN	Forward : TCTGAATGAGAACAGCGAGCAA Reverse: TCGTTTCCGTCGTAGCGTGA	287	NM_214435.2
	MyoD	Forward : ACTCAGACGCATCCAGCCC Reverse: AATCCATCATGCCGTCGG	248	U12574
	MyoG	Forward : GGCTACGAGCGGACTGA Reverse: GACACGGACTTCTCTTACAC	137	NM_001012406.1
	MYF5	Forward : CGTCTAGTTCAGGCTCATCTA Reverse: GCCTCCTTCTCCTGTGTAATA	96	NM_001002824.1
	Desmin	Forward : GGGGTTCTGAGGTCCAT Reverse: AGGCAGTGAGGGTAGGG	161	AF363284.1
	Pax3	Forward : CTGCCGACTTCTCAGTCTTATT Reverse: CTTGTCCATACTGCCATACT	98	NW_003613310.1
	Pax7	Forward: CAACCACATCCGCCACAA Reverse: TCTTGGAGACACAGCCATGG	101	AY653213
	CKM	Forward: GGAGAAAGGAGGCAACAT Reverse: TAGACGGGCAGGTGAGC	137	NM_001129949.1
	LDHA	Forward: TGTTGCTGGTGTCTCCCTGAAGAA Reverse: TCATAAGCACTGTCCACCACCTGT	105	AJ301274.1
Adipogênicos	LPL	Forward: ACCGTTGCAACAACCTTGGGCTATG Reverse: ACTTTGTAGGGCATCTGAGCACGA	97	NM_214286.1
	FABP4	Forward: GGCCAAACCCAACCTGA Reverse: GGGCGCCTCCATCTAAG	167	NM_001002817.1
	PPARG	Forward: AATTAGATGACAGCGACCTGGCGA Reverse: TGTCTTGAATGTCCTCGATGGGCT	102	NM_214379.1
	LEPR	Forward: CATTGTGCAGCGTGAGAAGT Reverse: TTGAATTGACGGCCAGAACT	144	NM_001024587.1
Crescimento	IGF1R	Forward: GATTCAGGCCACCTCTCTCTCC Reverse: CCCTCCTACTATCAACAGAACGGC	139	NM_214172
	IGF1	Forward: CTCTTCGCATCTCTTCTACTTGGC Reverse: CCTGTGGGCTTGTGAAATAAAA	150	NM_214256
	GHR	Forward: ACCCAAGTTCACTGGCAAAC Reverse: CTCGCAGAAGTAGGCGTTGT	182	NM_214254.2

Tabela 2. Dados da curva de calibração das análises de qPCR

Gene	Slope	Intercept	Efficiency	R ²
β-actin	-4,090545	31,904835	0,75576425	0,969014
δ-actin	-4,1181917	29,713827	0,749141824	0,98739094
MSTN	-4,287977	27,508356	0,710843193	0,9942048
MyoD	-3,773048	26,613922	0,840931842	0,9835028
MyoG	-4,01682	25,40086	0,773998005	0,9924569
MYF5	-3,784392	28,321676	0,837571019	0,99599004
Desmin	-5,784071	24,8285	0,48897909	0,9901103
Pax3	-3,494443	30,74126	0,932721649	0,9721825
Pax7	-3,966096	30,752125	0,787051453	0,960897
CKM	-3,715789	18,569706	0,858325668	0,9996724
LDHA	-3,453781	32,77526	0,947770337	0,975987
LPL	-3,7010298	23,467482	0,862923703	0,997186
FABP4	-3,088576	21,028793	1,107530187	0,99929726
PPARG	-4,831205	30,57021	0,990929212	0,9954544
LEPR	-3,8321075	32,93167	1,162474533	0,788446
IGF1R	-3,1581216	29,221836	1,073212979	0,97458494
IGF1	-3,7267172	26,928589	0,854952001	0,995732
GHR	-3,8550603	26,128729	0,817185717	0,9925923

4.8. Processamento da Análise Estatística

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, sendo cada par de irmãs completas considerado um bloco. Todas as variáveis foram previamente testadas para normalidade. Os parâmetros foram submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando o programa SAS (*Statistical Analysis System*), sendo as médias comparadas por meio do teste *T de Student*. A análise da expressão relativa dos genes relacionados à miogênese, adipogênese e crescimento foi realizada por meio do programa REST 2009 (Qiagen). O nível de significância considerado foi de $P < 0,05$.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Peso corporal e peso de órgãos ao nascimento

Os dados relativos ao peso corporal e peso de alguns órgãos dos leitões recém-nascidos de ambos os grupos experimentais estão representados na Tabela 3. Os pesos de alguns órgãos (intestino delgado, intestino grosso, fígado, coração, estômago e cérebro) dos leitões BP foram menores ($P < 0,01$) em relação aos pesos dos órgãos nos leitões do grupo AP. Estes dados sugerem que o desenvolvimento dos diferentes órgãos dos leitões BP durante a gestação foi prejudicado, em concordância com outros trabalhos anteriores (Wang et al., 2008; Wang et al., 2010; Alvarenga et al., 2013).

A relação entre o peso do cérebro e o peso do fígado tem sido a medida mais utilizada para se mensurar a restrição intrauterina do crescimento (Bauer et al., 1998). Assim, os leitões BP apresentaram valores da relação peso do cérebro/peso do fígado maiores que 1 (Tabela 3) ou seja, o crescimento do cérebro foi beneficiado (efeito de “poupar” o cérebro) em detrimento do crescimento dos demais órgãos, como por exemplo, o fígado, demonstrando claramente que aqueles indivíduos sofreram IUGR.

Tabela 3. Peso corporal ao nascimento (kg) e peso absoluto de órgãos (g) em leitões de alto peso (AP) e baixo peso (BP) ao nascer

Variáveis	Grupos Experimentais		Erro-Padrão
	AP (n=10)	BP (n=10)	
Peso ao nascer	1,5 ^a	0,9 ^b	0,01
Intestino delgado	62,6 ^a	36,6 ^b	2,10
Intestino grosso	16,8 ^a	10,6 ^b	0,30
Fígado	43,8 ^a	23,9 ^b	1,20
Coração	10,5 ^a	6,7 ^b	0,25
Cérebro	28,7 ^a	25,2 ^b	0,40
Estômago	9,0 ^a	5,8 ^b	0,30
Cérebro/fígado	0,7 ^a	1,1 ^b	0,04

^{a,b} Médias seguidas por letras diferentes na linha, diferem entre os tratamentos ($P < 0,05$).

5.2. Crescimento pós-natal

As médias de peso dos animais no momento da eutanásia para os grupos experimentais AP e BP estão representadas na Figura 7. Os animais que nasceram mais

pesados (AP) apresentaram maior peso corporal nas três idades avaliadas: ao nascer, 100 e 150 dias ($P < 0,05$).

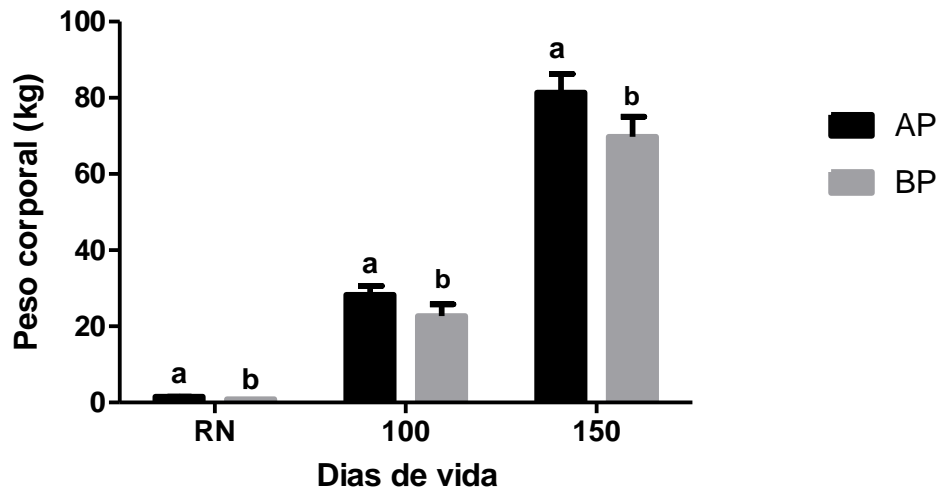


Figura 7. Peso corporal dos animais recém-nascidos (RN) e aos 100 e 150 dias de idade dos grupos experimentais alto peso (AP) e baixo peso (BP) ao nascimento no momento da eutanásia. a,b: letras diferentes na mesma idade apresentam diferença estatisticamente significativa ($P < 0,05$).

De acordo com os resultados do presente trabalho, os animais de baixo peso ao nascimento apresentaram um crescimento inferior quando comparados aos animais de alto peso. Resultado similar foi citado no trabalho de Alvarenga et al. (2013), onde se investigou o impacto do peso ao nascer sobre o desenvolvimento pós-natal e características da carcaça em suínos de diferentes pesos ao nascer. Os dados de crescimento aqui apresentados mostram que os animais BP apresentaram desenvolvimento inferior ao longo das diferentes fases de produção. Outros estudos também relataram comprometimento no desempenho pós-natal nos estágios de pré-desmame, creche e de crescimento-terminação em suínos de baixo peso ao nascer (Quiniou et al., 2002; Rehfeldt et al., 2008; Almeida et al., 2017).

O peso do leitão ao nascimento é considerado um dos principais fatores diretamente relacionados à sua sobrevivência, bem como ao seu desenvolvimento ao longo de sua vida produtiva. Assim, o baixo peso ao nascimento pode ser uma importante causa de elevadas taxas de mortalidade no período pré-desmame, como descrito no trabalho de Nuntapaitoon & Tummaruk (2015), utilizando leitões com média de peso ao nascimento inferior a 1,0 kg. Estas menores taxas de sobrevivência nestes animais podem ser devido a menores níveis de reservas energéticas corporais, maior sensibilidade ao frio, demoram mais tempo para

atingir o complexo mamário e mamar efetivamente, além de terem menor habilidade em escolher os melhores tetos, como descrito nos trabalhos de Nuntapaitoon & Tummaruk (2015) e Lay et al. (2002). Assim sendo, todos esses fatores em conjunto levam a uma menor ingestão de colostro e leite, menor aquisição de imunidade passiva, gerando um quadro de subnutrição, o que resulta em comprometimento do desenvolvimento e maior mortalidade.

5.3 Avaliações morfológicas e morfométricas

5.3.1 Avaliações Morfológicas

Em animais recém-nascidos dos grupos experimentais AP e BP, as fibras musculares apresentaram formato esférico, organizadas em fascículos distintos, envolvidos pelo perimísio (Figuras 8A,C), onde os núcleos foram observados de forma evidente e localizados na região periférica do citoplasma das fibras (Figuras 8B,D).

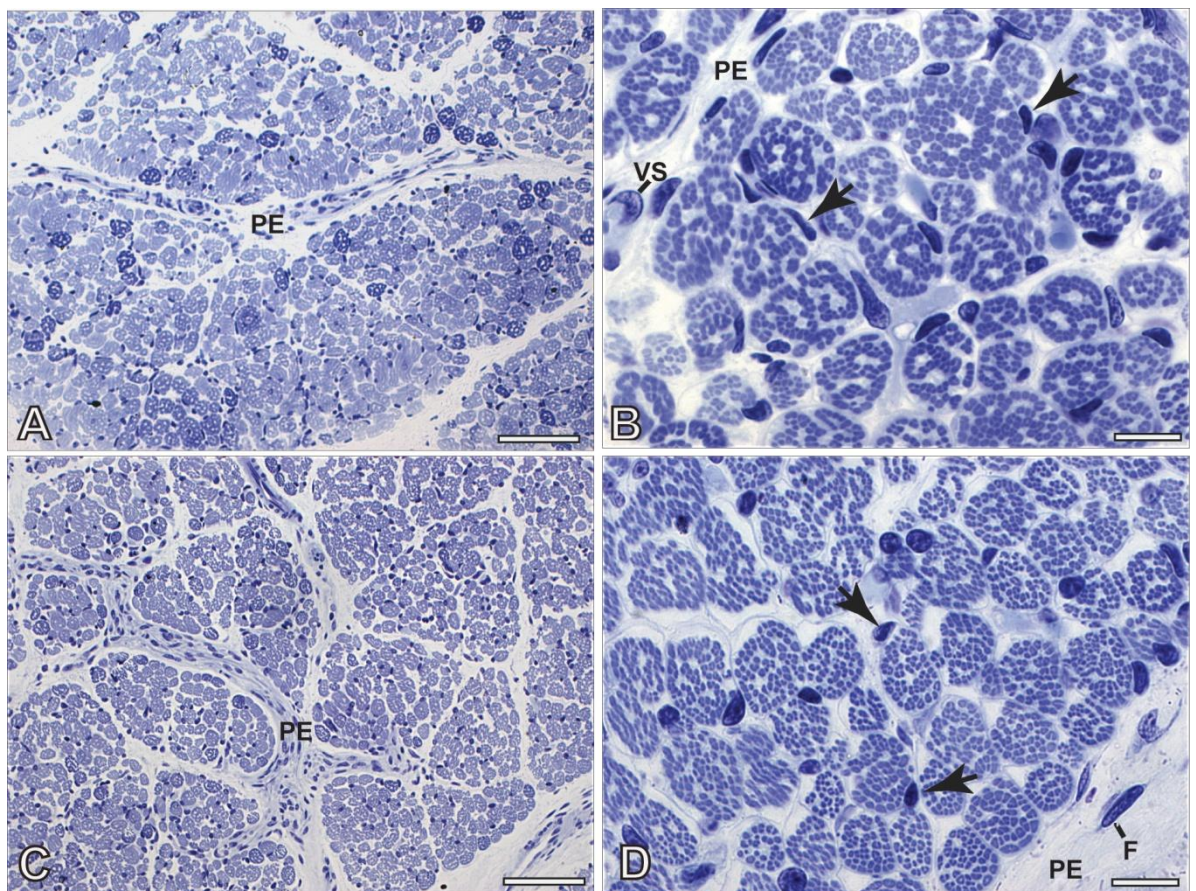


Figura 8. Fotomicrografias de cortes transversais do músculo semitendíneo em suínos recém-nascidos de alto peso (A-B) e baixo peso (C-D) ao nascimento. PE, perimísio; VS, vaso sanguíneo; seta, núcleo de célula muscular; F, fibroblasto. Barras: A-C, 80 μ m; B-D, 13 μ m.

Em animais de 100 e 150 dias de idade, as fibras musculares apresentaram morfologia diferente do que foi observado nos indivíduos recém-nascidos, com formato poligonal, sendo estas características presentes em ambos os grupos experimentais. Além disso, foram também observadas células adiposas (A), vasos sanguíneos (VS) e perímio (PE) em ambas as idades (Figuras 9A, B).

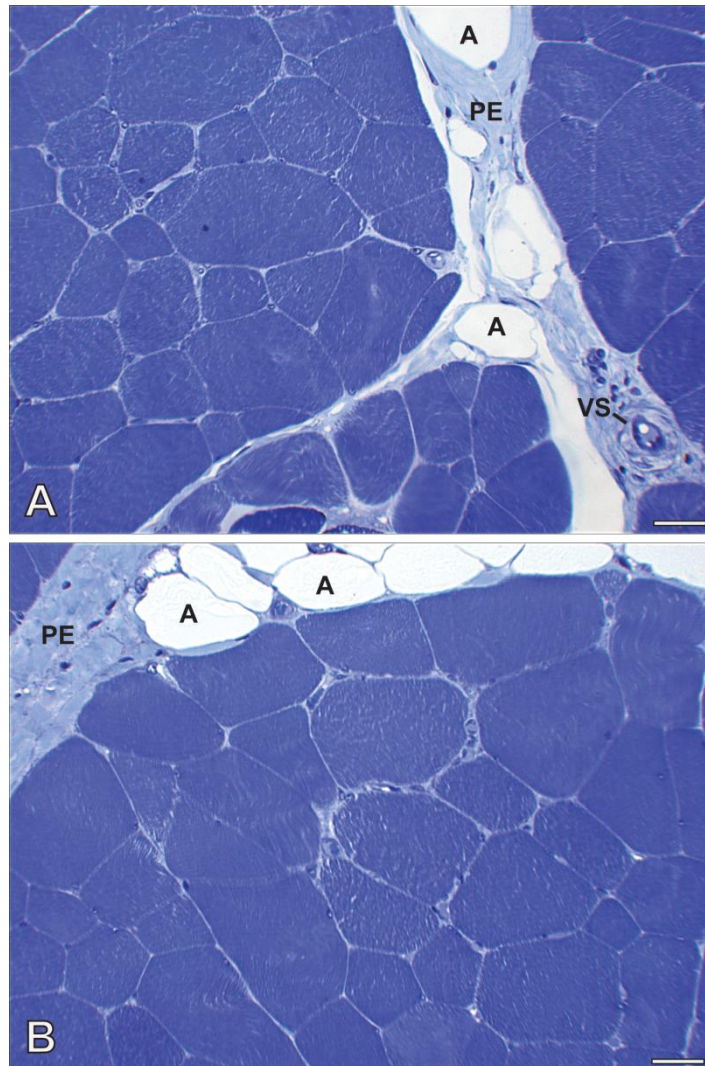


Figura 9. Fotomicrografias de cortes transversais de fascículos de músculo semitendíneo e de inúmeras fibras musculares de suínos de alto peso ao nascimento, nas idades de 100 (A) e 150 (B) dias. PE, perímio, A, adipócito; VS, vaso sanguíneo. Barras: 60 µm.

5.3.2 Avaliações histomorfométricas

Na Tabela 4, estão apresentados os valores correspondentes às análises histomorfométricas do músculo semitendíneo em leitões recém-nascidos, 100 e 150 dias de idade, pertencentes aos grupos experimentais AP e BP.

As análises histomorfométricas do músculo semitendíneo mostraram que os diâmetros das fibras musculares foram menores nos leitões recém-nascidos do grupo BP ($P < 0,01$) e semelhantes entre ambos os grupos experimentais aos 100 e 150 dias de idade ($P > 0,05$). Adicionalmente, em virtude do menor diâmetro das fibras musculares nos animais BP, foi observado um maior número de fibras musculares por mm^2 (densidade) de área do músculo semitendíneo nesse grupo experimental ($P < 0,05$). Nas demais idades (100 e 150 dias), o número de fibras musculares por mm^2 de área do músculo semitendíneo de área do músculo semitendíneo não foi afetado pelo peso ao nascimento, sendo, portanto, semelhante em ambos os grupos experimentais ($P > 0,05$).

Os resultados obtidos neste trabalho estão de acordo com os dados reportados no estudo de Alvarenga et al. (2013), onde não somente o número, mas também o diâmetro e a porcentagem de fibras musculares do músculo semitendíneo foi menor em indivíduos recém-nascidos de baixo peso ao nascimento. Estes resultados também estão de acordo com trabalhos anteriores (Handel & Stickland, 1987; Dwyer *et al.*, 1993).

No trabalho de Pardo et al. (2013), onde os efeitos da restrição intrauterina do crescimento sobre o desenvolvimento de órgãos e músculos foram avaliados, verificou-se que a prole apresentou características fenotípicas indicativas de restrição intrauterina de crescimento tais como menor peso ao nascer, pesos reduzidos de órgãos e músculos, bem como maior relação entre peso do cérebro e peso do fígado (efeitos de poupar o cérebro). Além disso, estes animais apresentaram prejuízos no crescimento (hiperplasia) das miofibras, bem como na maturação das mesmas. Resultados semelhantes também foram descritos por Rehfeldt et al. (2011).

Tabela 4. Análises histomorfométricas do músculo semitendíneo em animais recém-nascidos, 100 e 150 dias de idade, pertencentes aos grupos de alto peso (AP) e baixo peso (BP) ao nascimento

Parâmetros	Recém-nascido		100 dias		150 dias	
	AP (n= 5)	BP (n =5)	AP (n= 5)	BP (n =5)	AP (n= 5)	BP (n =5)
Fibra muscular (%)	74,40 ± 2,8 ^a	76,00 ± 2,8 ^a	90,20 ± 1,9 ^a	88,40 ± 1,9 ^a	91,00 ± 1,5 ^a	91,10 ± 1,5 ^a
Interstício (%)	23,30 ± 2,3 ^a	23,40 ± 2,3 ^a	8,00 ± 1,5 ^a	10,70 ± 1,5 ^a	6,30 ± 0,9 ^a	6,80 ± 0,9 ^a
Adipócito (%)	2,10 ± 0,8 ^a	0,70 ± 0,8 ^a	1,70 ± 0,6 ^a	0,80 ± 0,6 ^a	2,90 ± 1,6 ^a	4,10 ± 1,6 ^a
Vasos sanguíneos (%)	0,06 ± 0,07 ^a	0,14 ± 0,07 ^a	0,14 ± 0,09 ^a	0,15 ± 0,09 ^a	0,10 ± 0,07 ^a	0,16 ± 0,07 ^a
Diâmetro das fibras musculares (µm)	18,30 ± 0,6 ^a	15,30 ± 0,6 ^b	63,30 ± 2,9 ^a	65,30 ± 2,9 ^a	70,90 ± 6,7 ^a	76,90 ± 6,7 ^a
Densidade (n°. fibras/mm ²)	4470 ± 417 ^a	6120 ± 417 ^b	435 ± 80 ^a	597 ± 80 ^a	397 ± 45 ^a	274 ± 45 ^a
Área da secção transversal do músculo (mm ²)	1200 ± 151 ^a	730 ± 151 ^a	–	–	–	–
Número total de fibras (x10 ³)	6250 ± 11 ^a	4270 ± 11 ^a	–	–	–	–

^{a,b} Médias seguidas por letras diferentes, na linha, diferem entre animais da mesma idade (P < 0,05)

5.3.2.1. Histograma de frequência

Devido à variabilidade de valores dos diâmetros das fibras musculares nas idades e tratamentos estudados, foi construído um gráfico do tipo “*boxplot*”, para uma melhor visualização dos dois tratamentos (AP e BP), comparando-se os valores da mediana dos diâmetros entre eles, dentro da mesma idade.

Assim, nas Figuras 10A-C os valores máximos e mínimos dos diâmetros mensurados em cada tratamento podem ser observados, onde uma variação nos diâmetros entre os animais AP e BP nas três idades estudadas ($P < 0,05$) é evidenciada. Por exemplo, nos animais recém-nascidos, os valores da mediana foram $14,30 \pm 0,09$ para AP e $11,60 \pm 0,06$ para BP ($P < 0,05$). Nos animais de 100 dias, os valores da mediana foram $42,20 \pm 0,36$ para AP e $37,60 \pm 0,35$ para BP ($P < 0,05$). Nos animais de 150 dias, os valores da mediana foram $47,90 \pm 0,55$ para AP e $50,50 \pm 0,50$ para BP ($P < 0,05$).

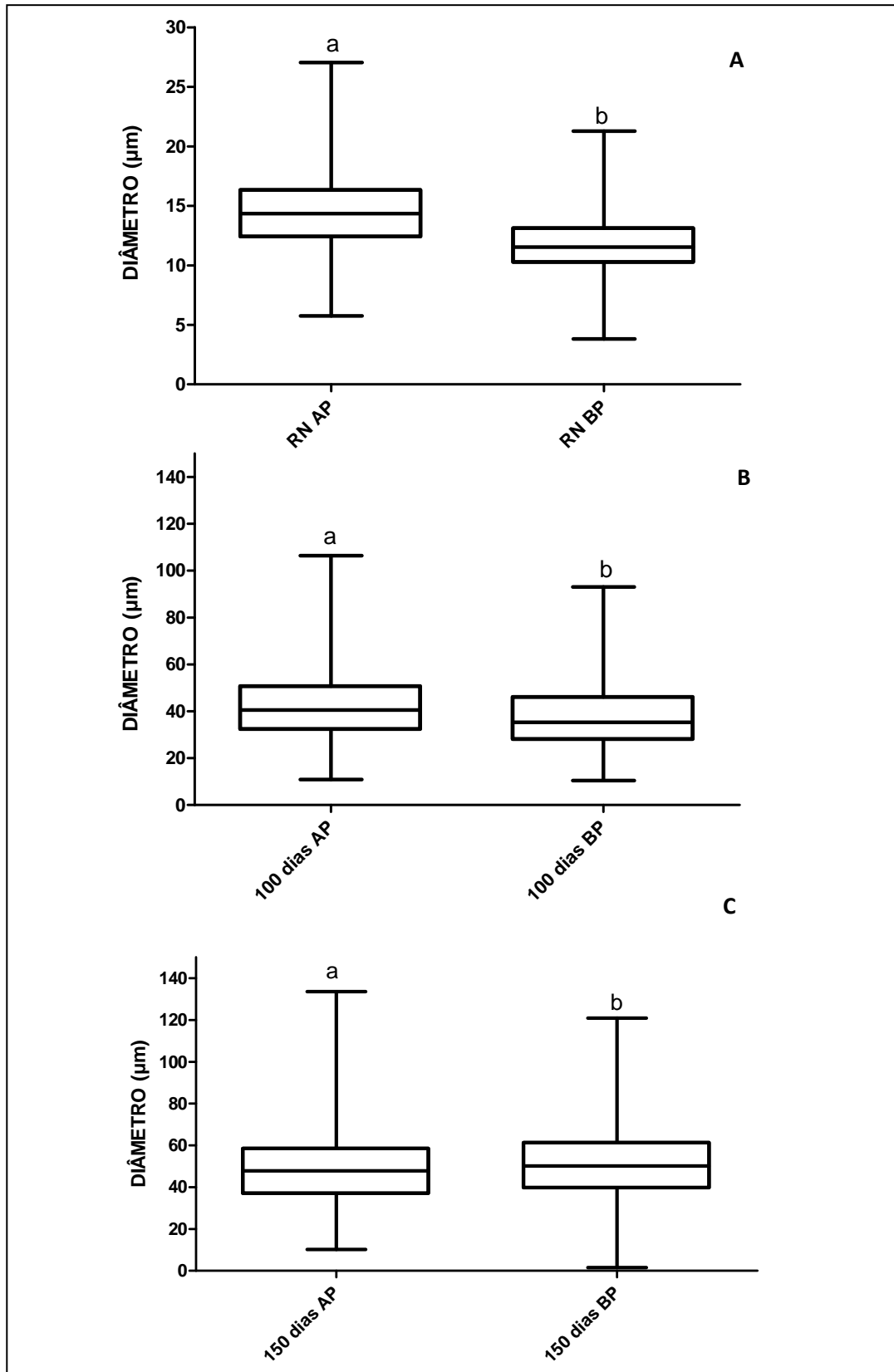


Figura 10. Comparação entre os valores dos diâmetros das fibras musculares nas idades em estudo: recém-nascidos - RN (A), 100 (B) e 150 dias (C), em animais de alto (AP) e baixo (BP) peso ao nascimento (^{a,b} $P < 0,05$).

5.4. Quantificação dos diferentes tipos de fibras musculares

Amostras de músculo semitendíneo de coelho foram utilizadas como controles positivos e negativos (Fig. 11).

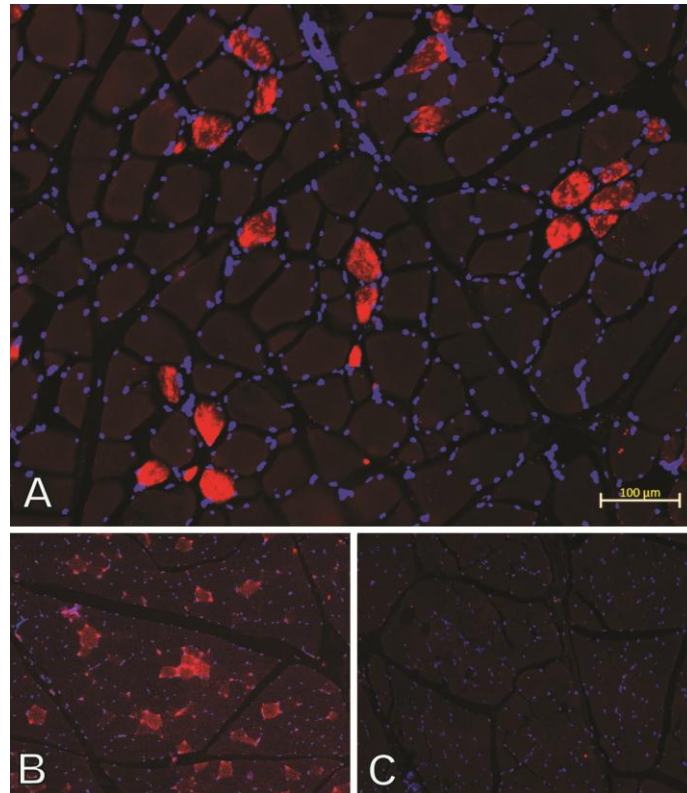


Figura 11. Reação de imunofluorescência para miofibras MHC I em suínos (A), e os respectivos controles positivo (B) e negativo (C).

Os resultados referentes à tipificação e quantificação das fibras musculares MHCI (contração lenta) no músculo semitendíneo de animais recém-nascidos, 100 e 150 dias de idade em ambos os grupos experimentais estão representados na Tabela 5.

Tabela 5. Quantificação de fibras musculares tipo MHCI (contração lenta) e MHCIIa, MHCIIb, MHCIIX (contração rápida) no músculo semitendíneo em animais RN, pertencentes aos grupos de alto peso (AP) e baixo (BP) peso ao nascimento

Tipos de Fibras	RN (n=6)		100d (n=6)		150d (n=6)	
	AP	BP	AP	BP	AP	BP
MHCI	15,20±2,8 ^a	29,00±2,8 ^b	0,13±0,06 ^a	0,08±0,06 ^a	0,10±0,03 ^a	0,04±0,03 ^a
MHCIIa	–	–	0,07±0,07 ^a	0,18±0,07 ^a	0,08±0,03 ^a	0,20±0,03 ^a
MHCIIb	–	–	0,15±0,05 ^a	0,18±0,05 ^a	0,10±0,02 ^a	0,18±0,02 ^a
MHCIIX	–	–	0,90±0,04 ^a	0,81±0,04 ^a	0,90±0,03 ^a	0,80±0,03 ^b

^{a,b} Médias seguidas por letras diferentes, na linha, diferem entre animais da mesma idade (P < 0.05)

Foi observada em animais recém-nascidos a presença de fibras musculares do tipo MHCI (contração lenta) em maior quantidade nos animais de baixo peso (P<0,05). No entanto, essa diferença tende a desaparecer com o avançar da idade, momento em que foi observada proporções semelhantes de fibras MHCI em ambos os grupos experimentais aos 100 e 150 dias de idade. Estes resultados estão de acordo com o trabalho de Lefaucher et al. (1995), que descreve o padrão de distribuição do tipo de fibra no músculo semitendíneo em suínos. Segundo estes autores, as isoformas embrionárias e fetais de MHC são isoformas de transição, que no período de duas semanas após o nascimento, amadurecem para se tornar isoformas tipo II em adultos. Dessa forma, não era esperada a observação de tipos de fibras de contração rápida nos indivíduos recém-nascidos. Por outro lado, a presença de quase o dobro do número de fibras MHCI nos animais recém-nascidos BP sugere a ocorrência de miogênese tardia nestes animais.

Os resultados referentes à tipificação e quantificação das fibras musculares MHCIIa, MHCIIb, MHCIIX (contração rápida) no músculo semitendíneo de animais recém-nascidos, 100 e 150 dias de idade em ambos os grupos experimentais estão representados na Tabela 5.

Em relação à quantificação das fibras de contração rápida em animais de 100 dias, foi observado que o peso ao nascimento também não afetou a quantificação das fibras de contração rápida (MHCIIa, MHCIIb, MHCIIX). Já nos animais de 150 dias, foram observados valores numericamente maiores para fibras de contração rápida (MHCIIa e MHCIIb) nos animais de baixo peso ao nascimento. Entretanto, esses valores não atingiram o nível de

significância ($P=0,059$ e $P=0,08$, respectivamente). Por outro lado, foi observado um menor número de fibras MHCIIx nos animais BP ($P < 0,05$).

Curiosamente, as miofibras MHC tipo I e tipo IIb nos animais BP apresentaram padrão hipertrofico de 100 para 150 dias de idade inferior, onde o diâmetro nesses animais foi cerca de 25 % e 30 %, respectivamente, do valor atingido pelo grupo AP (Figura 12A,C), o que não foi observado nos demais tipos (MHC-IIa e -IIx; Figura 12B,D).

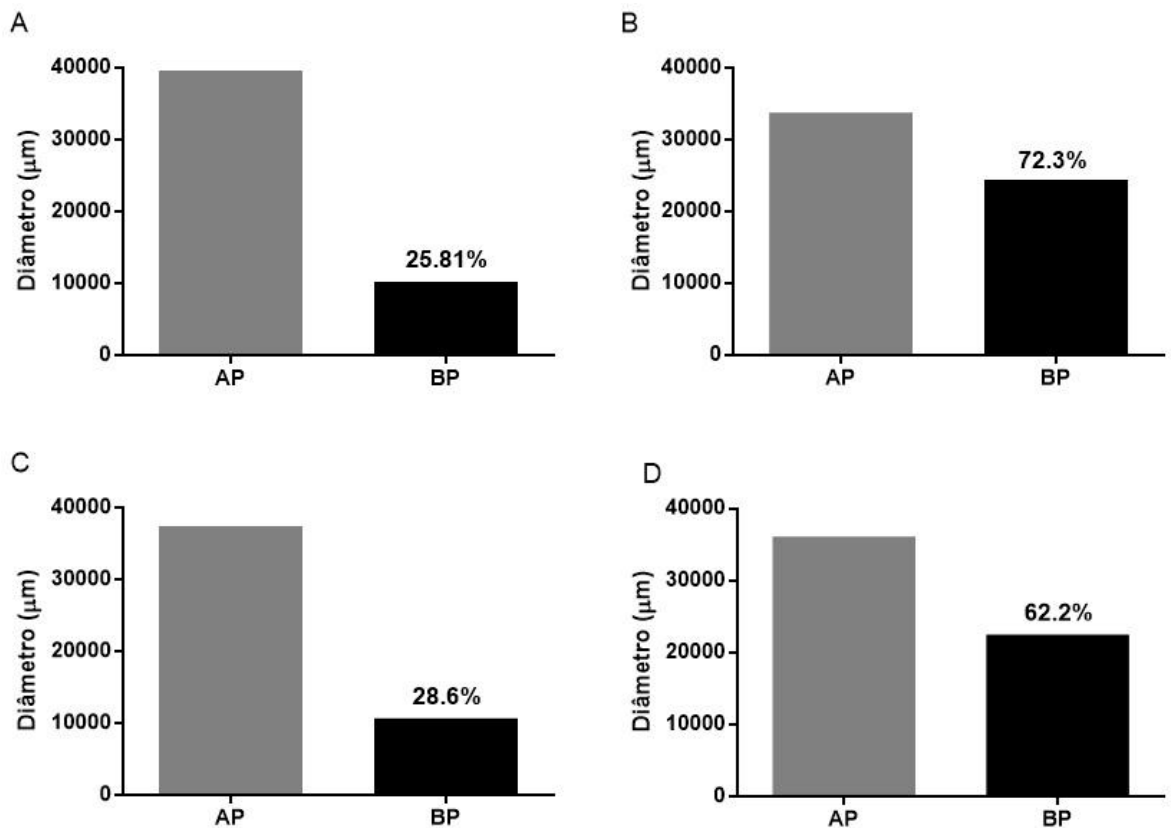


Figure 12: Hipertrofia das fibras musculares esqueléticas durante o crescimento dos animais de 100 para 150 dias de idade: **(A)** MHC I (contração lenta), **(B)** MHCIIa, **(C)** MHCIIb e **(D)** MHCIIx (B-D contração rápida).

Segundo Lee et al. (2016), a qualidade da carne na espécie suína pode ser influenciada pelo número total de fibras musculares, bem como pela área e tipo das mesmas. De tal forma que, maiores proporções de fibras tipos I e IIa, associadas à menor proporção de fibras do tipo IIb poderiam favorecer a melhor qualidade de carne em termos de textura. Assim sendo, podemos inferir que em função de uma maior proporção de fibras do tipo IIb, os animais do grupo BP podem apresentar carne com textura inferior.

Resultados similares foram encontrados no trabalho de Dierckx et al. (2004), onde foram analisadas fibras dos músculos esquelético *Obturator externi* (Obturador externo) e *Longus colli* (longo do pescoço) de suínos em quatro grupos genéticos a saber: Landrace, Large White, Duroc e mestiços distintos. Os resultados mostraram que o número total de fibras musculares não foi significativamente influenciado por grupo genético. Quanto às análises de fibras, os músculos não diferiram entre si, quanto à porcentagem de fibras oxidativas – glicolíticas (IIa), mas sim, quanto à porcentagem de fibras oxidativas (tipo I) e fibras glicolíticas (tipo IIb). Ambos os grupos apresentaram maior porcentagem de fibras de contração rápida (IIb), não havendo diferenças entre os grupos genéticos.

No trabalho de Katsumata et al. (2017), os resultados encontrados também estão de acordo com os descritos no presente estudo. Katsumata e seus colaboradores reportaram o desenvolvimento ontogênico das fibras musculares nos estágios pré e pós-natal e quantificaram os tipos de fibras musculares encontrados nas respectivas fases de desenvolvimento, com o objetivo final de relacionar a qualidade da carne com o tipo de fibra muscular. Dessa forma, demonstraram que fibras musculares do tipo IIb apareceram durante o dia 1 e dia 12 do estágio pós-natal. Não foi detectada evidência clara de existência de fibras musculares tipo 2 no dia 1 da fase pós-natal. Posteriormente, quando a prole atingiu o dia 12 da fase pós-natal, as proporções de fibras classificadas em IIx ou IIb foram altas (70%). Outra comprovação importante destes autores foi a abundância de fibras MHC 2b a partir do dia 90 do estágio fetal até o dia 26 após o nascimento, em que no período pós-parto, como neste estudo, a prole experimental mudava de ambiente intrauterino para o ambiente externo. Assim, após o parto, os suínos devem apoiar os seus corpos contra a gravidade, a fim de manter a sua postura, devendo se locomover para obter alimentos, incluindo colostro e leite. Essas funções são imediatamente adquiridas pelo desenvolvimento de fibra muscular tipo II durante o desenvolvimento pós-natal precoce.

No trabalho de Toniolo et al. (2004), foi apresentada a primeira análise completa e sistemática da relação entre as propriedades contráteis das fibras musculares e a composição da isoforma da miosina em suínos além de fornecerem as propriedades contráteis das fibras rápidas que expressam MHC IIb em grandes mamíferos. Os resultados encontrados mostraram que músculos de suínos são ricos em miosinas rápidas, incluindo miosina IIb. Os resultados também levantaram questões biológicas interessantes, como por

exemplo o motivo pelo qual os músculos dos suínos não expressariam apenas a isoforma de MHC IIb, isoforma esta que não está presente em grandes mamíferos. Uma possível resposta é que as linhagens genéticas de suínos contemporâneas, incluindo "Large White" examinados neste estudo, são resultados de uma pressão seletiva visando apenas aumentar a fertilidade e o tamanho muscular, sem qualquer atenção à atividade de locomoção. Nesse aspecto, o suíno pode ser diferente do boi e da ovelha, onde as condições de reprodução (pastagem) requerem movimento e, mais obviamente, do cavalo, uma espécie onde o desempenho da locomoção se tornou o parâmetro de referência para a seleção.

Os resultados das avaliações histomorfométricas apresentados na Tabela 4 revelam que os resultados foram semelhantes quanto à porcentagem de fibras musculares e adipócitos nas três idades avaliadas. Borosky et al. (2010), com o objetivo de analisar as características miofibrilares de suínos de quatro linhagens distintas e correlacioná-las com a qualidade de carne, concluíram que genéticas com mais fibras musculares têm menor taxa de gordura intramuscular e apresentam carne mais clara e com menor capacidade de retenção de água. Entretanto, não foi observada correlação entre número de fibras musculares e frequência de fibras glicolíticas em seu trabalho.

As modificações na estrutura muscular levam a alterações na qualidade da carne produzida, uma vez que a seleção visando animais com alto peso muscular promove o desenvolvimento de músculos com maior número de fibras musculares, bem como maior quantidade de fibras musculares de contração lenta (Dierckx et al., 2004). Este fato vem reforçar, mais uma vez, a melhor qualidade de carne oriunda de animais de alto peso ao nascimento.

5.5 Avaliações Moleculares

Os resultados referentes à expressão relativa de genes miogênicos, adipogênicos e de crescimento em animais recém-nascidos, 100 e 150 dias de idade, em ambos os grupos experimentais estão representados na Figura 13.

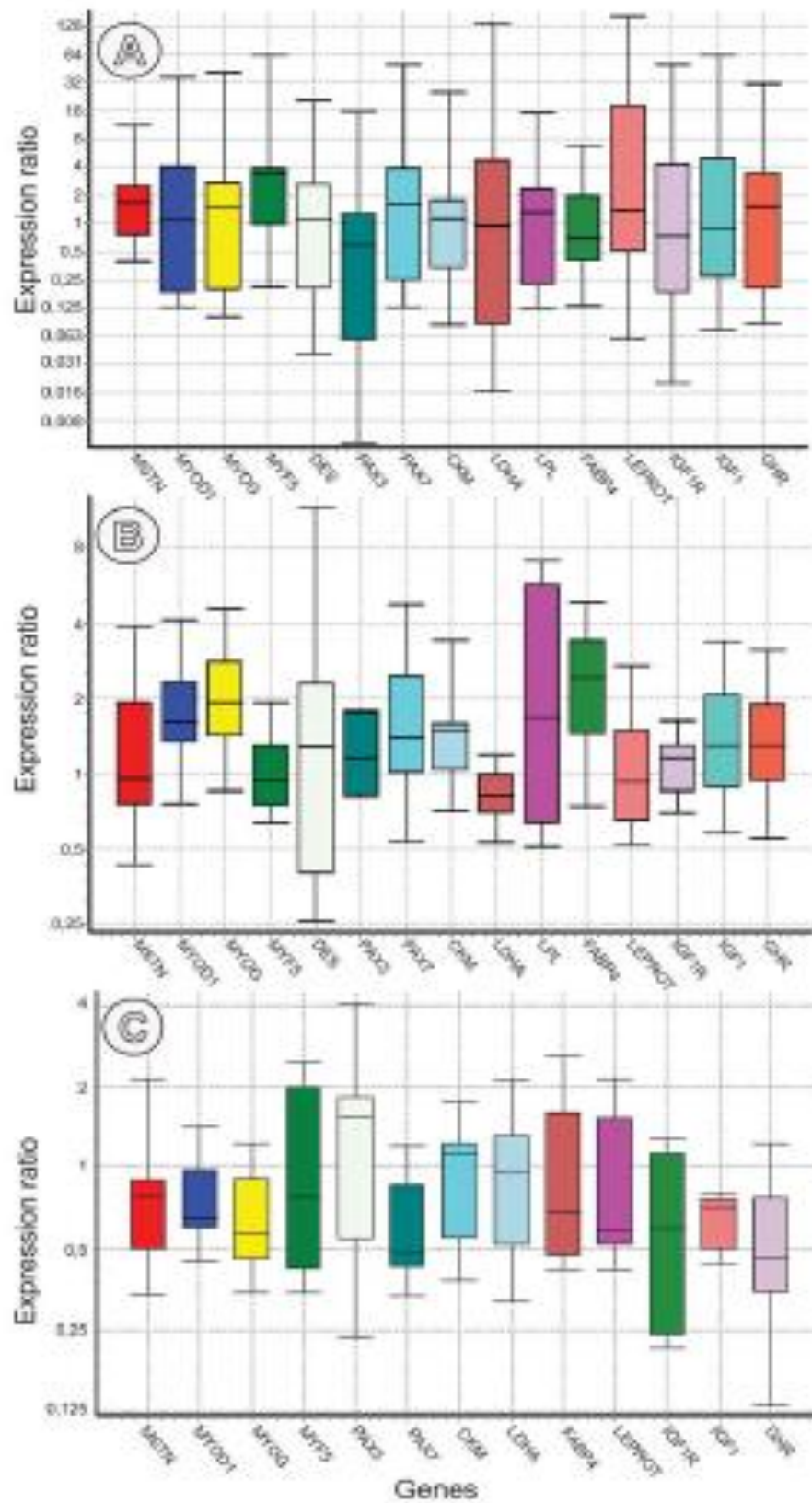


Figura 13. Expressão relativa de genes adipogênicos, miogênicos e de crescimento em animais recém-nascidos (A), 100 dias (B) e 150 dias (C) de idade, pertencentes aos grupos experimentais de baixo peso ao nascimento, comparadas aos indivíduos de alto peso ao nascimento (valor de referência 1 na linha pontilhada).

Não houve diferença no nível de expressão de todos os genes testados em ambos os grupos experimentais nas três idades avaliadas, não sendo, portanto, afetados pelo peso ao nascimento. Nesta análise, o nível de expressão detectado para cada gene nos animais de alto peso foi considerado como “expressão basal” (valor 1 no eixo Y, “expression ratio”); e os valores de expressão detectados nos animais de baixo peso foram avaliados com relação a este valor basal. Possivelmente, a variação observada na expressão de cada gene entre animais do mesmo grupo foi maior do que a variação observada entre animais de pesos diferentes. De qualquer forma, não foi possível detectar diferenças significativas na expressão desses genes entre animais de diferentes pesos.

Estes resultados estão de acordo com os dados de Paredes et al. (2013) que também não encontraram diferenças na expressão de genes PCNA, PAX7, MYF5 e MYOD em leitões de diferentes pesos ao nascimento às 10 semanas de idade. No presente estudo, a ausência de efeito sobre a expressão relativa dos genes no período pós-natal, associada a diferenças tanto no peso corporal quanto morfológicas e morfométricas observadas nas fêmeas BP, sugere que alterações quanto à maior ou menor expressão gênica possam ter previamente ocorrido ainda na vida embrionária.

Neste sentido, o estudo de Yang et al. (2014) demonstrou que, em raças de suínos criadas para a deposição muscular, genes ligados à miogênese teriam alta expressão durante o período pré-natal. No trabalho de Reis et al. (2016), onde foram analisados a expressão de 13 genes miogênicos, durante o desenvolvimento muscular em quatro períodos pré-natais (21, 40, 70 e 90 dias após a inseminação) e em três raças comerciais (Duroc, Landrace e Large-White) e na raça Piau. Estes autores demonstraram que existem diferenças na deposição de massa muscular, devido ao fato de os genes CSRP3, LEF1, MRAS e MYOG apresentarem maior expressão em pelo menos um período pré-natal nos suínos de raças comerciais comparados à raça Piau. Os resultados deste estudo identificaram o gene LEF1 como um candidato principal para as diferenças na deposição de massa muscular entre as raças de suínos uma vez que a ativação deste gene pode levar a uma maior fusão de mioblastos em raças comerciais em comparação com a raça Piau. Essa fusão poderia explicar as diferenças nas características de massa muscular entre as referidas raças nos períodos pós-natal.

6. CONCLUSÕES

Os resultados aqui apresentados sugerem que:

- Peso ao nascimento afeta as características morfológicas das FM no músculo semitendíneo em indivíduos neonatos de baixo peso. No entanto, essas alterações desaparecem ao longo do crescimento dos animais.
- O baixo peso ao nascimento pode estar associado às alterações no tipo de fibras musculares, favorecendo o tipo de fibras de contração rápida, o que poderá prejudicar a qualidade da carne.
- Expressões gênicas semelhantes nos grupos experimentais nas idades avaliadas sugerem que as alterações estruturais sejam mediadas por modificações gênicas durante o desenvolvimento embrionário.
- Diante disso, estudos futuros são necessários para melhor esclarecimento dos mecanismos responsáveis pelas alterações estruturais em animais de baixo peso ao nascimento.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, F. R. C. L.; LAURENSSEN, B.; PEREIRA, L. X.; TEERDS, K. J. E SOEDE, N. M. Effects of birthweight on reproductive system development and onset of puberty in gilts. *Reproduction, Fertility and Development*, v. 29, n. 2, p. 254-261, 2017.

ALVARENGA, A. L. N.; CHIARINI-GARCIA, H.; CARDEAL, P. C.; MOREIRA, L. P.; FOXCROFT, G. R.; FONTES, D. O. and ALMEIDA, F. R. C. Intra-uterine growth retardation affects birthweight and postnatal development in pigs, impairing muscle accretion, duodenal mucosa morphology and carcass traits. *Reprod. Fertil. Dev.*, v. 25, n. 2, p. 387, 2013.

ARTAZA J.N., S. BHASIN, T.R. MAGEE, S. REISZ-PORSZASZ, R.Q. SHEN, N.P. GROOME, M.M. FAREEZ, N.F. GONZALEZ-CADAVID. Myostatin inhibits myogenesis and promotes adipogenesis in C3H 10T(1/2) mesenchymal multipotent cells, *Endocrinology*. v.146, p.3547-3557, 2005.

ASHWORTH, C. Late pregnancy: The effects of intra-uterine life on production traits in offspring. *Animal Frontiers*, v. 3, n. 4, p. 62-67, 2013.

ASHWORTH, C.J.; FINCH, J.M.; PAGE, K.R.; NWAGWU, M.O.; MCARDLE, H.J. Causes and consequences of fetal growth retardation in pigs. *Reproduction (Suppl)*, v.58, p.233-246, 2001.

BARKER, D. J. In utero programming of chronic disease. *Clin. Sci. (Lond.)*, v. 95, p. 115-128, 1998.

BAUER, R.; WALTER, B.; HOPPE, A. Body weight distribution and organ size in newborn swine (*Sus scrofa domestica*): A study describing an animal model for asymmetrical intrauterine growth retardation. *Exp. Toxic. Pathol.*, v. 50, p. 59-65, 1998.

BEAULIEU, A.D.; AALHUS, J.L.; WILLIAMS, N.H.; PATIENCE, J.F. Impact of piglet birth weight, birth order, and litter size on subsequent growth performance, carcass quality, muscle composition, and eating quality of pork. *J. Anim. Sci.*, v.88, p.2767-2778, 2010.

BEE, G.; ANDERSON, A.L.; LONERGAN, S.M.; HUFF-LONERGAN, E. Rate and extent of pH decline affect proteolysis of cytoskeletal proteins and water-holding capacity in pork. *Meat Science*, v.76, p.359–365, 2007.

BERARD, J.; PARDO, C. E.; BÉTHAZ, S.; KREUZER, M. and BEE, G. Intrauterine crowding decreases average birth weight and affects muscle fiber hyperplasia in piglets. *Journal of Animal Science*, v. 88, n. 10, p. 3242-3250, 2010.

BÉRARD, J., KALBE C., LÖSEL D., TUCHSCHERER A., REHFELDT C. Potential sources of early-postnatal increase in myofibre number in pig skeletal muscle. *Histochemistry and Cell Biology*, v. 136, n. 2, p. 217-225, 2011.

BOROSKY, J.C.; ROCHA, M.A.; OBA, A.; PINHEIRO, J.W.; BRIDI, A.M. and SILVA, C.A. *LONGISSIMUS DORSI* MIOFIBRE CHARACTERISTICS AND MEAT QUALITY IN FOUR PORK LINES. *Arch. Zootec.* v.59, n.226, p. 277-286, 2010.

BRIDI, A.M.; SILVA, C.A. Métodos de avaliação da carcaça e carne suína. Londrina: Midiograf, 97p. 2007.

BROWN D. M., BRAMELD J. M., PARR T. Expression of the Myosin Heavy Chain IIB Gene in Porcine Skeletal Muscle: The Role of the CARG-Box Promoter Response Element. *Plos one*, 1-17, 2014.

CASTILHOS, C. A.; LIBERALI, R. A relação da suplementação de macros ou micros nutrientes e sua ação potencializadora sobre a síntese de IGF-1. *Revista Brasileira de Nutrição Esportiva*. São Paulo v. 2, n. 10, p. 240-249, 2008.

CHAMPE, P.C.; HARVEY, R.A.; FERRIER, D.R. *Bioquímica Ilustrada*, 5ª ed., Artmed, 2012.

CHARRIER, E.E.; ASNACIOS A.; MILLOUD, R.; DE METS, R.; BALLAND, M.; DELORT, F.; CARDOSO O., VICART, P.; BATONNET-PICHON, S. HE´N and ON, S. Desmin Mutation in the C-terminal Domain Impairs Traction Force Generation in Myoblasts. *Biophysical Journal*. v.110, p. 470–480, 2016.

CHE, L. YANG, Z.; XU, M.; XU, S.; CHE L.; LIN, Y.; FANG, Z.; FENG,B.; LI J. and WU, D. Maternal nutrition modulates fetal development by inducing placental efficiency changes in gilts. *BMC Genomics*, v. 18, n. 1, 2017.

CHIARINI- GARCIA H, PARREIRA GG, ALMEIDA FR. Glycol methacrylate embedding for improved morphological, morphometrical, and immunohistochemical investigations under light microscopy: testes as a model. *Methods Mol Biol*.p.689:3-18,2011.

COOPER, J.E. The use of the pig as an animal model to study problems associated with low birthweight. *Lab. Anim.*, v.9, p.329-336, 1975.

DAVOLI, R., FONTANESI, L., CAGNAZZO, M., SCOTTI, E., BUTTAZZONI, L., YERLE, M. AND RUSSO, V. Identification of SNPs, mapping and analysis of allele frequencies in two candidate genes for meat production traits: the porcine myosin heavy chain 2B (MYH4) and the skeletal muscle myosin regulatory light chain 2 (HUMMLC2B). *Anim. Genet*. v.34, p. 221-225, 2003.

DENG B., WEN, J.H. Y. DING, J. PENG, S.W. Different regulation role of myostatin in differentiating pig ADSCs and MSCs into adipocytes, *Cell Biochem.Funct*. v.30, p. 145-150, 2012.

DIERCKX S. M., BORTOLOZZI, J., DAL PAI, V. Caracterização dos tipos de fibras de músculos esqueléticos de suínos Landrace, Large White, Duroc e mestiços. Arch. Latino am. Prod. Anim. V. 12, n.1, p.1-7,2004.

DIOKMETZIDOU A., TSIKITIS, M. NIKOULI, S., KLOUKINA, I., TSOUPRI, E., PAPATHANASIOU, S., PSARRAS, S., MAVROIDIS, M., CAPETANAKI, Y. Strategies to Study Desmin in Cardiac Muscle and Culture Systems. Methods in Enzymology, v.568, p.428-454, 2016.

DRAEGER, A.; WEEDS, A.G.; FITZSIMONS, R.B. Primary, secondary and tertiary myotubes in the developing skeletal muscle: a new approach to analysis of human myogenesis, J. Neurol. Sci., v.81, p.19-43, 1997.

DU, M.; ZHU, M.J. Fetal programming of skeletal muscle development. Boca Raton, FL.:CRC press; 2009.

DUBACH-POWELL, J. Quantitative determination of muscle fiber diameter (minimal Feret's diameter) and percentage of centralized nuclei. Treat- NMD Neuromuscular Network. P. 1-16, 2011.

DWYER, C.M.; FLETCHER, J.M.; STICKLAND, N.C. Muscle cellularity and postnatal growth in the pig. Journal Animal Science, v.71, p.3339-3343, 1994.

DYWER, C.M.; MADGEWICK, A.J.A.; WARD, S.S.; STICKLAND, N.C. Effect of maternal undernutrition on the development of fetal myofibres in the guinea pig. Reprod.Fertil. Dev., v.7, p.1285-1292, 1995.

FERENC, K. Pietrzak, P.; Godlewski, M. M.; Piwowarski, J., Kiliańczyk, R.; Guilloteau, P.; Zabielski, R. Intrauterine growth retarded piglet as a model for humans – Studies on the perinatal development of the gut structure and function. Reproductive Biology, v. 14, n. 1, p. 51-60, 2014.

FINCH, A.; Yang, L. G.; Nwagwu, M. O.; Page, K. R.; McArdle, H. J. and Ashworth, C. Placental transport of leucine in a porcine model of low birth weight. *Reproduction*, v. 128, n. 2, p. 229-235, 2004.

FOXCROFT G.R.; DIXON W.T.; DYCK M.K., NOVAK S.; HARDING J.C.S.; ALMEIDA F.R.C.L. Prenatal programming of postnatal development in the pig. In: RODRIGUEZ-MARTINEZ H., VALLET J.L., ZICIK A.J. (Eds). *Control of Pig Reproduction VIII*. 8 ed, Thrumpton: Nottingham University Press, v. 66, p. 213-231. 2009.

GAGNIERE, H., B. PICARD, C. JURIE, Y. GEAY. Comparative study of metabolic differentiation of fetal muscle in normal and double muscled cattle. *Meat Sci*. 45: 145. 1997.

GONDRET, F.; LEFRAUCHEUR, L.; JUIN, H.; et al. Low birth weight is associated with enlarged muscle fiber area and impaired meat tenderness of the longissimus muscle in pigs. *Journal of Animal Science*, v.84, p.93-103, 2006.

GONDRET, F.; LEFAUCHEUR, L.; LOUVEAU, I.; LEBRET, B.; PICHODO, X.; LE COZLER, Y. Influence of piglet birth weight on postnatal growth performance, tissue lipogenic capacity, and muscle histological traits at market weight. *Livest. Prod. Sci.*, v.93, p.137–146, 2005.

GONDRET, F.; Perruchot, M. H.; Tacher S.; Bérard J., Bee, G. Differential gene expressions in subcutaneous adipose tissue pointed to a delayed adipocytic differentiation in small pig fetuses compared to their heavier siblings. *Differentiation*, v. 81, n. 4, p. 253-260, 2011.

GONDRET, F., VINCENT, A., HOUÉE-BIGOT, M., LAGARRIGUE, S., LOUVEAU, I. AND CAUSEUR, D. Molecular alterations induced by a high-fat high-fiber diet in porcine adipose tissues: variations according to the anatomical fat location. *Genomics* 17:120. 2016.

HANDEL, S. E. AND STICKLAND, N. C. Catch-up growth in pigs - A relationship with muscle cellularity. *Anim. Prod.* v.47, p.291-295, 1987.

HOU, X. et al. Discovery of MicroRNAs Associated with Myogenesis by Deep Sequencing of Serial Developmental Skeletal Muscles in Pigs. PLoS ONE, v. 7, n. 12, p. e52123, 2012.

HU, P.; Geles, K. G.; Paik, J. H.; DePinho, R. A.; Tjian, R. Codependent Activators Direct Myoblast-Specific MyoD Transcription. Developmental Cell, v. 15, n. 4, p. 534-546, 2008.

KATSUMATA, M.; YAMAGUCHI, T.; ISHIDA, A. and ASHIHARA, A. Changes in muscle fiber type and expression of mRNA of myosin heavy chain isoforms in porcine muscle during pre- and postnatal development. Animal Science Journal, v. 88, n. 2, p. 364-371, 2017.

KIM, S.W.; HURLEY, W.L.; WU, G.; JI, F. Ideal amino acid balance for sows during gestation and lactation. J. Anim. Sci., v.87, p.123-132, 2009.

LARSSON L, EDSTROM L, LINDEGREN B, GORZA L, SCHIAFFINO S. MHC composition and enzyme-histochemical and physiological properties of a novel fast-twitch motor unit type. Am J Physiol Cell Physiol, v.261, p.C93–C101, 1991.

LAY J. D.C., MATTERI R.L., CARROLL J.A., FANGMAN T.J. & SAFRANSKI T.J. Prewaning survival in swine. Journal of Animal Science. v.80, p.74–86, 2002.

LE GRAND, F.; RUDNICKI, M. Skeletal muscle satellite cells and adult myogenesis. Current Opinion in Cell Biology, v. 19, n. 6, p. 628-633, 2007.

LEE S. H., KIM J.M., RYU Y. C. AND KO, K. S.Effects of Morphological Characteristics of Muscle Fibers on Porcine Growth Performance and Pork Quality. Korean J. Food Sci. An. 36:583-593,2016.

LEFAUCHEUR, L.; EDOM, F.; ECOLAN, P.; BUTLER-BROWNE, G.S. Pattern of muscle fiber type formation in the pig, Dev. Dyn., v.3, p.27–41, 1995.

LIU YINGKAI. Breed, gender and anatomic location-specific expression patterns of the porcine insig-1 and insig-2 genes. *Scientific Research and Essays*, v. 7, n. 15, 2012.

LIVAK, K. J. and SCHMITTGEN T.D. Analysis of Relative Gene Expression Data Using RealTime Quantitative PCR and the 2^{-ΔΔCT} Method. *Methods*, v.25, p. 402–408, 2001.

HOTAMISLIGI, G.S. & BERNLOHR, D. A. Metabolic functions of FABPs— mechanisms and therapeutic implications. *Nat Rev Endocrinol*. v.11, n.10, p.592–605, 2015.

MARTIN-GRONERT, M.OZANNE, S. Maternal nutrition during pregnancy and health of the offspring. *Biochm. Soc. Trans.*, v. 34, n. 5, p. 779-782, 2006.

McPHERRON, A.; LAWLER, A.; LEE, S. Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF- β superfamily member. *nature*, v. 387, n. 6628, p. 83-90, 1997.

MEGENEY, L.; RUDNICKI, M. Determination versus differentiation and the MyoD family of transcription factors. *Biochemistry and Cell Biology*, v. 73, n. 9-10, p. 723-732, 1995.

MILLIGAN, B.N.; FRASER, D.; KRAMER, D.L. Within-litter birth weight variation in the domestic pig and its relation to pre-weaning survival, weight gain, and variation in weaning weights. *Livestock Production Science*, v.76, p.181-191, 2002.

MOSS, F.; LEBLOND, C. Satellite cells as the source of nuclei in muscles of growing rats. *The Anatomical Record*, v. 170, n. 4, p. 421-435, 1971.

MURÁNI, E.; MURANIOVÁ, M.; SIRILUCK, P.; et al. Identification of genes differentially expressed during prenatal development of skeletal muscle in two pig breeds differing in muscularity. *BMC Developmental Biology*, v. 7, n. 1, p. 109, 2007.

NUNTAPAITOON, M. & TUMMARUK P. Piglet preweaning mortality in a commercial swine herd in Thailand., *Trop Anim Health Prod*, 1-8, 2015.

OTTO, A.; COLLINS-HOOPER, H.; PATEL, K. The origin, molecular regulation and therapeutic potential of myogenic stem cell populations. *Journal of Anatomy*, v. 215, n. 5, p. 477-497, 2009.

PAREDES, S. P.; JANSMAN, A. J. M.; VERSTEGEN, M. W. A.; DEN HARTOG, L. A.; VAN HEES, H. M. J.; BOLHUIS, J. E.; VAN KEMPEN, T. A. T. G. and GERRITS; W. J. J. Identifying the limitations for growth in low performing piglets from birth until 10 weeks of age. *Animal*, 8:6, p. 923–930, 2014.

PARDO, C.E.; BÉRARD, J.; KREUZER, M.; BEE, G. Intrauterine crowding impairs formation and growth of secondary myofibers in pigs. *Animal*. v. 7, n. 3, p. 430438. 2013.

PAREDES, S.; KALBE, C.; JANSMAN, A. J. M.; VERSTEGEN, M. W. A.; VAN HEES H. M. J.; LÖSEL, D.; GERRITS, W. J. J. AND REHFELDT, C. Predicted high-performing piglets exhibit more and larger skeletal muscle fibers. *Journal of Animal Science*, v. 91, n. 12, p. 5589-5598, 2013.

PELLEGRINO, M.A.; CANEPARI M.; ROSSIE R.; D'ANTONA G.; REGGIANI C. Orthologous myosin isoforms and scaling of shortening velocity with body size in mouse, rat, rabbit and human muscles. *J Physiol*. v.546, n.3, p. 677–689. 2003.

PETTE, D. & STARON, R. S. Cellular and molecular diversities of mammalian skeletal muscle fibers. *Remtews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology* 116,1-76. 1990.

PERRUCHOT, M.; LEFAUCHEUR L.; LOUVEAU I.; MOBUCHON L.; PALIN M. F.; FARMER C.; GONDRET F. Delayed muscle development in small pig fetuses around birth cannot be rectified by maternal early feed restriction and subsequent overfeeding during gestation. *Animal*, v.9, n.12, p. 1996-2005, 2015.

PICARD B., ROBELIN J, PONS F, GEAY Y. Comparison of the foetal development of fibre types in four bovine muscles. *J Muscle Res Cell Motil*. v.15, p.473–486, 1994.

PICARD, B.; LEFAUCHEUR, L.; BERRI, C.; DUCLOS, M. Muscle fibre ontogenesis in farm animal species. *Reprod. Nutr. Dev.*, v.42, p.415–431, 2002.

POORE, K. R.; FOWDEN, A. L. The effects of birth weight and postnatal growth patterns on fat depth and plasma leptin concentrations in juvenile and adult pigs. *J. Physiol.*, v.558, p.295-304, 2004.

PÓVOA, G. & DINIZ, L. M. Growth Hormone System: skin interactions. *An Bras Dermatol.* V.86, n.6, p.1159-65, 2011.

POWELL, S.E.; ABERLE, E.D. Effects of birthweight on growth and carcass composition of swine. *J. Anim. Sci.*, v.50, p.860–868, 1980.

QIN, L. Integrative Analysis of Porcine microRNAome during Skeletal Muscle Development. *PLoS ONE*, v. 8, n. 9, p. e72418, 2013.

QUINIOU, N.; DAGORN, J.; GAUDRÉ, D. Variation of piglets' birth weight and consequences on subsequent performance. *Livestock Production Science*, v.78, p.63-70, 2002.

REHFELDT, C.; Stabenow, B.; Pfuhl, R.; Block, J.; Nürnberg, G.; Otten, W.; Metges, C.C. and Kalbe, C. Effects of limited and excess protein intakes of pregnant gilts on carcass quality and cellular properties of skeletal muscle and subcutaneous adipose tissue in fattening pigs. *Journal of Animal Science*, v. 90, n. 1, p. 184-196, 2011.

REHFELDT, C.; KUHN, G. Consequences of birth weight for postnatal growth performance and carcass quality in pigs as related to myogenesis. *Journal Animal Science*, v.84, p.111-123, 2006.

REHFELDT, C.; TUCHSCHERER, A.; HARTUNG, M.; KUHN, G. A second look at the influence of birth weight on carcass and meat quality in pigs. *Meat Science*, v.78, p.170- 175, 2008.

REHFELDT, C.; FIEDLER, I.; DIETL, G.; et al. Myogenesis and postnatal skeletal muscle cell growth as influenced by selection. *Livest Prod Sci.* 66:177-188, 2000.

REIS, E.; PAIXÃO, D. M.; BRUSTOLINI, O., J. B.; SILVA F. F.; SILVA W.; ARAÚJO, F. M. G.; SALIM, A. C. M.; OLIVEIRA, G. AND GUIMARÃES, S.E.F. 1Expression of myogenes in longissimus dorsi muscle during prenatal development in commercial and local Piau pigs. *Genetics and Molecular Biology*, v. 39, n. 4, p. 589-599, 2016.

SEMPLE, R., KRISHNA, K. C. AND O'RAHILLY, S. PPAR γ and human metabolic disease. *The Journal of Clinical Investigation.* V.116, n.3, p.581-580, 2006.

SILVA, A. DALTO, D. B.; OLIVEIRA, E. R.; LOZANO, A. P.; GAVIOLI D. F.; OLIVEIRA, J. M.; ROMERO, N. C.; PACHECO G. D.; SILVA, C. A. Viabilidade do uso de leitões natimortos nos estudos de miogênese e desenvolvimento de órgãos vitais. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 33, n. Supl2, p. 3353-3360, 2012.

SCHIAFFINO S. and REGGIANI C. Fiber types in mammalian skeletal muscles. *Physiol Rev.* v.91, p.1447–1531, 2012.

TEDESCO, F. DELLAVALLE, A. J. D.M.; MESSINA, G. AND COSSU, G. Repairing skeletal muscle: regenerative potential of skeletal muscle stem cells. *Journal of Clinical Investigation*, v. 120, n. 1, p. 11-19, 2010.

TE PAS, M. F. W, EVERTS M .E. and HAAGSMAN, H.P. Muscle development of livestock animals: physiology, genetics, and meat quality. CABI Publishing, Cambridge, MA, USA. 2004.

TONGE, D. P., JONES, S. W., BARDSLEY R. G. Characterisation of the sarcomeric myosin heavy chain multigene family in the laboratory guinea pig. *BMC Molecular Biology.* V.11, 2010.

TONIOLO L., PATRUNO M., MACCATROZZO L., PELLEGRINO M. A. , CANEPARI M., ROSSI R., D'ANTONA G., BOTTINELLI R., REGGIANI C.and MASCARELLO F. Fast fibres in a large animal:

fibre types, contractile properties and myosin expression in pig skeletal muscles. *The Journal of Experimental Biology* . v.207, p.1875-1886, 2004.

TOWN, S.; PUTMAN, C.; TURCHINSKY, J.; et al. Number of conceptuses in útero affects porcine fetal muscle development. *Reproduction*, v.128, p.443-454, 2004.

WANG, W., XUE, W., JIN, B., ZHANG, X. MA, F., XU, X. Candidate gene expression affects intramuscular fat content and fatty acid composition in pigs. *Animal Genetics*. V.54, p. 113–118, 2013.

WANG, J.J.; CHEN, L.X.; LI, D.F.; YIN, Y.L.; WANG, X.Q.; LI, P.; DANGOTT, L.J.; HU, W.X.; WU, G. Intrauterine growth restriction affects the proteomes of the small intestine, liver and skeletal muscle in newborn pigs. *J. Nutr.*, v.138, p.60-66, 2008.

WANG, T.; HUO, Y.J.; SHI, F.; XU, R.J.; HUTZ, R. Effects of intrauterine growth retardation on development of the gastrointestinal tract in neonatal pigs. *Biology of Neonate*, v.88, p.66-72, 2005.

WANG, T.; XU, R.J. Effects of colostrum feeding on intestinal development in newborn pigs. *Biology of the Neonate*. v. 70, p.339–348, 2005.

WEISS S, ROSSI R, PELLEGRINO MA, BOTTINELLI R, GEEVES M.A. Differing ADP release rates from myosin heavy chain isoforms define the shortening velocity of skeletal muscle fibers. *J Biol Chem*. v. 276, p.45902–45908, 2001.

WIGMORE, P.M.C.; STICKLAND, N.C. Muscle development in large and small pig fetuses. *Journal of Anatomy*. v.137, p.235-245, 1983.

WU, T. et al. Distinctive Genes Determine Different Intramuscular Fat and Muscle Fiber Ratios of the longissimus dorsi Muscles in Jinhua and Landrace Pigs. *PLoS ONE*, v. 8, n. 1, p. e53181, 2013.

WU, G.; BAZER, F. W.; CUDD, T. A., et al. Maternal nutrition and fetal development. *J. Nut.*, v. 134, p. 2169-2172, 2004.

WU, G.; BAZER, F. W.; WALLACE, J. M., et al. Board invited review: Intrauterine growth retardation: Implications for the animal sciences. *J. Anim. Sci.*, v. 84, p. 2316-2337, 2006.

WU, G.; BAZER, F.W.; DATTA, S.; JOHNSON, G.A.; LI, P.; SATTERFIELD, M.C.; SPENCER, T.E. Proline metabolism in the conceptus: Implications for fetal growth and development. *Amino Acids*, v.35, p.691-702, 2008.

YAN, X. ZHU, M.; DODSON M., V. AND DU M. Developmental Programming of Fetal Skeletal Muscle and Adipose Tissue Development. *Journal of Genomics*, v. 1, p. 29-38, 2013.

YANG, X. Yu, B., Mao, X. B.; Zheng P.; He, J.; Yu, J.; He, Y.; Reecy, J.,M.; Chen, D. W. Lean and obese pig breeds exhibit differences in prenatal gene expression profiles of muscle development. *animal*, v. 9, n. 01, p. 28-34, 2014.

ZHANG, F.; DENG, B.; WEN, J.; CHEN, K.; LIU, W.; YE, S.; HUANG H.; JIANG S.; XIONG Y. PPAR γ and MyoD are differentially regulated by myostatin in adipose-derived stem cells and muscle satellite cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 458, n. 2, p. 375-380, 2015.

ZHAO, X.; ZHANG, F.; DENG B.; WEN, J.; CHEN K.; LIU W.; YE, S.; HUANG H.; JIANG S.; XIONG, Y. Comparative Analyses by Sequencing of Transcriptomes during Skeletal Muscle Development between Pig Breeds Differing in Muscle Growth Rate and Fatness. *PLoS ONE*, v. 6, n. 5, 2011.

ZHU, H.; PARK, S.; SCHEFFLER, J. M., KUANG, S.; GRANT, A. L. AND GERRARD, D. E. Porcine satellite cells are restricted to a phenotype resembling their muscle origin. *Journal of Animal Science*, v. 91, n. 10, p. 4684-4691, 2013.

ZHU, M.J, HAN, B., TONG, J., et al. AMP-activated protein kinase signalling pathways are down regulated and skeletal muscle development impaired in fetuses of obese, overnourished sheep. *J. Physiol.*, v.586, p.2651-2664, 2008.

8. ANEXOS

Anexo 1- Aprovação pelo Comitê de Ética na Utilização de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Projeto Nº: 23732

Titulo: FATORES ENVOLVIDOS NO DESENVOLVIMENTO CORPORAL E DESEMPENHO REPRODUTIVO DE REPRODUTORAS SUÍNAS

Área do Conhecimento: Reprodução Animal

Início: 01/06/2011

Previsão de conclusão: 08/02/2015

Situação: projeto em andamento

Origem: Faculdade de Veterinária

Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias

Projeto da linha de pesquisa FISIOPATOLOGIA E BIOTÉCNICAS APLICADAS + REPRODUÇÃO ANIMAL

Objetivo: a. Identificar uma classe de peso ao nascer de matrizes que esteja associada a uma melhora na taxa de parto e tamanho da leitegada subsequente, b. Determinar o desempenho reprodutivo ao longo da vida em animais de diferentes pesos ao nascer, c. Aumentar a taxa de seleção de matrizes a serem incorporadas no plantel; d. Aumentar a taxa de retenção dessas matrizes no rebanho de produção, e. Comprovar que fetos que sofrem crescimento intrauterino retardado obtêm sequelas no desenvolvimento corporal futuro, comprometendo seu desempenho. f. Avaliar o efeito do peso ao nascer da mãe sobre o peso ao nascer de sua leitegada, g. Identificar fatores de seleção no momento do nascimento, estabelecendo pontos de corte para peso ao nascer das fêmeas destinadas à reprodução futura. h. Comparar os resultados de ganho de peso, aproveitamento de seleção e parâmetros reprodutivos de leitoas (i.e.; idade primeira cobertura, peso à cobertura, taxa de prenhez e parição, índices e pesos de nascimento da progênie,...) durante três partições sequenciais, de matrizes com diferentes tamanhos e pesos nas leitegadas de origem.

Palavras-Chave

Matrizes De Reposição

Peso Ao Nascer

Suíno

Anexos

Parecer da Comissão de Pesquisa:

IDENTIFICAÇÃO: Autor: FERNANDO PANDOLFO BORTOLOZZO Projeto: "FATORES ENVOLVIDOS NO DESENVOLVIMENTO CORPORAL E DESEMPENHO REPRODUTIVO DE REPRODUTORAS SUÍNAS" RELATO Trata-se de projeto de pesquisa do Prof. Fernando Pandolfo Bortolozzo que exerce suas atividades junto ao Departamento de Medicina Animal da Faculdade de Veterinária. O referido professor é graduado em Medicina Veterinária em 1987 pela Universidade Federal do Rio grande do Sul e obteve o título de doutor em Reprodução Animal em 1992. Atua como docente na UFRGS desde 1994. A análise de seu Curriculum Vitae mostra uma produção, nos últimos cinco anos, de 37 artigos publicados em revistas nacionais ou internacionais. Sua experiência em pesquisa também pode ser comprovada pela orientação de: 43 orientações de mestrado concluídas e 5 em andamento; 10 orientações de doutorado concluídas e 3 em andamento. MÉRITO O projeto apresentado pelo solicitante intitula-se "FATORES ENVOLVIDOS NO DESENVOLVIMENTO CORPORAL E DESEMPENHO REPRODUTIVO DE REPRODUTORAS SUÍNAS". A relevância do tema está fundamentada pela revisão de literatura e metodologia está adequada para os objetivos propostos. O projeto tem duração prevista de 3 anos, adequado para a realização do referido trabalho.

CONCLUSÕES Face ao exposto, a Comissão de Pesquisa da Faculdade Veterinária aprova, quanto ao mérito, o projeto de pesquisa do Prof. Fernando Pandolfo Bortolozzo. É recomendado o encaminhamento para o Comitê de Ética e Bem Estar Animal com o grau de severidade leve.

Parecer do Comitê de Ética: Os pesquisadores atenderam às diligências: adequação do nome do pesquisador responsável pelo projeto no formulário de encaminhamento à CEUA, descrição da hormnioterapia e atribuição de seu grau de sereridade, além da descrição do manejo dos animais que não forem selecionados para o experimento bem como destino dos demais animais experimentais.

Recomenda-se a sua aprovação.

CEUA/UFRGS