

## A SUPLEMENTAÇÃO DE BETAÍNA PROMOVE A MODULAÇÃO DE PROTEÍNAS SARCOPLASMÁTICAS ASSOCIADAS AO METABOLISMO ENERGÉTICO CELULAR EM SUÍNOS EM FASE DE TERMINAÇÃO

GUSTAVO DE A. RODRIGUES<sup>1</sup>, MARCOS H. SOARES<sup>2</sup>, THAÍ S. COSTA<sup>1</sup>, CAROLINE B. SILVA<sup>1</sup>, PEDRO V. MONTEIRO<sup>1</sup>, BIANCA Q. LOPES<sup>1</sup>, MARIA N. VALÉRIO<sup>1</sup>, DANTE T. VALENTE JÚNIOR<sup>1</sup>, MARCIO S. DUARTE<sup>3</sup>, ALYSSON SARAIVA<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Zootecnia – Universidade Federal de Viçosa; <sup>2</sup>Departamento de Zootecnia – Universidade Federal de Minas Gerais; <sup>3</sup>Departamento de Biociência Animal – Universidade de Guelph.

Contato: gustavo.a.rodrigues@ufv.br / Apresentador: GUSTAVO DE AMORIM RODRIGUES

**Resumo:** Este estudo foi realizado com o objetivo de investigar o efeito da suplementação da betaína no perfil proteômico do músculo esquelético de suínos em fase de terminação. Foram utilizadas 36 fêmeas suínas (88,96 ± 3,48 kg), distribuídas em delineamento inteiramente casualizado com 9 repetições, 2 animais por baía e 2 dietas: dieta controle (CON) ou CON + 2,5g/kg de betaína (BET). Ao final do período experimental, um animal de cada baía foi abatido e amostras do músculo *Longissimus dorsi* foram coletadas para realizar análise por HPLC-MS/MS. As análises de ontologia gênica e rede de interação de proteína-proteína foram realizadas para identificar os processos biológicos e as interações moleculares das proteínas diferencialmente abundantes, consideradas significativas quando o valor p ajustado (*q-Value*) < 0,05. Os resultados deste estudo sugerem que a suplementação dos suínos com dieta BET afeta o metabolismo energético muscular, regulando de forma negativa proteínas que catalisam reações na via glicolítica, possivelmente contribuindo para o acúmulo de gordura intramuscular. Dessa forma, conclui-se que a suplementação de suínos em fase de terminação com betaína afeta, de forma negativa, as proteínas sarcoplasmáticas relacionadas ao metabolismo energético no músculo esquelético.

**PalavrasChaves:** glicólise; gordura intramuscular; nutrigenômica; proteômica.

## BETAINE SUPPLEMENTATION PROMOTES MODULATION OF SARCOPLASMIC PROTEINS ASSOCIATED WITH CELLULAR ENERGY METABOLISM IN FINISHING PIGS

**Abstract:** This study was conducted to investigate the effect of betaine supplementation on the proteomic profile of skeletal muscle in finishing pigs. Thirty-six female pigs (88.96 ± 3.48 kg) were used in a completely randomized design with 9 replicates and 2 pigs per pen (experimental unit) fed 2 diets: control diet (CON) or CON + 2.5g/kg of betaine (BET). At the end of the experimental period, one animal from each pen was euthanized, and samples of the *Longissimus dorsi* muscle were collected for analysis by HPLC-MS/MS. Gene ontology and protein-protein interaction analyses were conducted to identify the biological processes and molecular interactions of differentially abundant proteins, deemed significant when the adjusted p-value (*q-Value*) was < 0.05. The results of this study suggest that supplementation of pigs with BET diet affects muscular energy metabolism, negatively regulating proteins catalyzing reactions in the glycolytic pathway, potentially contributing to intramuscular fat accumulation. Thus, it is concluded that supplementation of finishing pigs with betaine negatively affects sarcoplasmic proteins related to energy metabolism in skeletal muscle.

**Keywords:** glycolysis; intramuscular fat; nutrigenomics; proteomics.

**Introdução:** A betaína, quando utilizada como suplemento nutricional para suínos em terminação, pode resultar em melhorias no desempenho, além de reduzir a espessura da gordura subcutânea e melhorar a qualidade da carne, principalmente devido ao aumento da deposição de gordura intramuscular (GIM) (1,2). O acúmulo de GIM pode ser atribuído à capacidade da betaína em aumentar a expressão de genes associados à lipogênese e inibir a lipólise no tecido muscular, influenciando diretamente o metabolismo energético muscular (2). Dado o papel crucial da fração sarcoplasmática das proteínas musculares na regulação do metabolismo celular, especialmente as enzimas glicolíticas, que compõem uma parte significativa dessa fração (3), associado ao potencial expansivo da proteômica, foi realizado este estudo. O objetivo foi investigar o efeito da suplementação da betaína no perfil proteômico do músculo esquelético de suínos em fase de terminação, como possível modulador molecular no metabolismo energético muscular.

**Material e Métodos:** Trinta e seis fêmeas suínas de cruzamento comercial, com peso inicial de 88,96 ± 3,48 kg, foram distribuídas em dois tratamentos em delineamento experimental inteiramente casualizado, com nove repetições e dois animais por unidade experimental, representada pela baía. Os tratamentos consistiram em duas dietas experimentais: dieta controle (CON), formulada para atender as exigências nutricionais de suínos na fase de terminação (4) ou dieta CON suplementada com 2,5 g/kg de betaína. No final do período experimental (45 dias), um animal de cada baía, com peso mais próximo de 140 kg, foi atordoado eletricamente e abatido para coletar amostras do músculo *Longissimus dorsi*. Foi realizada a extração de proteínas sarcoplasmáticas a partir de 100mg de tecido muscular, seguida pela digestão das proteínas. As amostras foram então analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) acoplada a um espectrômetro de massa Q-TOF de alta resolução maXis 3G®, permitindo a identificação precisa dos fragmentos proteicos. Os dados brutos foram processados usando o *software MaxQuant* (v. 1.6.3.3) para identificar proteínas. Análise estatística utilizando o teste t de Student foi realizada com base nos valores de intensidade LFQ das proteínas em ambos os grupos experimentais. As proteínas foram consideradas abundantemente diferentes (DAPs) quando *q-Value* < 0,05. As DAPs foram então submetidas à análise de ontologia gênica (GO) e rede de interação proteína-proteína (PPI) usando o *software String* 11.0. A categorização funcional das vias GO foi considerada enriquecida quando *q-Value* < 0,05.

**Resultado e Discussão:** Foram identificadas 10 DAPs ( $q\text{-Value} < 0.05$ ), evidenciando que a suplementação de suínos com BET regulou de forma negativa as seguintes proteínas em relação ao grupo CON: GPI, ALDOA, TPI1, GAPDH, PGK1, ENO3, PKM, PYGM, ALB e CKM. A análise de PPIs (Figura 1), revelou a rede de interação significativa entre as DAPs ( $q\text{-Value} < 0.05$ ), sugerindo que a regulação negativa destas interações proteicas pode desempenhar papel crucial na modulação dos processos biológicos intracelulares em suínos alimentados com BET. De acordo com a análise de GO, as proteínas identificadas estão envolvidas em processos biológicos gerais, principalmente relacionados ao metabolismo energético muscular, destacando-se a glicólise como via canônica ( $q\text{-Value} = 0,002$ ). Os resultados deste estudo sugerem que suínos alimentados com BET apresentam menor utilização de glicose para produção de energia, resultando no acúmulo de glicose disponível no organismo. Este excesso de glicose pode ser armazenado na forma de glicogênio ou direcionado para outras vias metabólicas, como a da pentose fosfato, contribuindo para a geração de NADPH (5). Este cofator é essencial para síntese de ácidos graxos, promovendo, conseqüentemente, aumento na síntese de GIM (6). Esses resultados corroboram com estudos que demonstram que a diminuição destas enzimas glicolíticas podem estar associadas ao acúmulo de gordura intramuscular (5, 6, 7), e também com pesquisas que indicam que a suplementação dietética com betaína aumenta a expressão de genes relacionados à lipogênese no músculo esquelético de suínos (2).

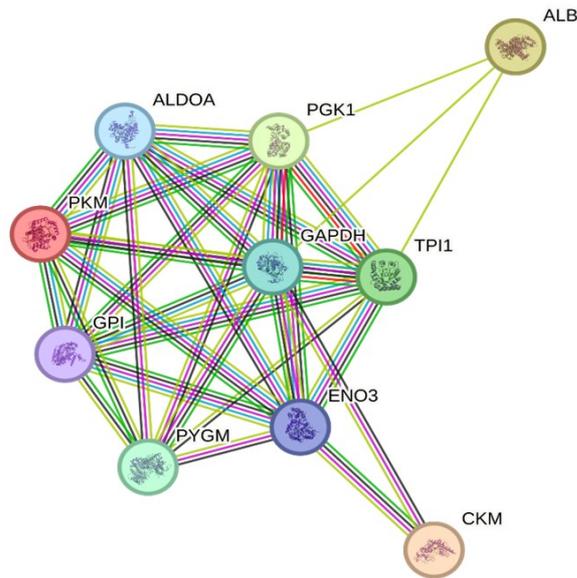


Figura 1. Rede de interação proteína-proteína (PPI) de proteínas diferencialmente abundantes (DAPs) ( $q\text{-Value} < 0,05$ ) no músculo *Longissimus dorsi* entre os grupos CON e BET. Os nós representam as proteínas diferencialmente abundantes e as linhas representam a conexão entre as proteínas. A análise da rede PPI foi feita com o site *Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins* (STRING).

DAPs: Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH), Albumina sérica (ALB), Alfa-1,4 glucano fosforilase (PYGM), Proteína de fusão multifuncional (PKM), Beta-enolase (ENO3), Glicose-6-fosfato isomerase (GPI), Triosefosfato isomerase (TPI1), Fosfoglicerato quinase 1 (PGK1), Frutose-bifosfato aldolase (ALDOA), Creatina quinase tipo M (CKM).

**Conclusão:** A suplementação de suínos em terminação com betaína afeta as proteínas sarcoplasmáticas relacionadas ao metabolismo energético no músculo esquelético, regulando negativamente proteínas associadas à glicólise. Este efeito sugere um mecanismo potencial para o aumento do acúmulo de gordura intramuscular em suínos.

**Referências Bibliográficas:** (1) Huang Q. C.; Han, X. Y.; Xu, Z. R. et al.; Betaine suppresses carnitine palmitoyltransferase I in skeletal muscle but not in liver of finishing pigs. *Livestock Science*, v.126, p.130-135, 2009. (2) Soares, M. H.; Valente Júnior, D. T.; Rodrigues, G. A. et al. Effects of feeding ractopamine hydrochloride with or without supplemental betaine on live performance, carcass and meat quality traits, and gene expression of finishing pigs. *Meat Science*, v.191, p.1-12, 2022. (3) Scopes, R. K. and Stoter, A. Purification of all glycolytic enzymes from one muscle extract. *Methods in Enzymology*, v.90, p.479-490, 1982. (4) Rostagno, H.S.; Albino, L.F.T.; Hannas, M.I.; et al. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 4ª ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, p. 488, 2017. (5) Hamill, R. M.; McBryan, J.; McGee, C. et al. Functional analysis of muscle gene expression profiles associated with tenderness and intramuscular fat content in pork. *Meat Science*, v.92, p.440-450, 2012. (6) Poleti, M. D.; Regitano, L. C. A.; Souza, G. H. M. F. et al. Longissimus dorsi muscle label-free quantitative proteomic reveals biological mechanisms associated with intramuscular fat deposition. *Journal of Proteomics*, v.179, p.30-41, 2018. (7) Ma, C.; Wang, W.; Wang, Y. et al. TMT-labeled quantitative proteomic analyses on the longissimus dorsi to identify the proteins underlying intramuscular fat content in pigs. *Journal of Proteomics*, v.213, p.1-10, 2020.