



ANDREY DE SOUSA MIRANDA

**EFFECTS OF MATERNAL VITAMIN A INJECTION DURING LATE GESTATION
ON MATERNAL PHYSIOLOGY, OFFSPRING PERFORMANCE, AND
RECRUITMENT OF CELLS FOR MYOGENESIS AND ADIPOGENESIS IN
OFFSPRING MUSCLE TISSUE**

LAVRAS-MG
2026

ANDREY DE SOUSA MIRANDA

**EFFECTS OF MATERNAL VITAMIN A INJECTION DURING LATE
GESTATION ON MATERNAL PHYSIOLOGY, OFFSPRING
PERFORMANCE, AND RECRUITMENT OF CELLS FOR
MYOGENESIS AND ADIPOGENESIS IN OFFSPRING MUSCLE
TISSUE**

PhD dissertation presented to the Federal University of Lavras, as part of the Animal Science Graduate Program requirements, in the area of Ruminant Nutrition and Production, to obtain the Ph.D. title in Animal Science.

Prof. Dr. Mateus Pies Gionbelli
Advisor

Dr. José Maria Oliveira
Co-Advisor

LAVRAS-MG
2026

**Ficha Catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração
de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com
dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Miranda, Andrey de Sousa.

Effects of maternal vitamin A injection during late gestation on maternal physiology, offspring performance, and recruitment of cells for myogenesis and adipogenesis in offspring muscle tissue / Andrey de Sousa Miranda. - 2026.
90 p. : il.

Orientador: Mateus Pies Gionbelli

Coorientador: José Maria Oliveira

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2026.

Bibliografia.

1. Fetal programming. 2. Gene expression. 3. Maternal?fetal metabolism. 4. Muscle growth. 5. Retinoic acid. I. Gionbelli, Mateus Pies. II. Oliveira, José Maria. III. Universidade Federal de Lavras. IV. Título.

ANDREY DE SOUSA MIRANDA

EFEITOS DA INJEÇÃO MATERNA DE VITAMINA A DURANTE O FINAL DA GESTAÇÃO NA FISIOLOGIA MATERNA, NO DESEMPENHO DA PROLE E NO RECRUTAMENTO DE CÉLULAS PARA MIOGÊNESE E ADIPOGÊNESE NO TECIDO MUSCULAR DA PROLE

EFFECTS OF MATERNAL VITAMIN A INJECTION DURING LATE GESTATION ON MATERNAL PHYSIOLOGY, OFFSPRING PERFORMANCE, AND RECRUITMENT OF CELLS FOR MYOGENESIS AND ADIPOGENESIS IN OFFSPRING MUSCLE TISSUE

Phdissertation presented to the Federal University of Lavras, as part of the Animal Science Graduate Program requirements, in the area of Ruminant Nutrition and Production, to obtain the Ph.D. tittle in Animal Science.

Aprovado em 8 de junho de 2026

Dr. Mateus Pies Gionbelli, Universidade Federal de Lavras (UFLA)

Dr. Marcio Machado Ladeira, Universidade Federal de Lavras (UFLA)

Dr. Marcio de Souza Duarte, Universidade Federal de Viçosa (UFV)

Dra. Karolina Bastista Nascimento, Universidade Federal de São João Del-Rei (UFSJ)

Dra. Priscilla Dutra Teixeira, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS)

Prof. Dr. Mateus Pies Gionbelli

Advisor

LAVRAS-MG

2026

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia (PPGZ) da UFLA, pela oportunidade de realização do Doutorado e todo aprendizado adquirido pelo corpo docente.

Ao meu orientador, Mateus Gionbelli, sou eternamente grato por todo o ensinamento e aprendizado adquiridos ao longo desses anos, e por toda a ajuda na execução desse trabalho.

À Tathyane Gionbelli, por toda a ajuda e paciência no laboratório de biologia molecular e por todo o ensinamento e oportunidade ao longo desses anos.

À minha grande amiga Diana Carolina, por ter sido meu grande ponto de apoio durante a maior parte do doutorado. Os momentos vividos com você sempre foram mais leves!

Ao Felipe Maciel, por todo o companheirismo de vivência no “cafofo” e pela ajuda nos momentos em que mais precisei. Pode contar comigo sempre que precisar!

Ao José Maria, por todo o suporte e ajuda na discussão do retinol, por todo o ensinamento me repassado nas análises estatísticas e na expressão gênica.

Ao meu namorado João Vitor, por todo companheirismo e momentos vividos, por ser suporte e ouvido nos momentos em que mais preciso.

Aos meus pais Maira Neuza e Jurandir Miranda, por todo amor e carinho comigo, por sempre me apoiarem nas mais diversas situações, por sempre serem meu porto seguro. À minha irmã, Andreza Miranda, por toda força e união. Que mesmo nas situações mais adversas, ela me ensina todos os dias que desistir não é uma opção!

Ao NEPEC por todo o suporte, aprendizado, vivência, amizade e momentos, sem dúvida não teria conseguido sem ajuda de muitos. Em especial, ao meu parceiro de experimento e amigo Antônio Mucida, sem sua contribuição, não teria chegado até o fim!

Aos amigos de Lavras que muitas vezes se misturaram com trabalho, obrigado por todos os momentos vividos e de descontração.

Aos meus amigos de Belém/PA, que mesmo sem saber, estar de volta com vocês é renovar as forças e energia, obrigado por todos os momentos vividos amigos!

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

MUITO OBRIGADO!!!

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da injeção materna de vitamina A no final da gestação sobre as adaptações placentárias, o desempenho da lactação e o desenvolvimento da musculatura esquelética da prole em bovinos da raça Tabapuã. O experimento foi conduzido ao longo de dois anos, utilizando 41 vacas gestantes da raça *Bos indicus* (Tabapuã). Aos 245 dias de gestação, as vacas foram agrupadas por paridade e alocadas em um dos dois tratamentos: controle sem injeção de vitamina A (CON, $n = 21$) ou com injeção de vitamina A (VA, $n = 20$). As vacas do grupo VA receberam injeções intramusculares de vitamina A (2.700.000 UI) aos 245, 260 e 275 dias de gestação. Os dados foram analisados utilizando o procedimento MIXED do SAS em um delineamento de blocos casualizados completos com arranjo fatorial 2×2 (tratamento $\times$ sexo da prole). A injeção materna de vitamina A tendeu a reduzir a duração da gestação em vacas com fetos femininos ($P = 0.07$) e diminuiu o peso corporal materno aos 275 dias de gestação ($P = 0.09$). Além disso, vacas tratadas com vitamina A e com fetos masculinos apresentaram maiores concentrações plasmáticas de retinol aos 275 dias de gestação ($P < 0,10$). Os fetos masculinos apresentaram maior ganho de peso gestacional (0,702 vs. 0,610 kg/dia) e maior peso placentário em comparação com as fêmeas. Vacas tratadas com vitamina A e com fetos femininos apresentaram densidade vascular aproximadamente 11,5% maior e área capilar 20% maior do que vacas do grupo controle (CON) com fetos femininos, juntamente com maior expressão de *STRA6* ($P = 0.04$). Observou-se interação significativa entre vitamina A e sexo para o peso ao nascer ($P = 0.05$), em que bezerros fêmeas nascidos de vacas tratadas com vitamina A apresentaram menor peso ao nascer. Durante a lactação, a injeção de vitamina A aumentou a produção de leite e as concentrações de gordura e proteína no leite, com a maior produção de leite observada em vacas amamentando bezerros machos ($P = 0,02$). No desmame, os bezerros machos apresentaram maior peso corporal ($P = 0.01$) e ganho médio diário ($P = 0.05$) em comparação com as fêmeas. Os bezerros nascidos de vacas tratadas com vitamina A apresentaram maior índice de musculatura ($P = 0.01$) e tenderam a apresentar maior comprimento do músculo longissimus ($P = 0.06$). No músculo esquelético da prole, a injeção materna de vitamina A aumentou a expressão de genes associados à adipogênese (*ZNF423* e *PPARG*) e à miogênese ao nascimento (*PAX7*), caracterizada pelo aumento dos índices adipogênicos e miogênicos e menor abundância de miostatina. A prole masculina apresentou maior ativação da sinalização do ácido retinoico (*ALDH1A2*) e das vias miogênicas (*MYOG*). Ao desmame, a prole de vacas tratadas com vitamina A manteve um maior equilíbrio entre adipogênese e miogênese ($P = 0.07$) e apresentou maior expressão de Nfix ($P = 0,10$), um fator de transcrição associado à formação de fibras musculares. Em resumo, a injeção materna de vitamina A durante o final da gestação modulou a vascularização placentária, melhorou a produção e a composição do leite e estimulou a programação adipogênica e miogênica do músculo esquelético da prole de maneira dependente do sexo, indicando que a administração pré-natal de vitamina A pode aprimorar características de desenvolvimento e relacionadas à carcaça em bovinos de corte.

Palavras-chave: ácido retinóico; crescimento muscular; expressão gênica; programação fetal; metabolismo materno-fetal.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effects of maternal vitamin A injection during late gestation on placental adaptations, lactation performance, and offspring skeletal muscle development in Tabapuã beef cattle. The experiment was conducted over two years using 41 pregnant *Bos indicus* (Tabapuã) cows. At 245 days of gestation, cows were blocked by parity and assigned to one of two treatments: control without vitamin A injection (CON, $n = 21$) or vitamin A injection (VA, $n = 20$). Cows in the VA group received intramuscular injections of vitamin A (2,700,000 IU) at 245, 260, and 275 days of gestation. Data were analyzed using the MIXED procedure of SAS in a randomized complete block design with a 2×2 factorial arrangement (treatment $\times$ offspring sex). Maternal vitamin A injection tended to reduce gestation length in cows carrying female fetuses ($P = 0.07$) and decreased maternal body weight at 275 days of gestation ($P = 0.09$). Additionally, VA-treated cows carrying male fetuses exhibited greater plasma retinol concentrations at 275 days of gestation ($P < 0.10$). Male fetuses exhibited greater gestational gain (0.702 vs. 0.610 kg/day) and placental weight compared with females. VA-treated cows carrying female fetuses exhibited approximately 11.5% greater vascular area density and 20% greater capillary area than CON cows carrying female fetuses, along with greater *STRA6* expression ($P = 0.04$). A significant VA $\times$ Sex interaction was observed for birth weight ($P = 0.05$), in which female calves born from vitamin A-treated cows had lower birth weight. During lactation, vitamin A injection increased milk yield and milk fat and protein concentrations, with the greatest milk production observed in cows nursing male calves ($P = 0.02$). At weaning, male calves exhibited greater body weight ($P = 0.01$) and average daily gain ($P = 0.05$) compared with females. Calves born from VA-treated cows exhibited greater muscling index ($P = 0.01$) and tended to present greater longissimus muscle length ($P = 0.06$). In offspring skeletal muscle, maternal vitamin A injection upregulated genes associated with adipogenesis (*ZNF423* and *PPARG*) and myogenesis at birth (*PAX7*), characterized by increased adipogenic and myogenic indices and lower myostatin abundance. Male offspring exhibited greater activation of retinoic acid signaling (*ALDH1A2*) and myogenic pathways (*MYOG*). At weaning, offspring from vitamin A-treated cows maintained a greater adipogenesis:myogenesis balance ($P = 0.07$) and increased *Nfix* expression ($P = 0.10$), a transcription factor associated with muscle fiber formation. In summary, maternal vitamin A injection during late gestation modulated placental vascularization, improved milk production and composition, and stimulated adipogenic and myogenic programming of offspring skeletal muscle in a sex-dependent manner, indicating that prenatal vitamin A administration may enhance developmental and carcass-related traits in beef cattle.

Keywords: fetal programming; gene expression; maternal–fetal metabolism; muscle growth; retinoic acid.

INDICADORES DE IMPACTO

Este trabalho apresenta impactos potenciais nas dimensões social, tecnológica, econômica e cultural, com aplicação direta na cadeia produtiva da bovinocultura de corte brasileira, especialmente em sistemas de cria que utilizam matrizes Bos indicus. O estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da suplementação materna de vitamina A durante a gestação sobre adaptações placentárias, desempenho lactacional e desenvolvimento muscular da progênie. Os resultados demonstraram que a administração de vitamina A em vacas gestantes promoveu alterações em mecanismos biológicos relacionados ao desenvolvimento fetal e muscular, evidenciadas por mudanças na expressão de genes associados à miogênese, metabolismo celular e sinalização anabólica, além de influenciar indicadores fisiológicos maternos e neonatais. Do ponto de vista tecnológico, os achados geram conhecimento aplicável ao desenvolvimento de estratégias nutricionais de programação fetal, contribuindo para o aprimoramento de protocolos de suplementação de matrizes e para a adoção de práticas mais precisas de manejo nutricional durante a gestação. Sob a perspectiva econômica, os resultados indicam potencial para melhorar a eficiência produtiva dos rebanhos por meio da otimização do desenvolvimento muscular da progênie, o que pode refletir futuramente em maior desempenho animal, melhor aproveitamento dos recursos produtivos e aumento da competitividade da pecuária de corte nacional. Os impactos sociais abrangem produtores rurais, técnicos, estudantes e profissionais do setor agropecuário, uma vez que os conhecimentos gerados podem subsidiar ações de transferência de tecnologia, capacitação e assistência técnica voltadas à melhoria dos sistemas de produção. Adicionalmente, o estudo contribui para a formação de recursos humanos qualificados e para o fortalecimento da interação entre universidade, setor produtivo e sociedade. No âmbito cultural, promove a valorização da ciência, da inovação e da adoção de tecnologias baseadas em evidências científicas no meio rural, favorecendo a modernização sustentável da atividade pecuária. O território de impacto potencial compreende as regiões produtoras de bovinos de corte em todo o Brasil, especialmente aquelas com predominância de sistemas de cria e recria utilizando raças zebuínas. O trabalho está alinhado à área temática Tecnologia e Produção da Política Nacional de Extensão e contribui para os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) 2 – Fome Zero e Agricultura Sustentável, ODS 8 – Trabalho Decente e Crescimento Econômico, ODS 12 – Consumo e Produção Responsáveis e ODS 15 – Vida Terrestre, ao fomentar o desenvolvimento de estratégias nutricionais capazes de aumentar a eficiência produtiva e a sustentabilidade da bovinocultura de corte.

IMPACTS INDICATORS

This study presents potential social, technological, economic, and cultural impacts, with direct applicability to the Brazilian beef cattle production chain, particularly in cow–calf systems that utilize *Bos indicus* dams. The objective of the study was to evaluate the effects of maternal vitamin A supplementation during gestation on placental adaptations, lactational performance, and skeletal muscle development of Tabapuã offspring. The results demonstrated that vitamin A administration to pregnant cows promoted changes in biological mechanisms associated with fetal and muscle development, as evidenced by alterations in the expression of genes related to myogenesis, cellular metabolism, and anabolic signaling pathways, in addition to influencing maternal and neonatal physiological indicators. From a technological perspective, the findings generate knowledge that can be applied to the development of fetal programming strategies, contributing to the improvement of maternal supplementation protocols and the adoption of more precise nutritional management practices during gestation. From an economic standpoint, the results indicate the potential to enhance herd productivity through optimization of offspring muscle development, which may ultimately lead to improved animal performance, more efficient use of production resources, and increased competitiveness of the Brazilian beef industry. The social impacts extend to cattle producers, extension specialists, students, and professionals in the livestock sector, as the knowledge generated may support technology transfer initiatives, training programs, and technical assistance efforts aimed at improving production systems. Furthermore, the study contributes to the training of highly qualified human resources and strengthens the interaction among universities, the productive sector, and society. From a cultural perspective, it promotes the value of science, innovation, and the adoption of evidence-based technologies in rural communities, fostering the sustainable modernization of livestock production. The potential impact territory encompasses beef-producing regions throughout Brazil, particularly those where cow–calf and stocker operations based on zebu cattle predominate. This work is aligned with the National Extension Policy thematic area of Technology and Production and contributes to the United Nations Sustainable Development Goals (SDGs) 2 (Zero Hunger and Sustainable Agriculture), 8 (Decent Work and Economic Growth), 12 (Responsible Consumption and Production), and 15 (Life on Land) by supporting the development of nutritional strategies capable of improving productivity and sustainability in beef cattle production systems.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fatores de transcrição que regulam a adipogênese. Elaborado pelo autor, adaptado de Bonnet et al. (2010); Du et al. (2010); Du et al. (2013); Ramírez-Zamudio et al. (2022).....	18
Figura 2. Papel potencial do ácido retinóico na hiperplasia e hipertrofia de adipócitos em diferentes estágios de desenvolvimento de bovinos de corte (Hossain e Du et al. 2026).	21
Figura 3. Diagrama esquemático de bovinos envolvendo vias metabólicas glicolíticas, síntese de ácidos graxos e triglicerídeos, e oxidação de ácidos graxos.	26
Figura 4. Metabolismo da vitamina A. Elaborado pelo autor: adaptado de (Blomhoff et al. 1994; Cañete et al. 2017; Carazo et al. 2021).....	29
Figura 5. Via metabólica do ácido retinóico (Kumar et al. 2012).	32
Figura 6. Transferência materno-fetal da vitamina A. Elaborado pelo autor: adaptado de (Quadro et al. 2020a; Quadro et al. 2020b)	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Genes associados ao desenvolvimento de gordura intramuscular em bovinos.....	22
Tabela 2. Estudos (n = 04) relatando efeitos positivos (+) ou negativos (–), ou nenhuma diferença (ND; $P > 0.05$) no peso corporal ao nascer (PC), peso ao desmame, características da carcaça e marmoreio em bovinos corte suplementados com vitamina A na gestação ou fase neonatal.....	41

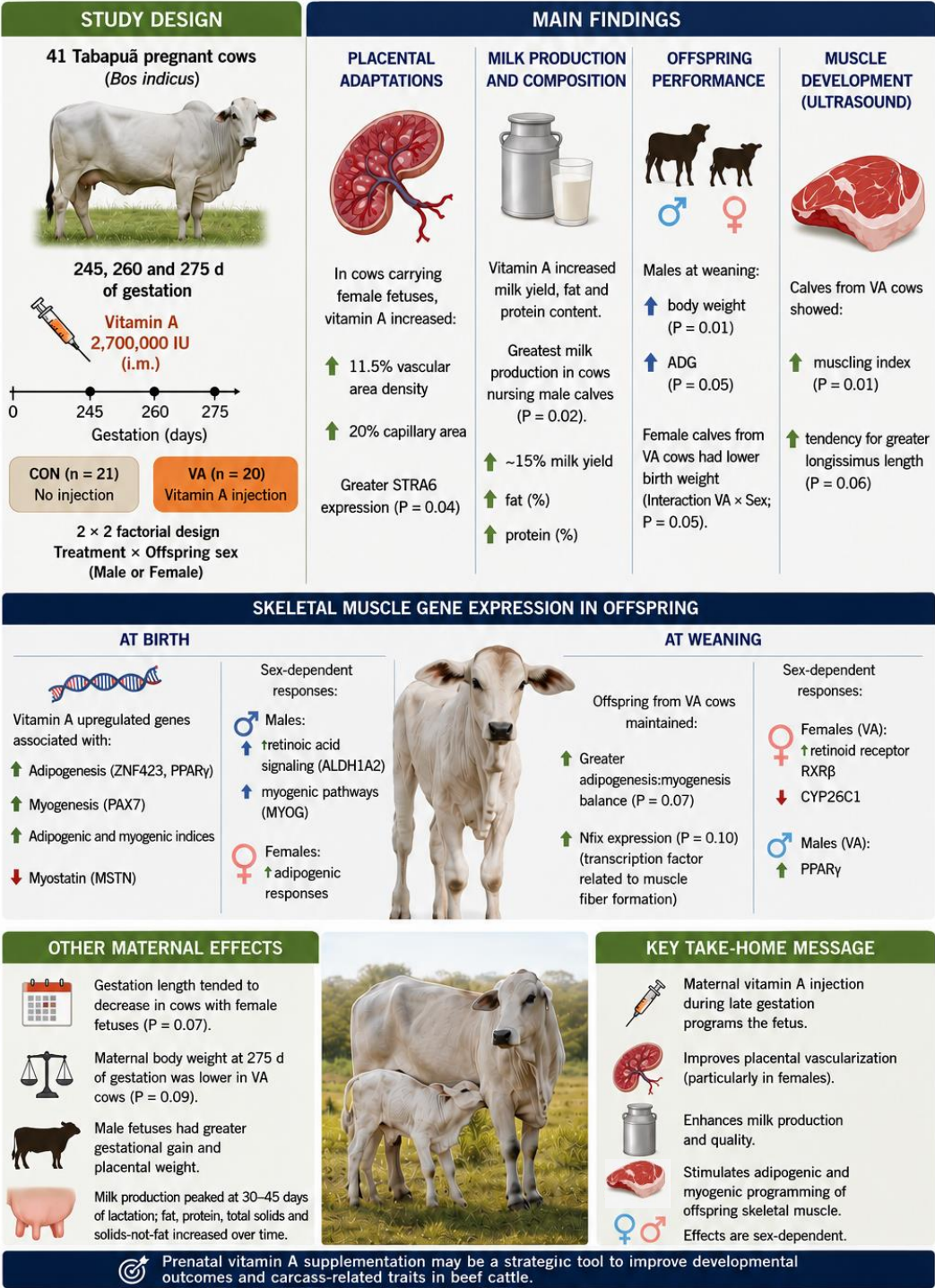
LISTA DE SIGLAS

- GLUT** – Glucose transporter (Transportador de glicose)
- CD36** – Fatty acid translocase (Translocase de ácidos graxos)
- FABP1 e FABP4** – Fatty acid-binding protein 1 and 4 (Proteína ligante de ácidos graxos 1 e 4)
- FFAR** – Free fatty acid receptor (Receptor de ácidos graxos livres)
- CPT1 e CPT2** – Carnitine palmitoyltransferase 1 e 2 (Carnitina palmitoiltransferase 1 e 2)
- CATC** – Carnitine acylcarnitine translocase (Translocase de acilcarnitina e carnitina)
- G3P** – Glyceraldehyde-3-Phosphate (Gliceraldeído-3-Fosfato)
- AKG** – α -Ketoglutarate (α -Cetoglutarato)
- G3PDH** – Glycerol-3-phosphate dehydrogenase (Glicerol-3-fosfato desidrogenase)
- ACSL** – Acyl-CoA synthetase (Acil-CoA sintetase)
- ACL** – ATP-citrate lyase (ATP-citrato liase)
- ACACA** – Acetyl-CoA carboxylase (Acetil-CoA carboxilase)
- FASN** – Fatty acid synthase (Ácido graxo sintase)
- SCD1** – Stearoyl-CoA desaturase (Estearoil-CoA dessaturase)
- FADS2** – Fatty acid desaturase 2 (Dessaturase de ácido graxo 2)
- MGAT** – Monoglyceride acyltransferase (Monoacilglicerol aciltransferase)
- DGAT1** – Diacylglycerol O-acyltransferase (Diacilglicerol O-aciltransferase)
- ATGL** – Adipose triglyceride lipase (Lipase de triglicerídeo do tecido adiposo)
- PPAR γ** – Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma (Receptor ativado por proliferadores de peroxissomos gama)
- C/EBP α** – CCAAT/Enhancer Binding Protein Alpha
- Zfp423** – Zinc finger protein 423 (Proteína dedo de zinco 423)
- DLK1** – Delta like non-canonical Notch ligand 1 (Ligante Notch delta-like não canônico 1)
- RBP4** – Retinol-binding protein 4 (Proteína ligante de retinol 4)
- FOXO1** – Forkhead box O1 (Fator de transcrição da família Forkhead)
- KLF** – Krüppel-like factors (Fatores do tipo Krüppel)
- VEGF α** – Vascular Endothelial Growth Factor alpha (Fator de crescimento endotelial vascular)
- VEGFR1** – Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 1
- VEGFR2** – Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2
- PDGFRA** – Platelet-derived growth factor receptor A (Receptor de fator de crescimento derivado de plaquetas A)

Inform Graphic

Created by Andrey de Sousa Miranda and supervised by Mateus Pies Gionbelli*

EFFECT OF VITAMIN A INJECTION IN PREGNANT BEEF COWS ON MATERNAL PHYSIOLOGY AND RECRUITMENT OF CELLS FOR ADIPOGENESIS IN OFFSPRING MUSCLE TISSUE



*Generative AI tools were used to assist in the graphical design of the infographic based on the authors' instructions. The authors reviewed and edited the final material and take full responsibility for the content.

SUMÁRIO

CHAPTER 1	13
1. INTRODUÇÃO.....	13
2. DESENVOLVIMENTO DO MÚSCULO ESQUELÉTICO	14
2.1. Miogênese.....	15
2.2. Adipogênese e fibrogênese.....	16
3. VITAMINA A NA REGULAÇÃO DA ADIPOGÊNESE INTRAMUSCULAR...	20
4. LIPOGÊNESE, METABOLISMO LIPÍDICO E MARMOREIO	24
5. METABOLISMO DA VITAMINA A EM BOVINOS DE CORTE.....	27
5.1 Rotas metabólicas	31
5.2 Transferência materno-fetal do retinol	35
6 UTILIZAÇÃO DA VITAMINA A	40
6.1 Administração de vitamina A no final da gestação	40
6.2 Vitamina A sobre a produção e qualidade do leite.....	42
CHAPTER 2	52
1. Introduction	54
2. Material and methods	55
3. Results	62
4. Discussion.....	65
5. Conclusion.....	71
6. References	71

CHAPTER 1

1. INTRODUÇÃO

A gordura intramuscular, ou marmoreio, é o principal contribuinte para atributos de qualidade como maciez e suculência da carne. O acúmulo de adipócitos intramusculares é influenciado tanto por hiperplasia quanto hipertrofia, onde o maior recrutamento de células para linhagem adipogênica ocorre principalmente durante a fase fetal e neonatal, em que uma melhor nutrição materna resulta em maior hiperplasia de adipócitos, resultando em maior formação de adipócitos intramusculares, aumentando o marmoreio (Costa et al., 2021; Du et al., 2010a). Dessa forma, intervenções nutricionais durante o final da gestação com dieta enriquecida com vitamina A (Dean et al., 2024) e injeção no estágio neonatal (Harris et al., 2018; Maciel et al., 2022a) podem influenciar a adipogênese intramuscular e desenvolvimento da prole.

O uso estratégico da vitamina A surge como uma ferramenta promissora para modular o desenvolvimento muscular e a deposição de gordura em bovinos de corte. Nesse sentido, a vitamina A, por meio de seu metabólito ativo, ácido retinóico, tem potencial de promover a formação de novas células de gordura através da ligação a receptores específicos como os receptores de ácido retinóico ($RAR\alpha$, $RAR\beta$ e $RAR\gamma$) e receptores de retinoide X ($RXR\alpha$, $RXR\beta$ e $RXR\gamma$). A ligação do ácido retinóico com os receptores celulares, se ligam aos elementos de resposta ao ácido retinóico que iniciam uma cascata de efeitos moleculares em genes alvos. A interação do complexo de ligação promove a expressão de vários genes responsivos ao ácido retinóico, incluindo a adipogênese (Costa et al., 2021; Du et al., 2010a). Foi evidenciado que o ácido retinóico promove o comprometimento adipogênico e expressão de fatores de transcrição como *Zfp423* e *PPAR γ* , bem como marcadores de adipogênese/pré-adipogênese como *Fabp4/Pref-1* (Reichert et al., 2011). Além disso, a administração neonatal em bezerros Angus resultou em maior teor de gordura intramuscular dos novilhos, variando de 4,0% para 4,9%, e o escore de marmoreio. Esses achados sugeriram que a administração de vitamina A ao nascimento é uma estratégia prática para aumentar o marmoreio e promover o crescimento precoce em bovinos de corte, melhorando assim a palatabilidade da carne (Harris et al., 2018)

Em uma outra perspectiva, para atender a necessidade de retinóides o embrião em desenvolvimento depende da vitamina A circulante que chega através da barreira materno-fetal, visto que não há síntese de novo de vitamina A. A principal forma de transporte na corrente sanguínea é o ácido retinóico ligado a RBP (retinol-binding protein), quando a maior parte do retinol é secretada na circulação a partir de estoques no fígado. É pouco compreendido, em

nível celular, o mecanismo pelo qual o ácido retinóico é transferido para o feto. Nesse sentido, a injeção de vitamina A em vacas zebuínas e o estudo da transferência materno-fetal de retinoides, metabolismo desses compostos nos organismos e recrutamento de células para linhagem adipogênica precisam ser evidenciados em nível molecular para compreender a dinâmica da biologia de sistema da molécula de vitamina A. Assim, mais estudos ainda precisam ser conduzidos em vacas gestantes para explicar a principal via de transmissão da molécula de vitamina A para o feto, se via placentária ou colostro.

Portanto, hipotetiza-se que a suplementação com altas doses de vitamina A durante o final da gestação aumenta as concentrações circulantes de retinol materno, melhorando a transferência placentária de retinol para o feto e, conseqüentemente, o desempenho do desenvolvimento da prole. Além disso, essa estratégia pode estimular a proliferação e a diferenciação de células precursoras miogênicas e células progenitoras adipogênicas intramusculares durante o desenvolvimento muscular pré-natal, potencialmente favorecendo o crescimento da musculatura esquelética e a formação de adipócitos intramusculares na prole. Com base nisso, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da injeção de vitamina A em vacas Tabapuã gestantes sobre o desempenho, o metabolismo materno, a lactação e a expressão gênica durante a fase de cria e recria.

REVISÃO DE LITERATURA

2. DESENVOLVIMENTO DO MÚSCULO ESQUELÉTICO

Durante o estágio intrauterino, as modificações no desenvolvimento fetal ocorrem por meio de processos pelos quais são formadas as fibras musculares (miogênese), tecido adiposo (adipogênese) e tecido conjuntivo (fibrogênese). Dessa forma, por compartilharem a mesma população de células progenitoras mesenquimais, pode ocorrer competitividade entre os tipos celulares durante o desenvolvimento (Costa et al., 2021). A manipulação da nutrição materna durante a gestação afeta o principal fator de transcrição para a diferenciação de células mesenquimais por meio da via de sinalização *Wingless and Int (WNT) / β -catenina*. A ativação da via *WNT/ β -catenina* aumenta o comprometimento e a proliferação de células progenitoras miogênicas no início e meio da gestação, por outro lado, a inibição dessa via pode favorecer a adipogênese (Winter et al. 2021). Em contrapartida, a partir da segunda metade da gestação, após a miogênese secundária, a sinalização de *WNT* pode ser inibida para estimular a diferenciação adipogênica de células progenitoras fibro-adipogênicas (DU et al., 2010).

Após a concepção, no início do estágio embrionário uma fração de células-tronco mesenquimais se diferenciam em células progenitoras que podem dar origem a células musculares, sendo muito abundantes no músculo esquelético durante os estágios fetal e neonatal, contudo diminuem conforme os animais envelhecem (Du et al., 2010a). Células progenitoras miogênicas derivadas de uma estrutura embrionária transitória (dermomiótomo) originam mioblastos mononucleados, que por sua vez formam o miótomo primário, caracterizando assim a formação do músculo inicial. A partir desse tecido primitivo, a formação do tecido muscular se repercute em etapas sucessivas, distintas, sempre sobrepostas, envolvendo diferentes tipos de mioblastos que resultam na formação de mioblastos embrionários, fetais e células satélites (Bonnet et al., 2010).

2.1. Miogênese

Na miogênese primária durante o estágio inicial, os mioblastos embrionários se fundem dando origem aos miotubos primários, que por sua vez, originam as miofibras primárias. Após formadas as miofibras primárias, ocorre a indução de uma segunda e nova onda proliferativa, dos mioblastos fetais, eventualmente relacionada a secreção de fatores mitógenos (FGF, fator de crescimento de fibroblastos) (Bonnet et al., 2010), utilizando as fibras primárias como molde para formação de fibras musculares secundárias (GREENWOOD et al., 2000). Com isso originam-se as miofibras secundárias, as quais representam maior proporção de fibras em animais adultos (GREENWOOD et al., 2000). Além do mais, o processo de diferenciação de mioblastos fetais em miofibras secundárias pode estar associado aos baixos níveis de TGF- β e BMP (BIRESSI et al., 2007). Por fim, os mioblastos que não seguem a via de diferenciação, permanecem quiescentes, sendo inibidos à diferenciação por ação de fatores de crescimento (TGF- β , fator de crescimento transformador β e, BMP, proteína morfogenética óssea) (DU et al. 2010 a; CUSELLA-DE ANGELIS et al., 1994).

No desenvolvimento fetal, a massa muscular é determinada pelo número de células (hiperplasia) e tamanho (hipertrofia) das fibras musculares (DU et al., 2010). A hiperplasia é estabelecida quase que exclusivamente no período pré-natal, onde o número de células é determinado ao final da segunda onda miogênica. Ademais, a hipertrofia muscular se inicia no período pré-natal e se estende até o fim da puberdade (COSTA et al., 2021). Durante o percurso da miogênese, as células satélites adjacentes aos mioblastos encontram-se em um estado inativo (quiescência), a qual permanecem indiferenciadas pela ação do Platelet Derived Growth Factor (PDGF) (BIRESSI; MOLINARO; COSSU, 2007). No músculo pós-natal, as células satélites

tornam-se biologicamente ativas e migram da região basal para o exterior, onde progridem na proliferação, diferenciação e comprometem parte de sua população na linhagem miogênica. Após a diferenciação, a fusão de células satélites com as fibras musculares contribui para síntese de proteína miofibrilares e hipertrofia da massa muscular (KUANG et al., 2007).

O desenvolvimento do músculo esquelético é coordenado por vias de sinalização Wingles and Int (WNT) e Sonic hedgehog (SHH), que induzem a expressão de um conjunto de fatores reguladores miogênicos (MRFs) e fatores de transcrição que incluem, Pax3 e Pax7, que desempenham um papel central na coordenação da regulação dos MRFs (MANNEKEN et al. 2022). Após a formação do mesoderma, a especificação das células-tronco mesenquimais é regulada pela sinalização do WNT, que atua na ativação de genes alvos miogênicos como MyoD, Myf5 e Mrf4 através da via Pax3 e Pax7 (DAUBAS, et al. 2013). Posteriormente a especificação, células progenitoras miogênicas que ainda não são células musculares, mas estão compreendidas com essa linhagem, são reguladas por fatores de transcrição miogênicos que incluem MyoD e Myf5. Células progenitoras quando reguladas positivamente para Myf5 são altamente específicas para o comprometimento de células mioblásticas esqueléticas, originando assim os mioblastos (Ladeira et al., 2016a). No entanto, quando negativas para este MRF podem originar outros tipos células como os pré-adipócitos, fibroblastos e fibro-adipogênicos (Ladeira et al., 2016b). Após a proliferação, os mioblastos sofrem alterações necessárias para formar uma célula muscular madura, regulada por MRFs secundários como a miogenina e MRF4. Sendo a Miogenina responsável pela diferenciação inicial com formação de miotubos e MRF4 crucial para a maturação dos miotubos (Bonnet et al., 2010).

2.2. Adipogênese e fibrogênese

Os adipócitos e os fibroblastos compartilham um pool comum de células progenitoras, denominados células progenitoras fibro-adipogênicos (FAPs), devido a sua dupla capacidade de se diferenciar (Du et al., 2015). Em ruminantes a adipogênese se inicia próximo a metade da gestação, simultaneamente a miogênese secundária (DU *et al.*, 2010). Em oposição a miogênese, a adipogênese se intensifica no terço final da gestação e seu potencial de hiperplasia não se limita ao estágio pré-natal, porém este potencial do tecido adiposo diminui ao longo do desenvolvimento pós-natal do animal (DU *et al.*, 2013). Assim, a formação desses tecidos compete a partir de uma população de células comuns para formação de tecidos que dependem da interação de fatores de transcrição específicos (como PPAR γ e TGF- β), estímulos do microambiente (como fatores adipogênicos, rigidez do tecido e fatores inflamatórios), contexto

fisiológico e influências epigenéticas (metilação do DNA e modificações em histonas) (Du et al., 2013).

A nutrição materna pode afetar os mecanismos celulares que medeiam a adipogênese de maneira epigenética, que incluem a regulação negativa da via sinalização *WNT* (*Wingless and Int*) dependente de β - (BAGCHI *et al.*, 2020), e reguladores mediada pela *BMP* (*Bone Morphogenesis Protein*), *PDGFR α* (platelet-derived growth factor receptor alpha), *ZFP423* (*zinc finger proteins 423*). Enquanto, fatores como co-repressores como RUNX1T1 suprimem o comprometimento dos adipócitos. Em estudos, Huang et al. (2014) identificaram que progenitores mioendoteliais inibem a adipogênese intramuscular por meio da sinalização BMP (**Bmpr1a**). O desenvolvimento do tecido adiposo fetal se inicia com a formação dos capilares sanguíneos entre os espaços mesenquimais (Hausman e Dodson, 2013). Com início de sua formação, a adipogênese pode então ser dividida em dois estágios: comprometimento (ou determinação) e diferenciação (Queiroz et al., 2009). No primeiro estágio, quando as células pluripotentes perdem a habilidade de se diferenciar em outras linhagens mesenquimais, a capacidade proliferativa em forma pré-adipócitos é regulada pela expressão *proteína dedo de zinco 423* (*Zfp423*) (Gupta et al., 2010). A expressão do gene *Zfp423* atua na indução do *PPAR γ* (*receptor gama ativado por proliferadores de peroxissomas*) e (*C/EBP α*), promovendo assim a diferenciação de células vasculares estromais em adipócitos. Em estudos, a superexpressão do *Zfp423* em células vasculares estromais compromete a linhagem adipocitária de células FAPs em pré-adipócitos, além da capacidade de inibir parcialmente o *transforming growth factor* (*TGF- β*), sendo este responsável pela fibrogênese (Huang et al., 2012). Este processo é crucial para a deposição de gordura intramuscular, que influencia diretamente a qualidade da carne em bovinos de corte (Huang et al., 2012). Além do mais, a maior expressão do *TGF- β* pode afetar a adipogênese através da inibição dos principais fatores de regulação (*PPAR γ* e *C/EBP- α*), regulando assim genes associados à síntese de colágeno e matriz celular, promovendo a diferenciação em fibroblastos (Lopes et al., 2020). **(Figura 1).**

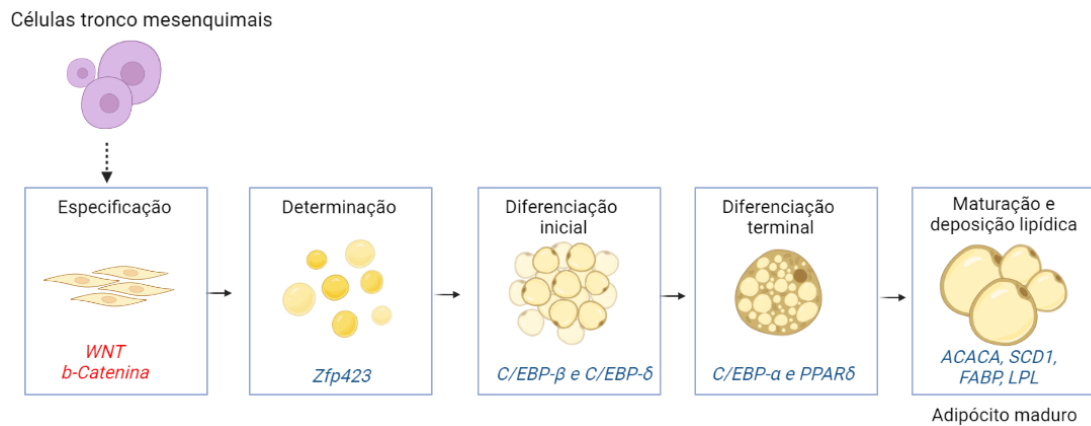


Figura 1. Fatores de transcrição que regulam a adipogênese. Elaborado pelo autor, adaptado de Bonnet et al. (2010); Du et al. (2010); Du et al. (2013); Ramírez-Zamudio et al. (2022).

Quando formados, os pré-adipócitos sofrem um processo de amadurecimento que compreende a fase de diferenciação, caracterizado pelo enchimento lipídico e mudanças morfológicas em uma forma esférica. A fase de diferenciação dos adipócitos é controlada pelos fatores de regulação transcricional *PPARγ* e a família de proteínas ligantes ao amplificador CCAAT (CCAAT/enhancer binding proteins, C/EBPs). Nesse estágio, os primeiros fatores de transcrição *C/EBP-β* e *C/EBP-δ* por meio de estímulos adipogênicos, ativam a expressão *C/EBP-α* e *PPARγ*. O gene *C/EBPα* é induzido durante a fase inicial da adipogênese e posteriormente se liga diretamente ao promotor *PPARγ* para induzir sua expressão. A regulação positiva do *PPARγ* promove ainda mais a expressão do *C/EBPα*, fornecendo um *loop* regulatório autorreforçador (Du et al., 2010b). O controle negativo de *PPARγ*, ocorre devido a capacidade da *WNT* inativar o complexo glicogênio sintase quinase-3β (*GSK-3β*), a qual é responsável por ativar o *PPARγ* (DU et al., 2009).

O *PPARγ* sozinho, mas não *C/EBPα* podem estimular a diferenciação de pré-adipócitos. Ademais, o adipocyte determination- and differentiation-dependent factor 1 (ADD1)/sterol regulatory element-binding protein 1c (SREBP1c) é outra proteína importante induzida durante os estágios iniciais da adipogênese que está envolvida no metabolismo do colesterol e na expressão de genes específica dos adipócitos (Seo et al., 2004). A expressão dessa proteína pode aumentar a atividade do *PPARγ* por meio da ligação aos elementos respostas dos promotores *PPARγ1* e *PPARγ2*. A ativação do *PPARγ* possibilita a diferenciação terminal dos adipócitos por meio da indução de uma série de genes importantes para captação e armazenamento de triglicerídeos como a proteína de ligação a ácidos graxos (aP2), acil-CoA sintetase, proteína de

transporte de ácidos graxos, lipoproteína lipase e outros (Rosen e MacDougald, 2006), resultando na conversão de pré-adipócitos em adipócitos maduros. Essa ativação inclui enzimas e proteínas relacionadas ao fenótipo do adipócito, envolvidas no transporte de glicose, lipogênese, lipólise, síntese e secreção de adipocinas (Queiroz *et al.*, 2009). A hipertrofia dos adipócitos ocorre exclusivamente no período pós-natal, posteriormente a formação das células adipócitas por hiperplasia (DU *et al.*, 2017). À medida que os pré-adipócitos se diferenciam em adipócitos maduros, algumas proteínas reguladoras da lipogênese são expressas de forma elevada na diferenciação tardia da adipogênese, como *FABP4*, adiponectina, leptina e entre outras.

Em relação a interação de fatores específicos, o complexo de sinalização *WNT* dependente de β -catenina tem efeitos regulatórios diferenciais na miogênese e adipogênese (BAGCHI *et al.*, 2020). A sinalização negativa da via *WNT*/ β -catenina favorece a diferenciação de células mesenquimais em pré-adipócitos, em virtude à inibição de *PPAR γ* e *C/EBP- α* (Christodoulides *et al.*, 2009). Além do mais, a sinalização *SHH* favorece o comprometimento de células mesenquimais à linhagem miogênica e inibi a adipogênese por meio da indução de *GATA2* e *COUP-TFII* que se ligam aos promotores de *PPAR γ* e *C/EBP- α* regulando negativamente sua expressão, respectivamente (Du *et al.*, 2010a). O comprometimento adipogênico inicial se sobrepõe ao período da miogênese secundária, que se inicia por volta do final do primeiro trimestre. A hiperplasia dos adipócitos ocorre durante o final da gestação até o momento do desmame. Dessa forma, o manejo nutricional materno durante esse período de desenvolvimento afeta o número de adipócitos, bem como densidade intramuscular dos adipócitos e gordura intramuscular (Du *et al.*, 2013).

Concomitante ao processo de adipogênese, a fibrogênese ocorre de maneira simultânea. Uma grande parte das células fibro-adipogênicas se associa a vasos capilares, sendo responsivas ao receptor α do fator de crescimento derivado de plaquetas (*PDGFR α*). A formação dos adipócitos em diferentes depósitos de gordura está estritamente relacionada as redes capilares, e a neovascularização prejudicada afeta de forma negativa o desenvolvimento do tecido adiposo fetal (Wang *et al.* 2017). Assim, a determinação das células fibro-adipogênicas em fibroblastos começa por volta de 180 dias pós concepção seguida pela síntese de colágeno próximo aos 260 dias pós-concepção e se estende até sua vida pós-natal (Santos *et al.*, 2022).

3. VITAMINA A NA REGULAÇÃO DA ADIPOGÊNESE INTRAMUSCULAR

No processo da adipogênese em bovinos, os adipócitos de gordura visceral, subcutâneo, intermuscular e intramuscular são formados em ordem sequencial e sobreposta (DENG *et al.*, 2020), e a formação desses diferentes depósitos de gordura acontece em distintos pontos de estágios da gestação (Du *et al.*, 2013b). Enquanto o acúmulo de gordura intramuscular (IMF) é altamente desejável devido aos atributos organolépticos da carne, o acúmulo de tecido adiposo em outros locais é indesejável por aumentar drasticamente os custos de produção. Os adipócitos são formados ao longo do curso do tempo de desenvolvimento fetal e pós-natal de forma sequencial. Os adipócitos viscerais são formados próximo aos 80 dias de gestação em bovinos de corte, seguidos da adipogênese subcutânea (180 dias pós concepção) que ocorre um pouco mais tarde na segunda metade gestacional para o final da gestação e estágio inicial pré-natal.

A hiperplasia desses depósitos de gordura diminui substancialmente após o nascimento, mas há hiperplasia celular observada em depósitos de IMF em bezerros entre 11 a 15 meses de idade. A formação dos adipócitos intramusculares é detectada próximo ao terço final da gestação (Taga *et al.* 2011), onde seu potencial de hiperplasia acontece principalmente durante o estágio pré-natal e neonatal tardio até cerca de 250 dias de idade. Dessa forma, o desenvolvimento sequencial dos adipócitos proporciona uma oportunidade de aumentar preferencialmente a adipogênese intramuscular em relação aos demais depósitos, sem aumento da gordura corporal total. O produto resultante de intervenções nutricionais nesta janela de tempo única aumenta a adipogênese intramuscular o que fornece locais para acúmulo de lipídeos durante a fase de terminação, resultando em maior hipertrofia dos adipócitos e elevado marmoreio. Esse período crítico para maior formação dos adipócitos intramusculares até o desmame (250 dias) é conhecido como “janela de marmoreio” (Du *et al.*, 2013).

Intervenções nutricionais durante os estágios médio e final da gestação, bem como o período pós-natal até o desmame é crítico para aumentar o número de MSCs comprometidas com a linhagem adipogênica que aumentará o número de adipócitos intramusculares e, portanto, o marmoreio (Figura 2). O ácido retinóico, metabólito ativo da vitamina A, é um importante regulador da adipogênese. Os receptores de ácido retinóico se ligam ao receptor de ácido retinóico (RAR), que formam dímeros e se ligam ao elemento resposta específico nos promotores de genes-alvos (Malibary *et al.* 2033)

O ácido retinóico regula a proliferação e o comprometimento de células progenitoras. Em células progenitoras adipogênicas, a expressão de *PREF-1* e *KL2* aumentou após o tratamento com ácido retinóico trans durante a fase de crescimento (Jin et al. 2024). A suplementação de vitamina A na gestação promove o comprometimento adipogênico fetal por meio da regulação positiva de *PREF-1* que ativa o aumento da proteína CRABP-II, uma proteína de ligação que fornece ácido retinóico para ligação ao receptor de ácido retinóico (RAR) (Noy, 2013). O ácido retinóico regula positivamente a expressão *ZNFP423* (*Zinc finger protein 423*), importante fator de transcrição que é expresso no estágio inicial da adipogênese durante o comprometimento (Berry et al., 2012). Sua ativação estimula a expressão de outro fator de transcrição conhecido como *PPAR γ* (*peroxisome proliferator-activated receptor-gamma*) que atua no aumento da diferenciação adipogênica (Gupta et al. 2010). Outro gene envolvido, é o *Sox9*, semelhante ao *Pref-1*, ativado após estimulação pelo ácido retinóico. A ativação de *Sox9* e *Pref-1* aumenta a proliferação de células progenitoras e expande o conjunto de células progenitoras (Berry et al. 2012) (Figura 2).

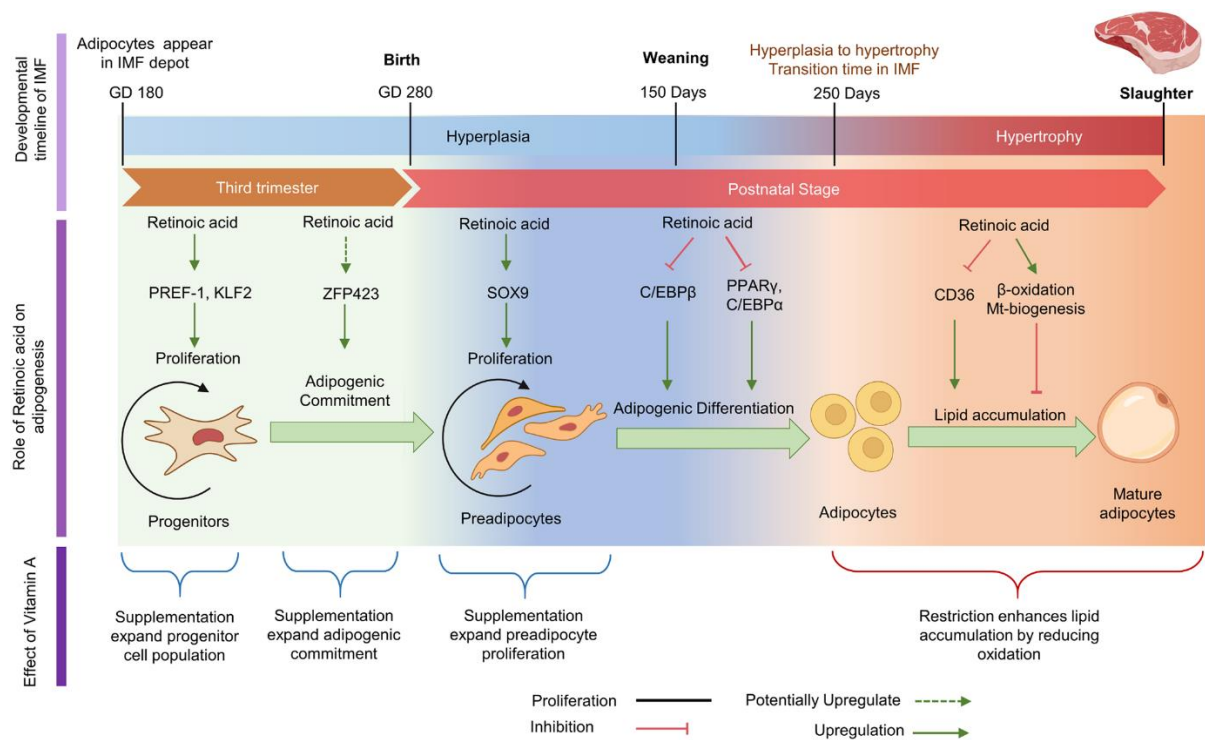


Figura 2. Papel potencial do ácido retinóico na hiperplasia e hipertrofia de adipócitos em diferentes estágios de desenvolvimento de bovinos de corte (Hossain e Du et al. 2026).

Desse modo, a suplementação de vitamina A durante o desenvolvimento inicial, aumenta o recrutamento de células para linhagem adipogênica por meio da expansão de células fibro-adipogênicas em camundongos (Wang et al. 2017). No estudo, os autores evidenciaram também

que a vitamina A materna promove mudanças na adipogênese fetal por meio do estímulo da angiogênese (formação de vasos sanguíneos). À vista disso, o ácido retinóico, metabólico ativo da vitamina A no organismo, aumentou a expressão de *Vegfa* e *Vegfr2* em bezerros neonatos, o que desencadeou consequentemente aumento na população de células progenitoras *PDGFRα*⁺ no tecido adiposo, estimulando a adipogênese na prole por meio do desenvolvimento vascular (Yu et al. 2022). Dieta enriquecida com vitamina A no final da gestação em vacas de corte exibiu maior expressão de RNAm do receptor de ácido retinóico (*RARβ*) no músculo esquelético e aumento na abundância de proteína para DLK1, indicando aumento no desenvolvimento de pré-adipócitos na prole (Dean et al., 2024). DLK1 é um marcador de pré-adipócitos que previne a diferenciação dos adipócitos e, durante a adipogênese sua expressão aumenta no início do processo de diferenciação, mas diminui na fase final de diferenciação (Gupta et al., 2010). Em bovinos Angus, a administração de vitamina A ao nascimento e um mês de idade promoveu desenvolvimento de gordura IMF (Harris et al., 2018).

Em estudos posteriores, uma única injeção de vitamina A ao nascimento em alterou positivamente a expressão de marcadores angiogênicos (*VEGFα*), adipogênicos (*WNT* e *ZNF423*) e lipogênicos (*SREBF1*) (Maciel et al., 2022). Esta descoberta demonstra que o aumento de adipócitos na fase de desenvolvimento pode aumentar a gordura intramuscular na fase de terminação de animais ruminantes. Em contrapartida, a suplementação de vitamina A em bovinos na fase de terminação aumenta a expressão da *FABP5* e *PPARβ/δ*, levando aumento da oxidação lipídica e à redução da hipertrofia e marmoreio dos adipócitos (Wang et al., 2016). Adicionalmente, investigações anteriores identificaram fatores de transcrição *KLF2*, *KLF3* e *KLF7* (*Krüppel-like transcriptional factors*) atuam como reguladores inibitórios na deposição de IMF na diferenciação terminal (Cui et al., 2021). Portanto, vários marcadores moleculares desempenham papel importante na deposição de gordura intramuscular, influenciando a adipogênese, o metabolismo lipídico e o desenvolvimento muscular, associado a regulação pela administração de vitamina A em matrizes gestantes ou bezerros em fase neonatal (Tabela 1).

Tabela 1. Genes associados ao desenvolvimento de gordura intramuscular em bovinos.

Genes	Association with IMF	Referências
<i>Adipogênese</i>		
<i>Zfp423</i>	Promove a diferenciação adipogênica das células vasculares do estroma muscular	Huang et al. (2012)
<i>PPARγ</i>	Um regulador mestre da diferenciação de adipócitos e do metabolismo lipídico.	Ladeira et al. (2018)
<i>C/EBPα</i>	Fator de transcrição crucial na diferenciação dos adipócitos	Hongfang et al. (2022)

<i>DLK1</i>	Marcador de pré-adipócitos que previne a diferenciação dos adipócitos	Gupta et al. (2010)
<i>Promotores da angiogênese</i>		
<i>PDGFRA</i>	A abundância está correlacionada com o conteúdo do IMF	Wang et al. (2017a)
<i>VEGFα</i>	Regulador chave da angiogênese, altamente correlacionado com a vascularização	Han et al. (2011)
<i>VEGFR1</i>	Atuar como um receptor chamariz, modulando a sinalização do VEGFR2	Herold and Kalucka (2021)
<i>VEGFR2</i>	Medeia a proliferação de células endoteliais, migração e formação de novos vasos sanguíneos	Fukumura et al. (2003)
<i>Lipogênese</i>		
<i>SREBF1</i>	Exerce regulação positiva sobre as enzimas ACC e FASN. Junto ao PPAR γ são relatados como os principais fatores de transcrição envolvidos no metabolismo de lipídeos	Ladeira et al. 2016
<i>ACACA</i>	Regula a biossíntese de ácidos graxos	Ramírez-Zamudio et al. (2022)
<i>FASN</i>	Desempenha um papel na lipogênese de novo.	Nascimento et al. (2024)
<i>SCD1</i>	Aumenta a deposição de IMF e o conteúdo de ácidos graxos insaturados	Hoashi et al. (2008)
<i>Metabolismo lipídico e transporte</i>		
<i>FABP4</i>	Envolvida no transporte e metabolismo de ácidos graxos em adipócitos.	Hoashi et al. (2008)
<i>DGAT1</i>	Uma enzima chave na síntese de triglicerídeos, associada ao marmoreio.	Thaller et al. (2003)
<i>FOXO1</i>	Afeta a expressão de genes associados à apoptose de adipócitos intramusculares	Liu et al. (2018)
<i>RBP4</i>	Envolvida no transporte de retinol e ácidos graxos. Demonstraram correlação positiva com a deposição de gordura intramuscular em bovinos	De Jager et al. (2013)
<i>KLF</i>	Fator inibitório (KLF2, KLF3 e KLF7) da deposição IMF	Raza et al. (2022)
<i>ADIPOQ</i>	Abundance is highly correlated with IMF content	Wang et al. (2009)

PPAR γ = Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma; C/EBP α = CCAAT/Enhancer Binding Protein Alpha; *Zfp423*= Protein zinc fingers 423; *DLK1*= delta like non-canonical Notch ligand 1; *SCD1*= Stearoyl-CoA Desaturase 1; *SREBF1*= sterol regulatory element-binding transcription factor 1; *ACACA*= Acetyl-CoA carboxylase; *FASN*= Fatty Acid Synthase; *RBP4*= Retinol-binding protein; *FABP4*= Fatty Acid Binding Protein 4; *DGAT1*= Diacylglycerol O-Acyltransferase 1; *FOXO1*= Forkhead Box O1; *KLF*= Krüppel-like factors; *Vegfa* = Vascular Endothelial Growth Factor alpha; *Vegfr1*= Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 1; *Vegfr2* = Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2; *PDGFRA*= Platelet-derived growth factor receptor A;

4. LIPOGÊNESE, METABOLISMO LIPÍDICO E MARMOREIO

Após a diferenciação em adipócitos maduros, o preenchimento da gota lipídica com triglicerídeos (TG) é conhecido como lipogênese (Ladeira et al. 2016). A taxa de armazenamento de TG, e por conseguinte a hipertrofia dos adipócitos depende de equilíbrio e taxas relativas de lipogênese e lipólise (Bonnet et al., 2010). Para que o processo de lipogênese ocorra, ou seja, a síntese de gordura, os triglicerídeos devem ser incorporados ao tecido adiposo após absorção de ácidos graxos pela dieta ou síntese *de novo* de ácidos graxos (Rollin et al., 2003). A síntese *de novo* é um mecanismo celular pelo qual as células condensam unidades acil para produção de ácidos graxos (AG), que são desviados para armazenamento em gotículas lipídicas como triacilgliceróis (Wallace *et al.*, 2020). O acetato e citrato servem como substrato para síntese de ácido graxos, sendo o acetato o principal precursor produzido na fermentação ruminal convertido em acetil Co-A por meio da enzima acetil-CoA sintetase (ACS) que é codificada pelo gene *ACSS2* (*acyl-CoA synthetase short-chain family member 2*), e o citrato produzido pela glicólise e ciclo do ácido tricarboxílico, catalizado em Acetil CoA pela enzima ACL (ATP Citrato liase) (Tan and Jiang, 2024).

Duas enzimas chaves na via síntese de novo usando glicose são ATP citrato liase e NADP. Estudos evidenciaram menor atividade da ATP citrato liase em ruminantes, resultando em menor utilização da glicose como substrato para síntese de gordura em comparação com monogástricos. No entanto, a glicose é utilizada como principal substrato quando comparado ao acetato para síntese de ácidos graxos durante a deposição de gordura intramuscular (IMF) (Smith and Crouse, 1984). Ademais, o IMF exhibe uma maior expressão do transportador de glicose 4 (GLUT4), o que facilita a entrada de glicose quando comparado com gordura subcutânea. Em estudos, Hocquette et al. (2010) relataram que o acetato contribuiu com 70 – 80% das unidades acil na gordura subcutânea, porém 10 – 25% no IMF, em contraste, a glicose cooperou com 1 – 10% das unidades acil na gordura subcutânea, mas 50 – 75% no IMF. O tecido adiposo intramuscular apresenta maior resistência à insulina, assim, alimentos que contribuem para maior produção de propionato como milho e outros grãos têm elevado potencial glicogênico e insulínogênico, contribuindo para aumento da deposição IMF (Gilbert et al., 2003).

O fornecimento de alimentos ricos em concentrados apresenta expressão elevada de fatores de transcrição de genes envolvidos na síntese de gordura (*CEBPβ*, *CEBPα* e *PPARγ*) no IMF (Yamada et al. 2012). Entretanto, touros alimentados com dieta de milho inteiro descascado e sem forragem não aumentaram o teor de gordura intramuscular, devido à redução

no pH ruminal e aumento do *t*10, *c* 12-C18:2, induziu a redução na expressão do gene *SREBF1* (Teixeira et al., 2017). Nesse sentido, o fator de transcrição SREBP-1c codificado pelo gene *SREBF1* (*sterol regulatory element-binding transcription factor 1*) exerce regulação positiva sobre a cascata de enzimas envolvidos na síntese *de novo* de ácidos graxos, como ACC e FAS, explicando em partes sua influência sobre a redução da deposição IMF (Oliveira et al., 2014). Usualmente, dietas com alto teor de concentrado resultam em alterações na biohidrogenação ruminal, aumentando a produção de *t*10, *c* 12-C18:2 e diminuindo *c* 9, *t* 11-C18:2. Dietas que aumentam *t*10, *c* 12-C18:2 inibem a expressão do *SREBF1*, que consequentemente reduz a biossíntese de gordura ao reduzir a expressão de genes e atividade de enzimas-chaves. Portanto, controlar um ambiente ruminal para evitar produções excessivas de *t*10, *c* 12-C18:2, reprimirá a diferenciação de adipócitos intramusculares (Ladeira et al., 2018).

Fatores nutricionais podem afetar a expressão de enzimas que participam do processo da síntese *de novo*, como a acetil-CoA carboxilase (ACC), reação mais importante na síntese *de novo* de ácidos graxos no citosol (Ladeira et al., 2016b). A enzima ACC codificada pelo gene *ACACA*, catalisa a carboxilação da Acetil-CoA formando malonil-CoA, que por sua vez sofre ação da ácido graxo síntase (FAS) codificada pelo gene *FASN* para iniciar uma nova cadeia acil ao adicionar acetil-CoA à molécula de malonil-CoA (Heil et al., 2019). O principal ácido graxo produzido desta série de reações múltiplas é o ácido palmítico (C16:0), após sua síntese ou absorção pelas células adipócitas os ácidos graxos podem sofrer ação das elongases com adição de carbono na cadeia ou sofrer ação da enzima estearoil-CoA dessaturase (SCD) codificada pelo gene *SCD1*, responsável por introduzir dupla ligações no carbono 9, formando ácidos graxos poliinsaturados (Ladeira et al., 2018b; Tan and Jiang, 2024).

Ademais, a captação de ácidos graxos é outra maneira de depositar gordura no tecido adiposo, como exemplo, a lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL) que sofre hidrólise a triglicerídeos pela ação da enzima lipoproteína lipase (LPL), localizada na parede dos capilares sanguíneos (Brown et al., 2003). O transporte de ácidos graxos para o interior da célula é feito por três grupos principais de transportadores: translocase de ácidos graxos (CD36), proteína de transporte de ácidos graxos (FATP) ou FABP em associação com acil-CoA sintase. Além disso, existe outros receptores acoplados à proteína G (GPR) conhecidos como receptores livres de ácidos graxos (FFARs) presentes na membrana celular dos tecidos adiposo e transportam ácidos graxos livres de cadeia curta, como propionato e acetato (Miyamoto et al., 2016).

A schematic diagram of bovine

metabolic pathways involving glycolysis, fatty acid and triglyceride synthesis, and fatty acid beta-oxidation.

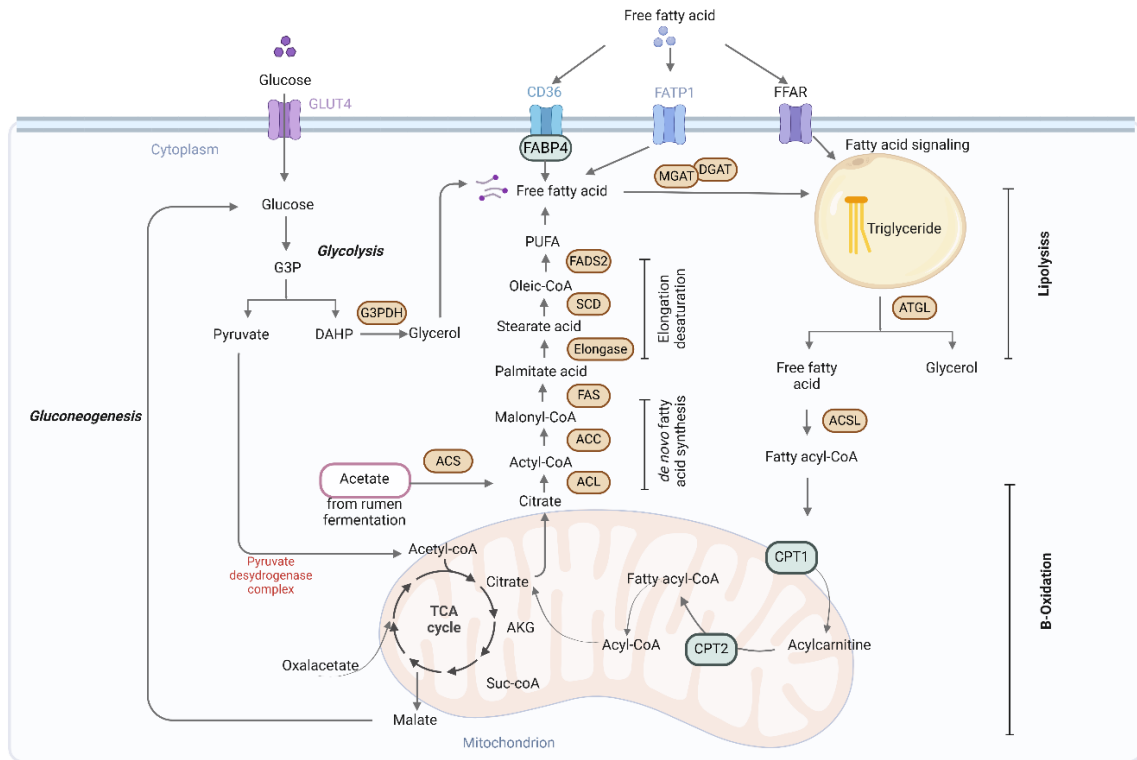


Figura 3. Diagrama esquemático de bovinos envolvendo vias metabólicas glicolíticas, síntese de ácidos graxos e triglicerídeos, e oxidação de ácidos graxos. Elaborado pelo autor, adaptado de (Ladeira et al. 2018; Tan et al. 2024). *GLUT*: Glucose transporter. *CD36*: Fatty acid translocase. *FABP1* and *4*: Fatty acid-binding protein 1 and 4. *FFAR*: Free fatty acid receptor. *CPT1* and *2*: Carnitine palmitoyltransferase 1 and 2. *CATC*: Carnitine acylcarnitine translocase. *G3P*: Glyceraldehyde-3-Phosphate. *AKG*: α -Ketoglutarate. *G3PDH*: Glycerol-3-phosphate dehydrogenase. *ACS* = *ACSL*: Acyl-CoA synthetase. *ACL*: ATP-citrate lyase. *ACC*: Acetyl-CoA carboxylase. *FAS*: Fatty acid synthase. *SCD*: Stearoyl-CoA desaturase. *FADS2*: Fatty acid desaturase 2. *MGAT*: Monoglyceride acyltransferase. *DGAT*: Diacylglycerol O-acyltransferase. *ATGL*: Adipose triglyceride lipase.

O ácido graxo livre formado pela síntese de novo ou absorvido pela forma dietética é catalisado pela enzima *MGAT* (*Monoglyceride Acyltransferase*) que converte monoacilglicerol em diacilglicerol pela adição de segundo ácido graxos. Adicionalmente, a enzima *DGAT* (*Diacylglycerol O-Acyltransferase*) converte diacilglicerol em triglicerídeos, com adição de um terceiro ácido graxo é caracterizada como etapa final na síntese de triglicerídeos para armazenamento de gordura (Yen et al. 2013). Quando adentram ao interior do adipócito por meio dos transportadores, os ácidos graxos que estão ligados a *FABP* são transportados da membrana para o sítio de esterificação ou β -oxidação (Gerbens et al., 2004). Quando sofrem ação da lipólise, a enzima *ATGL* quebra os triglicerídeos em diacilglicerol e ácidos graxos

livres, dessa forma, os ácidos graxos livres de cadeia longa gerados precisam ser oxidados na mitocôndria para gerar energia na forma de ATP, no entanto, os ácidos graxos ativados (acil-CoA) livres no citosol é impermeável à membrana. Para que sejam transportados para dentro da mitocôndria, é necessário ação da enzima carnitina palmitoil transferase 1 (CPT1), que catalisa a transferência do grupo acil para carnitina (atua como “carregador”) formando acilcarnitina. Na matriz mitocondrial, a acilcarnitina é reconvertida em acil-CoA de cadeia longa, entrando em seguida na via da β -oxidação para produção de energia (Ladeira et al., 2018b).

5. METABOLISMO DA VITAMINA A EM BOVINOS DE CORTE

A vitamina A desempenha papel relevante na regulação de diversos processos do desenvolvimento e metabolismo de mamíferos, incluindo reprodução, embriogênese, visão, crescimento, diferenciação e proliferação celular, manutenção da integridade celular epitelial e função imune, além do controle da biologia do tecido adiposo (ARREGUIN et al., 2018; BAR-EL DADON; REIFEN, 2017). A capacidade de síntese de novos compostos com atividade de vitamina A em mamíferos é limitada, portanto, é necessário obter vitamina A da dieta seja como vitamina pré-formada (retinil ésteres) ou na forma de carotenoide pró-vitamina, como o β -caroteno. Mais de 70% da vitamina A está presente como ésteres de retinil ou carotenoides, sendo obtida principalmente por via oral a partir da dieta. No entanto, outras vias de administração como intramuscular são possíveis, onde o perfil farmacocinético pode depender da via de administração, características físico-químicas da forma da vitamina e forma farmacêutica usada (Carazo et al. 2021). Desse modo, o destino subsequente do retinol absorvido ou formado é o mesmo independente de sua origem (Hebuterne et al. 1996).

Como a via oral é a mais frequente na forma de disponibilidade para os animais, está será descrita em detalhes. Os carotenoides precisam ser convertidos em vitamina A para serem biologicamente ativos. Esse processo é determinado pela biodisponibilidade do produto e bioconversão na forma ativa do retinol. Dessa forma, o produto dessas duas propriedades determina a bioeficácia do carotenoide quanto à eficiência de sua absorção e conversão da sua forma biologicamente ativa do retinol (Luna and Costa, 2013). Os carotenoides mais conhecidos são β -caroteno, α -caroteno, luteína, licopeno e criptoxantina, eventualmente metabolizados em retinol. No entanto, nem todos os carotenoides possuem capacidade de

conversão em vitamina A, apenas moléculas que apresentam pelo menos um anel β -ionona não substituído têm a natureza de provitamina A (Carazo et al., 2021).

Assim, o organismo pode metabolizar as formas naturais da vitamina A e provitamina A em formas biologicamente ativas (retinol, retinal e ácido retinóico), sendo o ácido retinóico a principal forma ativa no organismo com maior afinidade por receptores capaz de promover respostas transcricionais que podem gerar sinalizações na regulação genética (Carazo et al., 2021). A eficiência de conversão de carotenoides em retinol em bovinos de corte é variável, e o fornecimento de vitamina A em ruminantes podem ser afetados pelo tipo de dieta e taxa de fermentação ruminal. McDowell (2000) relatou que a degradação da ruminal da vitamina A ativa foi de 67% em bovinos alimentado com dietas de maior proporção de concentrado e 18% para bovinos em dietas com maior proporção de forragem.

A absorção da vitamina A é realizada pelos enterócitos no lúmen intestinal, sendo esta posteriormente incorporada nos quilomícrons para ser transportada para células alvos. Cerca de 66 a 75% dos retinóides oriundos da dieta são captados pelos hepatócitos para serem armazenados na forma de ésteres de retinil ou hidrolisados para retinol (D'ambrosio; clugston and blaner, 2011). Carotenoides como β -caroteno podem ser metabolizados em sua forma biologicamente ativa ou ser absorvido em sua forma inalterada (Carazo et al., 2021). A absorção intestinal de carotenoides pode acontecer por difusão passiva, no entanto, pesquisas demonstraram que receptores como *SCARB1* (*scavenger receptor class B1*) e (*cluster of differentiation 36*) *CD36* estão envolvidos na captação celular de carotenoides provitamina A (Borel et al., 2013). Na via mais comum, o retinaldeído formado a partir clivagem do β -caroteno é reduzido a retinol ou oxidação em ésteres de retinil, ou transporte do β -caroteno para corrente sanguínea associada aos quilomícrons. Esse processo não é específico do enterócito, mas pode acontecer no fígado e outros órgãos. Na clivagem alternativa, os carotenóides produzem a molécula apo-carotenal, contudo, ambas as moléculas têm o mesmo produto final metabólico (all-trans-Ácido retinóico).

Alternativamente, no lúmen intestinal antes de entrar nos enterócitos, a maioria da vitamina A em sua maioria na forma de ésteres de retinil são metabolizados em retinol por uma lipase de fosfoglicerídeos ou fosfolipase B, que são absorvidos por transporte ativo ou passivo (Quick and Ong, 1990). Os estères de retinil não passam na sua forma intacta, devido serem moléculas lipofílicas (solúvel em gordura) esterificado com um ácido graxos, o que torna a molécula ainda mais polar. No intestino, formas não esterificadas e com menor massa molecular são mais facilmente absorvidas (Kumar et al. 2012). Uma vez nos enterócitos, o retinol pode se ligar à

proteínas de ligação ao retinol celular (CRBP), responsável pelo transporte intracelular do retinol (Ong and Chytil, 1978). Até o presente momento, somente duas isoformas de CRBP foram identificadas, CRBPI e CRBP II. A isoforma CRBPI é amplamente expressa em toda extensão do corpo, enquanto, a CRBP II é limitada às células intestinais, destacando sua contribuição fundamental no processo de absorção (Kanai et al., 1968) (Figura 4).

Metabolism of vitamin A

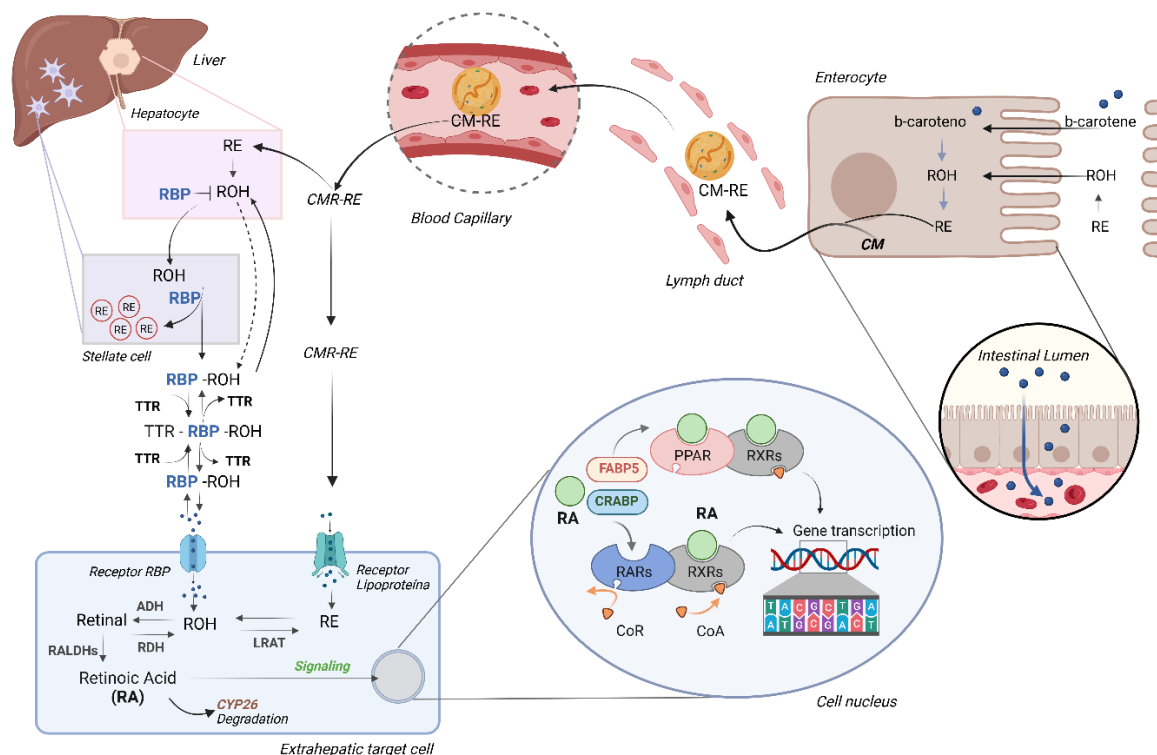


Figura 4. Metabolismo da vitamina A. Elaborado pelo autor: adaptado de (Blomhoff et al. 1994; Cañete et al. 2017; Carazo et al. 2021).

Independente da sua fonte alimentar o *all-trans*-retinol pode ser reesterificado em ácidos graxos de cadeia longa como ésteres de retinil pela ação da enzima acil CoA:retinol aciltransferase (ARAT) e lecitina-retinol aciltransferase (LRAT). Pesquisas evidenciaram que o retinol complexado com CRBP(I) é reesterificado por LRAT, enquanto, os não complexados nas membranas podem ser esterificados por ARAT. Adicionalmente, foi sugerido que LRAT esterifica o retinol em doses de carga “normal” de absorção, e ARAT esterifica o excesso quando grandes doses são absorvidas e CRBPI fica saturado (Blomhoff, 1994). Assim, como no intestino, ambas as enzimas atuantes podem estar envolvidas na esterificação do retinol hepático, dependendo da quantidade de retinol e ligação ao CRBP.

Em conjunto com outros lipídeos alimentares, os ésteres de retinil recém-sintetizados são empacotados em quilomícrons, que constituem milhares de moléculas de triacilglicerol e fosfolipídeos compactados de uma forma conjunta com carotenoides, ésteres de retinil, outras vitaminas lipossolúveis e algumas apolipoproteínas específicas. As grandes lipoproteínas formadas (100-2000nm diâmetro) carregados de éster de retinila são secretados no sistema linfático e então se movem para corrente sanguínea, de onde chegam aos tecidos-alvos, principalmente o fígado, que é o principal órgão de armazenamento da vitamina A (Harrison, 2005). Quando presentes na circulação geral, antes de chegar ao fígado a lipoproteína lipase (LPL) que está localizada na superfície luminal do endotélio vascular, catalisa a lipólise dos triglicerídeos e gera ácidos graxos livres e remanescentes de quilomícrons (CMR). Embora os remanescentes de quilomícrons sejam eliminados principalmente pelo fígado, a captação pelos tecidos extra-hepáticos de remanescentes é importante para entrega de retinol aos demais tecidos como tecido muscular e entre outros. Outros retinóides podem estar em concentração mais baixa no sangue, devido a absorção direta pela circulação portal como o ácido retinóico, que tem alta afinidade com proteínas plasmáticas, portanto, transportando em um complexo formado com a albumina após atingir o sangue (Carazo et al., 2021).

O fígado constitui vários tipos de células, das quais duas (parenquimatosas e estreladas) são principais para o metabolismo da vitamina A. Grande parte da vitamina A dietética absorvida é entregue as células parenquimatosas (hepatócitos) quando os quilomícrons são metabolizados no fígado, uma vez absorvidos pelos hepatócitos, os ésteres de retinil produzidos são hidrolisados novamente em retinol para serem transportado para células estreladas (representam 5-8% do número total de células do fígado) e então reesterificados pela LRAT em ésteres de retinil para armazenamento no fígado (Byrne et al. 2008). Os ésteres restantes são posteriormente transportados em associação com lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL) e lipoproteínas de baixa densidade (LDL) (Parker, 1996). Em mamíferos, cerca de 80 a 90% do retinol total do corpo (retinol e ésteres de retinil) está presente no fígado, em condições normais as células estreladas contêm cerca de 90 – 95% do retinol no fígado, dos quais desse 80 - 98% da vitamina A está na forma de ésteres de retinil compactados em gotículas lipídicas citoplasmáticas (Blomhoff, 1994; Harrison, 2005).

Alternativamente, no retículo endoplasmático dos hepatócitos as proteínas ligadoras do retinol (RBP4) é encontrada em alta concentração, onde o retinol se liga a RBP4 por meio da interação com o receptor RBP, para ser secretado na corrente sanguínea e posterior absorção celular do retinol para que seja processado em células alvos. Além do mais, dados sugerem que

pode ocorrer também a mobilização direta de retinol-RBP de células estreladas para circulação geral, a qual pode ser a via predominante. O modelo multicompartimental da dinâmica da vitamina A no fígado de ratos, previu que *pool* de retinol das células estreladas é pequeno e rapidamente renovado, sendo compatível com as pequenas quantidades de RBP observados nestas células. O transporte de retinóides no plasma está estritamente ligado a um RBP específico, aproximadamente 95% do RBP plasmático está associado ao retinol transtirretina (TTR), e exceto no estado pós-prandial toda vitamina A plasmática está ligada ao RBP. Assim. Foi evidenciado que a complexação com TTR diminui a filtração glomerular do retinol, evitando a degradação da RBP nos rins ao formar um complexo estável (Vieira and Saraiva, 2014). O complexo formado retinol-RBP é absorvido pelas células alvo por meio do reconhecimento dos transportadores pelos receptores celulares de retinol (Estimulado por AR, *STRA6*). Na via metabólica, o retinol é reciclado entre o plasma e o fígado, com uma porção sendo absorvida pelas células parenquimatosas e células estreladas (Green et al. 1993). Uma vez dentro das células, o retinol sofre uma série de reações por vias metabólicas.

5.1 Rotas metabólicas

Nas células-alvos, o *all-trans*-retinol pode ser oxidado em *all-trans*-retinaldeído por ação reversível, através da atuação da enzima álcool desidrogenases (ADHs) ou pela retinol desidrogenase (RDH) utilizando o NAD como cofator. Sequencialmente, o retinaldeído pode ser gerado pela clivagem do betacaroteno (pró-vitamina A) pela carotenoide-15,15'-monoxigenase (CMO1). Devido a natureza reversível da primeira etapa, o retinaldeído pode ser reduzido à retinol através da ação de algumas enzimas RDH e aldo-ceto redutase (AKT), sintetizado pelos genes RDH12 e AKR1B10, respectivamente. Seguido por uma segunda oxidação, o retinaldeído é metabolizado irreversível a *all-trans*-ácido retinóico em uma reação catalisada pelas retinaldeídos desidrogenases citosólicas: RALDH1 (codificada pelo gene ALDH1A1), RALDH2 (codificada pelo gene ALDH1A2) e RALDH3 (codificada pelo gene ALDH1A3) (Kumar et al., 2012). Sendo moléculas lipídicas, os retinóides gerados precisam devem ser ligados a proteínas dentro da célula para serem transportados.

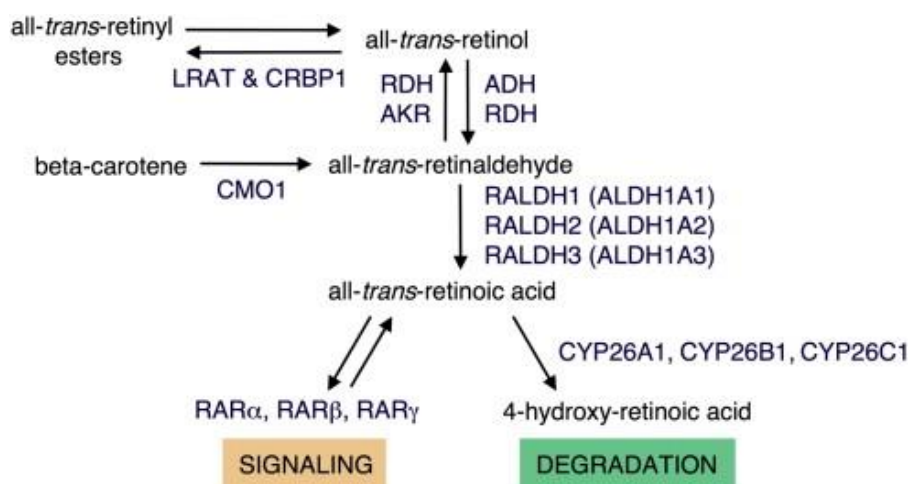


Figura 5. Via metabólica do ácido retinóico (Kumar et al. 2012).

O metabolito biologicamente ativo da vitamina A, o ácido retinóico, desempenha efeito de sinalização molecular ao entrar no núcleo e se liga com receptores nucleares específicos e receptores do ácido retinóico ligados ao DNA (Wang et al., 2018). Os receptores de ácido retinóico incluem receptores de ácido retinóico ($RAR\alpha$, $RAR\beta$ e $RAR\gamma$) e receptores de retinoide X ($RXR\alpha$, $RXR\beta$ e $RXR\gamma$) (Chambon 1996) que se ligam ao ácido retinóico, iniciando uma série de eventos moleculares por meio de co-ativadores e co-repressores que regulam a transcrição de genes-alvos (Kumar et al., 2012). A expressão dos receptores é específica de cada tecido, $RAR\alpha$ está presente em todo corpo, enquanto a isoforma $RAR\beta$ é predominante em tecidos do cérebro, fígado e rim, e $RAR\gamma$ altamente expresso na epiderme (Garmain et al. 2006). Os RAR se ligam ao DNA com um dos receptores retinóides X (RXR) formando um heterodímero que atua como um fator de transcrição, ativando as regiões de elementos responsivos ao ácido retinóico (RAREs). Os RARs *in vivo* apresentam maior afinidade pela forma mais abundante, *all-trans*-retinóico, bem como a um isômero de menor abundância 13-*cis* -RA, enquanto o RXRs se ligam apenas ao 9-*cis* -RA (Heyman et al. 1992). A principal diferença dos receptores de retinóides, é que estes podem regular a expressão gênica em monômeros por meio da ligação em elementos responsivos ao ácido retinóico, portanto, não formam dímeros com um receptor RXR (Jetten et al. 2001).

Curiosamente, a ligação ao receptor induz uma mudança conformacional que facilita a ligação e o recrutamento de co-ativadores, como histonas acetil transferases (HATs) e incluindo o coativador do receptor nuclear 3 (NCoA3 ou ACTR), na ausência do *all-trans*-retinóico o heterodímero RAR/RXR reprime a transcrição pela ação de co-repressores como histonas desacetilases (HDACs) ou o correpressor do receptor nuclear (NCoR) (Bastien and Rochette-

Egly, 2004). Cada subtipo de RAR apresenta um mecanismo resposta em diferentes concentrações do *all-trans*-retinóico, onde elevadas concentrações do ácido retinóico ocorre ativação do RAR α , em contraste a menor quantidade do ligante promove ativação do RAR γ (Beard et al., n.d.). Além dos receptores usualmente conhecidos como RARs, RXR e PPARs, os retinóides podem se ligar aos receptores órfãos relacionados a retinóides (ROR) β e γ (Stehlin-Gaon et al., 2003). Os RORs presentes não formam ligação heterodímera com RXR, mas regulam a transcrição de genes ao se ligar como monômeros a elementos de resposta RORs específicos (ROREs) em genes alvos. Dessa forma, a ação dos retinóides podem ser divididas em ações genômicas, devido interação com diferentes receptores nucleares que regulam os RAREs, elementos de resposta ao proliferador de peroxissomo (PPREs) e ROREs na ativação de genes alvos, e ações genômicas/não clássicas (Tanoury et al., 2013).

Os ácidos retinóicos sintetizados no citoplasma podem então se unir a duas proteínas celulares ligadoras do ácido retinóico (CRABPs): CRABPI e CRABPII. Cada uma dessas proteínas de ligação ao retinóide apresentam um padrão distinto de expressão e desempenha um papel específico no transporte e metabolismo da vitamina A (Spiegler et al., 2012). Quando ligado à CRABPI, o ácido retinóico é oxidado à 4-hidroxi-retinóico pelos citocromos P450s (CYP26A1) para regular seu catabolismo, sendo esta reação a primeira etapa da degradação devido adição de um grupo hidrofílico que resulta na formação de um metabolito polar do ácido retinóico mais facilmente excretado (Frolik et al. 1979). Além disso, o ácido retinóico ligado a CRABPI pode mediar a função não transcricional do ácido retinóico, por meio da ativação da quinase PKA (*Protein Kinase A*) que pode estimular vias que influenciam o crescimento e diferenciação celular, como a via CREB (cAMP Response Element-Binding Protein) (Sakai et al., 2017). Entretanto, ao se ligar à CRABPII ou à FABP5, é direcionado para o núcleo celular, onde interage com os receptores do ácido retinóico (RARs) ou com receptores ativados por proliferadores de peroxissomos (PPARs), respectivamente, promovendo assim a atividade transcricional de genes alvos (Conserva et al., 2019). Durante o decurso, o CRABPII pode inibir a proliferação celular ao transportar o ácido retinóico para RAR, que também está envolvido na diferenciação dos pré-adipócitos (Napoli, 2017).

A ativação do RAR e PPAR desencadeiam uma regulação em cascata de genes que estão diretamente envolvidos no transporte de glicose, oxidação de ácidos graxos, lipólise e diferenciação de ácidos graxos (Berry et al., 2010). Essa partição do ácido retinóico é o que define seus efeitos biológicos (Wang et al., 2016). Segundo Noy (2013), uma alta relação de CRABP-II/FABP5 é característica de células progenitoras adipogênicas, resultando em

sinalização dominante do RAR. No entanto, na diferenciação a relação CRABP-II/FABP5 é regulada negativamente, enquanto FABP5 e PPAR β/δ são regulados positivamente, ativando a sinalização de PPAR β/δ em adipócitos maduros, o que aumenta a oxidação de ácidos graxos e catabolismo lipídico (Berry et al., 2010; Noy, 2013). Esses dados mostram que o ácido retinóico afeta de maneira distinta as células progenitoras e adipócitos maduros, devido à expressão específica dos genes de transcrição em cada estágio de desenvolvimento (Wang et al., 2017c).

O ácido retinóico desempenha um papel importante tanto no comprometimento por estimular a proliferação de células progenitoras adipogênicas (Dani et al. 1997) quanto na maturação terminal dos adipócitos por meio da parceria entre PPAR γ e RXR para aumentar a diferenciação adipogênica (Dawson and Xia, 2012; Ziouzenkova and Plutzky, 2008). No entanto, o ácido retinóico promove oxidação lipídica e reduz o acúmulo de lipídeos durante a diferenciação terminal através da ativação do PPAR α e PPAR β/δ em adipócitos maduros que induz a regulação positiva na expressão de genes associados ao gasto de energia (*PGC-1 α* , Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha; *CPT1*, Carnitine Palmitoyltransferase 1), termogênese (*UCPI*, Uncoupling Protein 1) e sensibilidade à insulina (*FABP4*, Fatty Acid Binding Protein 4; *AdipoQ*, Adiponectina), reduzindo assim a hipertrofia dos adipócitos (Du and Rahardja, 2023).

Além disso, o ácido retinóico pode afetar a transcrição do PPAR γ por meio do aumento da parceria de dímeros RAR/RXR, privando o RAR/ PPAR γ do ácido retinóico necessário para adipogênese em estágio avançado (Dawson and Xia, 2012). O ácido retinóico bloqueia a adipogênese em estágio avançado, inibindo a transcrição mediada por C/EBP β que por conseguinte inativa a atividade transcricional do PPAR γ (Berry et al., 2012) e, por conseguinte, a diferenciação terminal dos adipócitos. Estudos demonstraram que durante a diferenciação adipogênica o ácido retinóico regulou negativamente a expressão de genes *Pref-1*, *Sox-9* e *KLF2* em adipócitos maduros, que normalmente são altamente expressos apenas em pré-adipócitos (Berry et al., 2012). Paradoxalmente, a redução da vitamina A na fase de terminação em bovinos de corte tem sido usada para aumentar o acúmulo de lipídeos intramusculares (Pickworth et al., 2012; Ward et al., 2012).

5.2 Transferência materno-fetal do retinol

A formação da placenta em ruminantes é um processo complexo que se inicia logo após a fertilização e implantação do embrião no útero, esses fatores são essenciais para desenvolvimento e suporte nutricional do feto durante a gestação. Em bovinos, a placenta é formada entre o 7º a 12º dia após a fecundação e caracterizada como sinepiteliocorial, devido as células binucleadas migrarem e se fundir com epitélio luminal do endométrio (Davenport et al., 2023). O processo de placentação culmina na formação de estruturas especializadas denominadas de cotilédones na parte fetal e carúnculas no útero materno, a fixação e interdigitação dessas estruturas formam o placentoma materno-fetal altamente vascularizados capaz de nutrir o feto em desenvolvimento (Spencer and Hansen, 2015). O fluxo sanguíneo placentário é crítico no desenvolvimento funcional e eficiente da placenta, em bovinos os placentomas altamente vascularizados onde ocorre a transferência materno-fetal o *VEGF* (*Vascular endothelial growth factor*) e seus receptores *FLT1* (*Vascular endothelial growth factor recepto*) e *KDR* (*Vascular endothelial growth factor receptor*), são altamente expressos (Dunlap et al., 2015). Embora o fluxo sanguíneo placentário seja fundamental para o fornecimento de nutrientes ao feto, a expressão e/ou atividade de transportadores específicos é um fator limitante na taxa de fornecimento de outros nutrientes, como glicose, aminoácidos e vitaminas (Jones et al., 2007).

Em relação as poucas evidências de transferência de vitaminas materno-fetal, busca-se compreender os mecanismos da molécula de vitamina A para o feto em desenvolvimento. Dessa forma, como não há síntese *de novo* de vitamina A fetal, para atender a necessidade de retinóides, embriões mamíferos em desenvolvimento dependem da quantidade de vitamina A materna circulante, disponibilizada através da barreira materno-fetal (placenta e saco vitelínico) (Quadro and Spiegler, 2020). Assim, a vitamina A que chega ao feto é por transferência placentária limitada durante a gestação e principalmente pelo colostro e leite materno durante o período de lactação (Cabezuelo et al., 2020). Na corrente sanguínea materna há duas formas predominantes de disponibilidade de retinóides e carotenoides para o embrião em desenvolvimento. 1: O retinol ligado a RBP é a principal via no estado de jejum, quando grande parte do retinol é secretado na corrente sanguínea a partir de estoques no fígado; 2: Ésteres de retinil empacotado em quilomícrons e seus remanescentes pode ser a segunda fonte predominante circulante após a ingestão alimentar de vitamina A. Outras formas em concentrações mais baixas circulam na corrente sanguínea como: 3. Ácido retinóico (all- trans e 13- cis) no plasma; 4. Glicuronídeos solúveis em retinol e ácido retinóico e 5. Carotenoides

na forma de provitamina A, como β -caroteno intacto em quilomícrons e partículas de lipoproteína (Spiegler et al., 2012).

Assim, alterações nos retinóides endógenos durante a gestação podem afetar a embriogênese. Estudos pioneiros, investigaram mudanças nos níveis endógenos de vitamina A na circulação materna e embrião ao longo da gravidez em camundongos. Foi observado menores níveis de retinol na circulação materna e aumento na mobilização dos estoques hepáticos para o conceito em período concomitante com a organogênese. Os padrões de acúmulo indicam que o início de armazenamento da vitamina A fetal ocorre no meio da organogênese, entretanto, as concentrações placentárias de retinóides permaneceram inalterados. A análise minuciosa revelou que durante a fase inicial da organogênese a concentração de retinóides é 8x mais que no embrião, por outro lado, no meio da organogênese o conteúdo de retinóides no embrião excede o da placenta (Satre et al. 1992). Nesse sentido, a placenta funciona como local estoque de vitamina A até que o fígado embrionário se torne funcional. A placenta também atua com capacidade de tamponar retinóides, liberando retinol para o feto quando a ingestão de vitamina A é deficiente e armazenando para proteger o embrião de um potencial excesso tóxico de retinóides maternos (Sapin et al. 2000)

Em estudos, Speer et al. (2004) observaram correlação positiva ($r = 0.33$) entre a concentração de retinol no fígado ($\mu\text{g/g MS}$) materno e fetal 32 dias pós-parto. No entanto, apesar das vacas terem concentrações adequadas de retinol no fígado quando suplementadas abaixo das recomendações, não resultou em estoques de retinol no fígado de bezerros considerados adequados, dado as faixas de referência atuais (Vaca = 300 e bezerro = 100 $\mu\text{g/g MS}$). Isso provavelmente é devido ao fígado de vacas não serem os únicos contribuintes para a vitamina A no colostro, onde estoques da vaca contribuem com cerca de 40% da vitamina A encontrada no colostro, enquanto os outros 60% vêm da dieta. Dessa forma, o fornecimento seja na forma dietética ou medicamentosa durante o final da gestação, afetam a quantidade de vitamina A repassada para o bezerro via colostro para contribuir com seus próprios estoques no fígado.

A presença de concentrações mensuráveis de vitamina A no fígado fetal ao nascimento é indicativo da eficiência de transferência transplacentária de retinol durante a gestação (Strater et al. 1992). O retinol atravessa a placenta, mas os mecanismos moleculares envolvendo esse processo ainda não são totalmente compreendidos. No entanto, três mecanismos de transferência materno-fetal foram propostos: 1. transferência de forma direta de ROH-RBP em processos que envolve captação e liberação celular do complexo de proteína-ligante; 2.

Transferência do ROH livre; e 3. Captação celular por seu receptor específico *Stra6*. Assim, foi demonstrado que a RBP circulante materna não apresenta capacidade de atravessar a barreira materno-fetal (Quadro et al. 2004). Todavia, o endoderma visceral do saco vitelínico é um importante local de síntese de RBP, *Stra6* e captação de retinol (Ward et al. 1997; Sapin et al. 1997; Soprano et al. 1986). Em relação ao mecanismo de transferência materno-fetal de vitamina A foi proposto que o retinol de origem materna passa dos vasos sanguíneos trofoblásticos para cavidade do saco vitelínico. A entrega do retinol através do endotélio do saco vitelínico depende da RBP materna para RBP derivado do saco vitelínico por meio do receptor RBP na camada superficial (Ward et al. 1997). Uma vez dentro das células endodérmicas, ocorre a transferência intracelular do retinol para vasculatura do saco vitelínico para transporte até o embrião, por meio do processo dependente da RBP localizada no retículo endoplasmático que se liga e exporta o retinol (Figura 6).

Maternal-fetal transfer of vitamin A

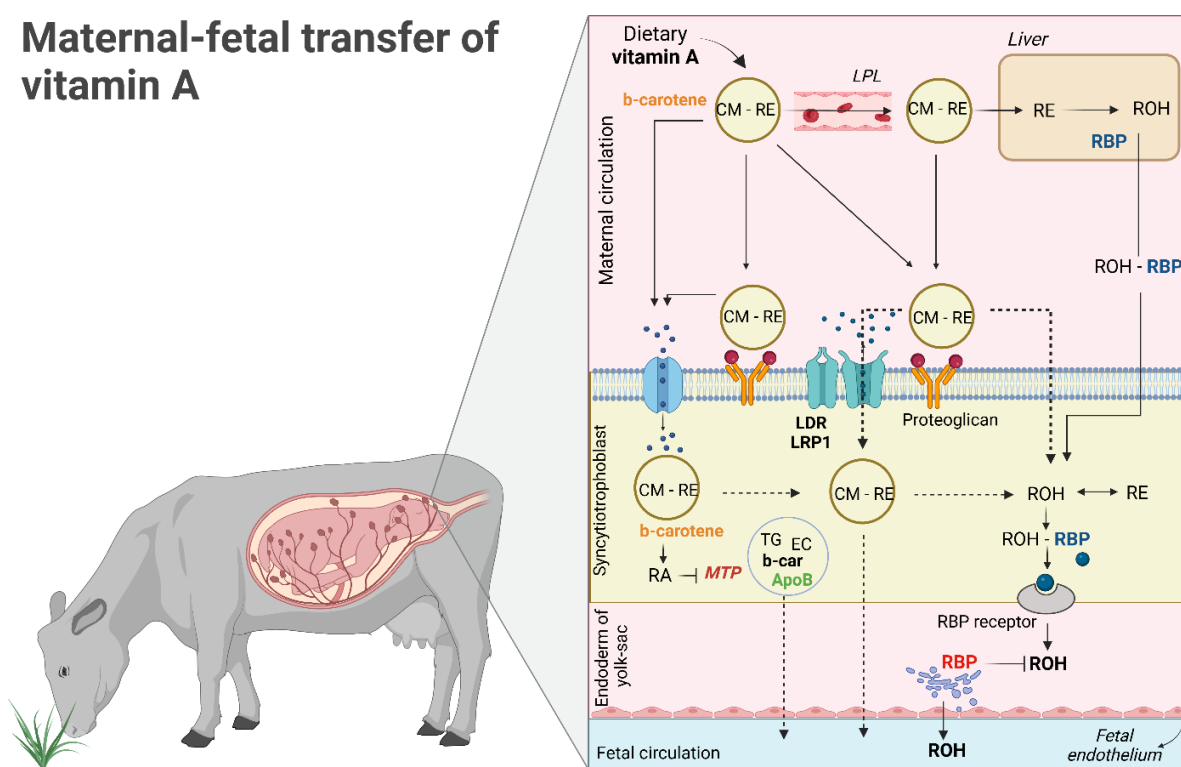


Figura 6. Transferência materno-fetal da vitamina A. Elaborado pelo autor: adaptado de (Quadro et al. 2020a; Quadro et al. 2020b)

Estudos posteriores (Wassef e Quadro 2011), investigaram o mecanismo de transferência materno-fetal pelo quais os ésteres de retinil empacotados em quilomícrons (ChM) e seus remanescentes são transportados através da barreira materno-fetal e levados ao

embrião, com enfoque na função da lipoproteína lipase (LPL). A atividade catalítica da LPL hidrolisa o triglicerídeo (TG) presente dentro do quilomícrons nascentes contendo ésteres de retinil (RE) para formar quilomícrons remanescentes de unidades ainda menores contendo ésteres de retinil (CM-RE). Grande parte dos CM-RE é captado pelo fígado, onde ER são hidrolisados em retinol (ROH), podendo ser novamente secretado pela ação da RPB para outros órgãos, incluindo a placenta.

Os remanescentes de quilomícrons resultantes da hidrólise podem ser captados por um mecanismo mediado por receptor ou pela “função ponte” da LPL (função de atrair os remanescentes para perto dos receptores de lipoproteína, LRP1 e LDLR) (Bharadwaj et al. 2010). Simultaneamente, a captação de CM-RE na circulação materna é altamente facilitada pela atividade catalítica da LPL e pela “função ponte”, disponibilizando retinol a partir da hidrólise CR-ER. Alternativamente, outras formas de transferência podem ocorrer, onde CM-TG-RE podem ser convertidos em CM-RE na barreira materno-fetal por meio da atividade catalítica da LPL expressa na placenta, ou captado na sua forma inteira pela “função ponte”, ou independentemente, por ação dos receptores LDLR e LRP1, embora seja a via mais ineficiente. Na transferência placenta-embrião, o ROH se liga à RBP que se apresenta expressa na camada do sinciotrofoblasto para ser transportado na circulação fetal. Contudo, as lipoproteínas resultantes da absorção pela placenta para liberar retinóides e transferi-los para corrente sanguínea fetal ainda precisa ser esclarecido (Quadro and Spiegler, 2020).

Além do mais, outras formas de carotenoides como o β -caroteno da corrente sanguínea materna podem ser transportadas intacto para circulação fetal associado com lipoproteínas presentes nas células sinciotrofoblásticas da placenta (Quadro et al., 2020). Sob condições normais, a β -caroteno-15,15'-oxigenase (*BCO1*) gerado na placenta cliva o β -caroteno para produzir retinaldeído, que por sua vez é oxidado em ácido retinóico. Nesse percurso, ocorre também a clivagem assimétrica do β -caroteno pela β -caroteno-9',10'-oxigenase (*BCO2*), gerando β -ionona e apo10AL (β -apo-10'carotenal) que por conseguinte aumentam a transcrição e atividade da *MTP* (*Microsomal triglyceride transfer protein*) placentária. Quando a apo10AL está elevada, diminui os níveis de ácido retinóico decorrência do efeito antagonista da *MTP*, proteína que ajuda a mover lipídios entre membranas e desempenha um papel no metabolismo lipídico. (Eroglu et al., 2012). A *MTP* atua em conjunto com a apoB (apolipoproteína B) para montagem de quilomícrons e secreção de lipoproteínas, além da função de transferência de vesículas doadoras contendo β -caroteno para receptoras na circulação fetal (Hussain, 2014; Iqbal et al., 2015). Portanto, o processo de transferência de β -caroteno intacto para placenta

mediado por lipoproteínas, sugere o apoB como principal metabolito crítico capaz de modular a transferência placentária-fetal. Esses mecanismos orquestrados pela placenta adapta o fluxo de carotenoides provitamina A direcionados ao feto, a depender do status circulante de vitamina A materna e demanda fetal de retinóides (Quadro et al., 2020).

O excesso de vitamina A pela dieta é metabolizado pela placenta, onde atua armazenando o excedente produzido e evitando eventuais potenciais tóxicos ao feto. Em estudos com camundongos selvagens, Kim e al. (2008) demonstrou que semelhante aos tecidos embrionários a regulação positiva do catabolismo de AR é um mecanismo compensatório para manter a homeostase dos retinoides nos tecidos extraembrionários (placenta) na ausência da enzima LRAT para mães alimentadas com dietas suficientes ou excesso de vitamina A. No presente estudo, foi observada regulação positiva na expressão de Stra6, receptor específico para o complexo RBP-ROH, em resposta ao excesso de vitamina A.

Da mesma maneira, os níveis de expressão da Stra6 foram elevados em embriões LRAT⁻/RBP⁻ em comparação com os selvagens. Isken et al. (2008) levantaram a hipótese de que a Stra6 atua como um transportador bidirecional de retinol, em condições de excesso de ácido retinóico, a expressão da Stra6 aumentaria para impulsionar o efluxo de retinol e reduzir a geração de possíveis níveis de toxicidade. No entanto, em contraste com os níveis observados no embrião, a suplementação de vitamina A em mães selvagens não aumentou os níveis de expressão placentária de Stra6, indicando que a placenta tem uma capacidade maior de armazenamento de retinoides em comparação com embrião. A ação coordenada pela LRAT, enzima chave na geração de estoque de vitamina A por meio da síntese ésteres de retinil, e Cyp26A1 que está envolvido na degradação do AR, desempenham papel suficiente para manter a homeostase dos retinoides na placenta.

Speer et al. 2024 ao fornecer doses acima da exigência preconizada (3x e 5x mais), não observaram efeitos adversos sobre o desempenho e comprometimento da prole. Fornecer a quantidade de vitamina A suplementar recomendada pelo NASEM (31.000 UI/d) para vacas em um longo prazo não resultou em concentrações de retinol no fígado dentro das faixas de referências adequadas para vaca (300 µg/g MS) e bezerro (100 µg/g MS). A suplementação com 3x a exigência (93.000 UI/d) para vacas por 125 dias antes do parto e 32 dias após o parto resultou na maioria de seus bezerros com concentração adequada de retinol no fígado aos 32 dias de idade. Portanto, mais pesquisas são necessárias para se avaliar os efeitos de interação entre quantidade e duração da suplementação de vitamina A fornecida durante o final da

gestação sobre os estoques de retinol no fígado do par, vaca e bezerro, e evidenciar as principais limitações do uso sobre o metabolismo e desempenho animal.

6 UTILIZAÇÃO DA VITAMINA A

6.1 Administração de vitamina A no final da gestação

O surgimento de células progenitoras adipogênicas começam a surgir na região intramuscular durante o meio para final da gestação (Du et al., 2023). O ácido retinóico aumenta o comprometimento adipogênico, que promove uma oportunidade para aumentar a proliferação de células progenitoras de gordura intramuscular (IMF) (Harris, et al., 2018; Jin et al., 2024). Como a miogênese secundária em bovinos acontece durante o terço médio, por volta de 150 dias de gestação, o tratamento com ácido retinóico durante esse período pode estimular o desenvolvimento muscular (Du et al., 2017). Por outro lado, a adipogênese nos depósitos de gordura subcutânea, visceral e intramuscular também estão ativos nesse período, o ácido retinóico pode aumentar a população de células progenitoras de adipócitos nesse período. Além disso, como células miogênicas e adipogênicas originam-se de um *pool* comum de células progenitoras, o tratamento embrionário precoce com ácido retinóico pode alterar a população de ambos os processos fisiológicos (Yu, et al., 2022; Song et al., 2024).

No entanto, embora a transferência placentária de retinol seja considerada limitada, estudos demonstram que neonatos nascem com reservas hepáticas detectáveis de vitamina A (Collins et al., 1994), evidenciando que a placenta é capaz de transportar retinoides de forma regulada e seletiva. Durante a organogênese inicial, a concentração de retinoides no tecido placentário pode ser até oito vezes maior do que no embrião, sugerindo que a placenta atua como um reservatório transitório, liberando quantidades adequadas de retinoides ao embrião ao longo da gestação (Merceau et al., 2007). Corroborando essa hipótese, Kankofer e Albera (2008) observaram maiores concentrações de retinol na porção fetal da placenta em comparação à porção materna, além de aumento substancial nos níveis de retinol no colostro. De forma semelhante, Speer et al. (2004) demonstraram que aproximadamente 60% da vitamina A presente no colostro é derivada da dieta materna no final da gestação, enquanto os 40% restantes são provenientes da mobilização das reservas hepáticas maternas. Completando esses achados, Loftollahzadeh e Golchin (2016) observaram que bezerros nascidos de mães que foram suplementadas com 2.000.000 UI de vitamina A via injeção intramuscular apresentaram maiores concentrações plasmáticas de retinol pré-colostro variando de 90,6 a 93,1 ug/dL em

comparação com apenas 35,5 ug/dL no grupo controle. Em conjunto, esses achados confirmam que embora a transferência placentária de vitaminas lipossolúveis seja limitada, a suplementação materna no final da gestação pode promover aumentos biológicos e estatisticamente significativos no status de vitamina A neonatal.

Pesquisas com vacas Taurinas reportaram maior peso corporal ao nascimento de bezerros de vacas que receberam suplementação dietética de vitamina A no final da gestação (Jin et al. 2023). Em outro estudo, o tratamento com ácido retinóico dos 150 dias de gestação até o parto afetou a miogênese e adipogênese intramuscular. No músculo *longissimus dorsi* o gene *Klf2* foi regulado positivamente, indicando uma maior taxa de proliferação aumenta em células progenitoras, assim como maior expressão dos genes marcadores miogênicos *MyoD* e *Myf5* (Jo et al., 2020). Além do mais, foi constatado diminuição dos níveis séricos de vitamina A após o parto, devido a sua utilização para o crescimento fetal, e as necessidades nutricionais da fêmea aumentada durante a lactação.

Dieta enriquecida com vitamina A no final da gestação em vacas Angus x Simental não apresentou efeitos sobre as características de crescimento pós-natal, porém a partir do desmame até ao abate houve diferença no incremento de gordura intramuscular, efeito esse devido a maior expressão de genes relacionados receptor de ácido retinóico (*RXRβ*) e abundância proteica de marcadores adipogênicos (*DLK1* e *PPARγ*) (Dean et al., 2024). Oliveira et al. 2026 investigou o efeito da vitamina A no final da gestação em vacas da raça *B. Indicus* x *B. Taurus* na forma injetável, observou diferenças significativas no peso ao desmame e características de carcaça para novilhos machos de mães suplementadas. No estudo, a análise de expressão gênica revelou regulação positiva de marcadores do metabolismo da vitamina A (*RARα*), miogênicos (*MYF5* e *PAX7*) e adipogênicos (*ZNF423*, *CEBPα* e *DLK1*) em bezerros do grupo vacas VA em comparação com bezerros que receberam injeção de VA na fase neonatal. A injeção de VA durante o final da gestação ou início da vida pós-natal melhorou o crescimento muscular e teve um efeito mais pronunciado na expressão gênica muscular, particularmente em bezerros machos. Ademais, vale ressaltar que até o presente momento este foi o único estudo que avaliou o efeito da vitamina A em raças Zebuínas x Taurinas, destacando assim a importância para mais pesquisas que investiguem o efeito de raças e períodos da gestação.

Tabela 2. Estudos (n = 04) relatando efeitos positivos (+) ou negativos (–), ou nenhuma diferença (ND; P > 0.05) no peso corporal ao nascer (PC), peso ao desmame, características da

carcaça e marmoreio em bovinos corte suplementados com vitamina A na gestação ou fase neonatal.

Estudo	Período	Vitamina A (UI)	Peso ao nascimento	Peso ao desmame	Características de carcaça	Marmoreio
Dean et al. 2018	Final da gestação	12.200 UI/Kg – dieta (180d gestação ao parto)	ND	ND	ND	+
Jo et al. 2020	Final da gestação	100.000 UI/d - dieta 225d ao parto	+	Não reportado	Não reportado	Não reportado
Jin et al. 2023	Final da gestação	22.800 UI/kg- fetal 53.000 UI/d - neonatal	+	+	ND	Não reportado
Ladeira et al. 2024	Final da gestação	2.000.000– única dose (250d gestação ao parto)	Não reportado	+/-	+	+/-
Oliveira et al. 2026	Fase gestacional/ neonatal	2.000.000– única dose (250d gestação ao parto)	Não reportado	+	+	Não reportado

6.2 Vitamina A sobre a produção e qualidade do leite

Em vacas de corte, durante o período de lactação há uma incidência maior de doenças como mastite, quando os mecanismos de defesa são comprometidos. Durante a lactação, as células epiteliais mamárias sofrem uma alta taxa metabólica e, portanto, produzem quantidade excessiva de espécies reativas de oxigênio (ROS) (Tufarelli et al., 2023). A vitamina A (VA) e seu precursor, o betacaroteno, podem atuar de forma independente em eliminar radicais de oxigênio e incorporado nas células alvos para execução de sua funcionalidade (Jin et al., 2014a). Portanto, a suplementação de vitamina A nas dietas de vacas gestantes e/ou lactação pode ser importante sobre a capacidade antioxidante, produção e qualidade do leite, e saúde da matriz que pode impactar diretamente no desempenho da prole.

Em vacas leiteiras, foi relatado que a suplementação da dieta com 220 UI de VA/kg de peso corporal (recomendação (NRC,2001), 110 UI de VA/kg PC) pode promover funções antioxidante e melhora nas funções imunológicas (Jin et al., 2014a). No presente estudo, embora a adição da VA tenha resultado em uma produção de leite, gordura, proteína, lactose ou sólidos não gordurosos ligeiramente maior do que o controle as diferenças não foram significativas. Por outro lado, a concentração de vitamina A ($\mu\text{g/mL}$) no leite aumentou 60% e 25% ao 30 dia lactação e 60 dias de lactação, respectivamente. Puvogel et al. (2005) ao adicionar 880.000 UI/d (8x mais que a exigência) por até 2 meses durante o período seco em vacas de leite, não afetou significativamente a produção de leite corrigida para energia e a produção de gordura do leite ao longo de 100 dias na lactação.

A suplementação de vitamina A em diferentes doses LVA (sem suplementação), CON (75.000 UI/d) e HVA (187.500 UI/d 2,5 vezes maior que a exigência) em vacas leiteiras em transição, não teve efeito na produção de leite e composição do leite durante o período pós-parto. Esse resultado é apoiado pela falta de diferença observada no CMS, ECC e metabólitos sanguíneos entre os tratamentos. Dessa forma, apesar de não haver diferença na composição, observaram efeito linear na concentração de gordura do leite (4.49; 4.77 e 5.12 %) no período pós-parto (30 dias) conforme a suplementação de VA aumentou. No entanto, a falta de diferença na produção de gordura (kg/d) sugere que a diferença nas concentrações ocorreu devido a diluição, onde a produção de leite ser numericamente menor HVA do que LVA e CON (Rodriguez et al., 2023).

Outra hipótese para ausência de diferença é sugerida que vacas que receberam baixa ingestão de vitamina A (LVA) não atingiram um status de VA corporal deficiente, que pode refletir consequentemente nos parâmetros plasmáticos sanguíneos e composição do leite. Estudos Buenfil et al. 2008 concluíram que alimentar vacas com dieta abaixo (sem VA suplementar) por mais de 168 dias, mas não inferior que 145 dias, pode diminuir as concentrações séricas de retinol e hepático em bovinos de corte. Portanto, em termos comparativos entre os tratamentos, alimentar bovinos com uma dieta sem VA suplementar por apenas 45 dias pode resultar em menores estoques plasmáticos, mas não deficiência no corpo. Em contraste, Zhao et al. (2008) evidenciaram que ao suplementar com 125.000 UI/d de VA houve aumento significativo na produção de leite. Esses achados sugerem que o efeito da vitamina A na produção do leite podem estar associados à dose. Embora a suplementação de vitamina A aumente o teor de vitamina A no leite e nas reservas corporais da vaca, ela não afeta negativamente a produção de leite ou a composição da gordura.

Speer et al. (2024) ao suplementar vacas de corte com diferentes níveis (3X = 93.000 IU/d; 5X = 155.000 IU/d) em relação ao nível de exigência de manutenção (1X = 31.000 IU/d) preconizado pelo NASEM (2016), observaram que a concentração de retinol no fígado da vaca e bezerro não atingiram a faixa de referência adequada (100 µg/g de MS). Assim, a alimentação com menos de 93.000 UI/d para vacas que estavam em status adequado pode não resultar em concentrações suficientes de vitamina A no colostro para o bezerro. Visto que, as concentrações no fígado e ingestão vitamina A na dieta afetam o status de vitamina A no bezerro, em razão de 60% e 40% de contribuições da vitamina A para o colostro virem da dieta e estoques no fígado, respectivamente (Branstetter et al., 1973; Tomlinson et al., 1974).

Os níveis de carotenoides no colostro e no sangue apresentam mudanças durante as 24 horas pós-parto. No final da gestação, as concentrações de b-caroteno e retinol diminuem acentuadamente e aumentam durante a lactação, que pode ser explicado pela rápida transferência para o colostro. Em estudos, Albera et al. (2008) observaram que os níveis plasmáticos de retinol aumentam 24h após o parto em comparação com o tempo zero nas mães (16,942 vs 20,56 µg/g proteína), mas permanecem inalterados em recém-nascidos. Por outro lado, as concentrações no colostro aumentam entre os períodos avaliados (12,17 vs 21,88 µg/g proteína). Dentro de 24 horas a concentração de b-caroteno aumentou no sangue do recém-nascido junto com a diminuição no sangue materno, mostrando correlação positiva entre sangue e colostro. Essas relações podem afirmar a possibilidade de transporte de carotenoides do sangue para glândula mamária, assim como o metabolismo local do b-caroteno.

Pesquisas indicam que o colostro contém concentrações de vitamina A de seis a quatorze vezes maiores do que o leite normal, ressaltando sua importância para a saúde dos bezerros neonatais (Speer et al., 2024). Garantir níveis adequados de vitamina A em vacas de corte, especialmente durante o final da gestação e o início da lactação, é vital para produzir colostro rico em vitamina A. Essa prática apoia a transferência de nutrientes essenciais para os bezerros, reforçando seus sistemas imunológicos e promovendo um desenvolvimento saudável. Ademais, há evidências de que a idade e paridade podem influenciar a concentração de vitamina A no colostro e leite. Kumagai et al. (2001) relataram que vacas primíparas apresentam 2,3 vezes mais concentração de vitamina A no colostro quando comparado com múltíparas, o que pode ser explicado por vacas múltíparas ter apresentado maior produção de colostro ($4,7 \pm 1,3$ kg vs. $6,2 \pm 2,6$ kg). Outra possível explicação pode estar relacionada a vacas primíparas apresentarem um sistema imunológico mais reativo e, portanto, produzir colostro com maior concentração de anticorpos e nutrientes, incluindo vitamina A.

Além disso, o leite materno desempenha um papel essencial no desenvolvimento e no desempenho da prole, sendo sua composição determinante para garantir um crescimento saudável e eficiente dos recém-nascidos (Speer et al., 2024). Entre os principais constituintes do leite que influenciam diretamente a prole, destacam-se as proteínas, gorduras, carboidratos, vitaminas, minerais e fatores imunológicos. As proteínas do leite, como a caseína e a lactalbumina, são fundamentais para o crescimento muscular e o desenvolvimento dos tecidos. Elas fornecem aminoácidos essenciais que não podem ser sintetizados pelo organismo dos recém-nascidos, contribuindo para a construção celular e a manutenção da saúde. As gorduras presentes no leite são uma fonte primária de energia para os neonatos. Elas contêm ácidos

graxos essenciais, como o ácido linoleico e o ácido linolênico, que desempenham um papel crucial no desenvolvimento do sistema nervoso e na formação das membranas celulares. Os carboidratos, com destaque para a lactose, são responsáveis pelo fornecimento de energia imediata e também desempenham um papel importante na absorção de cálcio e no desenvolvimento da microbiota intestinal saudável. A lactose é hidrolisada em glicose e galactose, sendo esta última essencial para a formação do sistema nervoso central.

REFERÊNCIAS

- Bastien, J., Rochette-Egly, C., 2004. Nuclear retinoid receptors and the transcription of retinoid-target genes. *Gene*. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2003.12.005>
- Beard, R.L., Duong, T.T., Teng, M., Klein, E.S., Standevan, A.M., Chandraratna, R.A.S., n.d. Synthesis and Biological Activity of Retinoic Acid Receptor-Specific Amides.
- Berry, D.C., DeSantis, D., Soltanian, H., Croniger, C.M., Noy, N., 2012. Retinoic acid upregulates preadipocyte genes to block adipogenesis and suppress diet-induced obesity. *Diabetes* 61, 1112–1121. <https://doi.org/10.2337/db11-1620>
- Berry, D.C., Soltanian, H., Noy, N., 2010. Repression of cellular retinoic acid-binding protein II during adipocyte differentiation. *Journal of Biological Chemistry* 285, 15324–15332. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.110635>
- Blomhoff, R., 1994. Transport and Metabolism of Vitamin A. *Nutr Rev* 52, S13–S23. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1994.tb01382.x>
- Bonnet, M., Cassar-Malek, I., Chilliard, Y., Picard, B., 2010. Ontogenesis of muscle and adipose tissues and their interactions in ruminants and other species. *Animal* 4, 1093–1109. <https://doi.org/10.1017/S1751731110000601>
- Borel, P., Lietz, G., Goncalves, A., Edelenyi, F.S. de, Lecompte, S., Curtis, P., Goumidi, L., Caslake, M.J., Miles, E.A., Packard, C., Calder, P.C., Mathers, J.C., Minihane, A.M., Tourniaire, F., Kesse-Guyot, E., Galan, P., Hercberg, S., Breidenassel, C., Gross, M.G., Moussa, M., Meirhaeghe, A., Reboul, E., 2013. CD36 and sr-bi are involved in cellular uptake of provitamin a carotenoids by caco-2 and hek cells, and some of their genetic variants are associated with plasma concentrations of these micronutrients in humans. *Journal of Nutrition* 143, 448–456. <https://doi.org/10.3945/jn.112.172734>
- Cabezuelo, M.T., Zaragoza, R., Barber, T., Viña, J.R., 2020. Role of vitamin A in mammary gland development and lactation. *Nutrients*. <https://doi.org/10.3390/nu12010080>
- Carazo, A., Macáková, K., Matoušová, K., Krčmová, L.K., Protti, M., Mladěnka, P., 2021. Vitamin a update: Forms, sources, kinetics, detection, function, deficiency, therapeutic use and toxicity. *Nutrients*. <https://doi.org/10.3390/nu13051703>
- Conserva, M.R., Anelli, L., Zagaria, A., Specchia, G., Albano, F., 2019. The pleiotropic role of retinoic acid/retinoic acid receptors signaling: From vitamin A metabolism to gene rearrangements in acute promyelocytic Leukemia. *Int J Mol Sci*. <https://doi.org/10.3390/ijms20122921>

- Cooke, R.F., 2019. Effects on Animal Health and Immune Function. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2019.02.004>
- Costa, Gionbelli, M.P., Duarte, M. de S., 2021. Fetal programming in ruminant animals: understanding the skeletal muscle development to improve meat quality. *Animal Frontiers* 11, 66–73. <https://doi.org/10.1093/af/vfab061>
- Cui, T., Huang, J., Sun, Y., Ning, B., Mu, F., You, X., Guo, Y., Li, H., Wang, N., 2021. KLF2 Inhibits Chicken Preadipocyte Differentiation at Least in Part via Directly Repressing PPAR γ Transcript Variant 1 Expression. *Front Cell Dev Biol* 9. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.627102>
- Davenport, K.M., Ortega, M.S., Johnson, G.A., Seo, H., Spencer, T.E., 2023. Review: Implantation and placentation in ruminants. *Animal*. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2023.100796>
- Dawson, M.I., Xia, Z., 2012. The retinoid X receptors and their ligands. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2011.09.014>
- De Jager, N., Hudson, ‡ N J, Reverter, § A, Barnard, § R, Cafe, L.M., Greenwood, # P L, Dalrymple, B.P., 2013. Gene expression phenotypes for lipid metabolism and intramuscular fat in skeletal muscle of cattle 1. *J. Anim. Sci* 91, 1112–1128. <https://doi.org/10.2527/jas2012-5409>
- Dean, S., Gomes, M., Silva, W., Steele, M., Wood, K., Du, M., Costa, T., Serão, N., Gionbelli, M., Duarte, M., 2024. Vitamin A–Enriched Diet at Late Gestation Affects Intramuscular Fat Deposition in Beef Offspring. *Meat and Muscle Biology* 8. <https://doi.org/10.22175/mmb.17646>
- Du, M., Huang, Y., Das, A.K., Yang, † Q, Duarte, M.S., Dodson, M. V, Zhu, M.-J., 2013. Manipulating mesenchymal progenitor cell differentiation to optimize performance and carcass value of beef cattle. *J. Anim. Sci* 91, 1419–1427. <https://doi.org/10.2527/jas2012-5670>
- Du, M., Rahardja, D.P., 2023. Vitamin A, a Critical Nutrient for Improving Efficiency and Quality of Beef Cattle Production, in: *AIP Conference Proceedings*. American Institute of Physics Inc. <https://doi.org/10.1063/5.0143970>
- Du, M., Tong, J., Zhao, J., Underwood, K.R., Zhu, M., Ford, S.P., Nathanielsz, P.W., 2010a. Fetal programming of skeletal muscle development in ruminant animals. *J Anim Sci*. <https://doi.org/10.2527/jas.2009-2311>
- Du, M., Tong, J., Zhao, J., Underwood, K.R., Zhu, M., Ford, S.P., Nathanielsz, P.W., 2010b. Fetal programming of skeletal muscle development in ruminant animals. *J Anim Sci*. <https://doi.org/10.2527/jas.2009-2311>
- Dunlap, K.A., Brown, J.D., Keith, A.B., Satterfield, M.C., 2015. Factors controlling nutrient availability to the developing fetus in ruminants. *J Anim Sci Biotechnol*. <https://doi.org/10.1186/s40104-015-0012-5>
- Eroglu, A., Hruszkewycz, D.P., Dela Sena, C., Narayanasamy, S., Riedl, K.M., Kopec, R.E., Schwartz, S.J., Curley, R.W., Harrison, E.H., 2012. Naturally occurring eccentric cleavage products of provitamin A β -carotene function as antagonists of retinoic acid receptors. *Journal of Biological Chemistry* 287, 15886–15895. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.325142>
- Fukumura, D., Ushiyama, A., Duda, D.G., Xu, L., Tam, J., Krishna, V., Chatterjee, K., Garkavtsev, I., Jain, R.K., 2003. Paracrine regulation of angiogenesis and adipocyte

differentiation during in vivo adipogenesis. *Circ Res* 93. <https://doi.org/10.1161/01.res.0000099243.20096.f0>

Gilbert, C.D., Lunt, D.K., Miller, R.K., Smith, S.B., 2003. Carcass, sensory, and adipose tissue traits of Brangus steers fed casein-formaldehyde-protected starch and/or canola lipid 1, *J. Anim. Sci.*

Gupta, R.K., Arany, Z., Seale, P., Mepani, R.J., Ye, L., Conroe, H.M., Roby, Y.A., Kulaga, H., Reed, R.R., Spiegelman, B.M., 2010. Transcriptional control of preadipocyte determination by Zfp423. *Nature* 464, 619–623. <https://doi.org/10.1038/nature08816>

Han, J., Lee, J.E., Jin, J., Lim, J.S., Oh, N., Kim, K., Chang, S.I., Shibuya, M., Kim, H., Koh, G.Y., 2011. The spatiotemporal development of adipose tissue. *Development* 138, 5027–5037. <https://doi.org/10.1242/dev.067686>

Harris, C.L., Wang, B., Deavila, J.M., Busboom, J.R., Maquivar, M., Parish, S.M., McCann, B., Nelson, M.L., Du, M., 2018. Vitamin A administration at birth promotes calf growth and intramuscular fat development in Angus beef cattle. *J Anim Sci Biotechnol* 9. <https://doi.org/10.1186/s40104-018-0268-7>

Harrison, E.H., 2005. Mechanisms of digestion and absorption of dietary vitamin A. *Annu Rev Nutr.* <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.25.050304.092614>

Herold, J., Kalucka, J., 2021. Angiogenesis in Adipose Tissue: The Interplay Between Adipose and Endothelial Cells. *Front Physiol.* <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.624903>

Hoashi, S., Hinenoya, T., Tanaka, A., Ohsaki, H., Sasazaki, S., Taniguchi, M., Oyama, K., Mukai, F., Mannen, H., 2008. Association between fatty acid compositions and genotypes of FABP4 and LXR-alpha in Japanese Black cattle. *BMC Genet* 9. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-9-84>

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

Hongfang, G., Khan, R., Raza, S.H.A., Nurgulsim, K., Suhail, S.M., Rahman, A., Ahmed, I., Ijaz, A., Ahmad, I., Linsen, Z., 2022. Transcriptional regulation of adipogenic marker genes for the improvement of intramuscular fat in Qinchuan beef cattle. *Anim Biotechnol.* <https://doi.org/10.1080/10495398.2020.1837847>

Huang, P., Schulz, T.J., Beauvais, A., Tseng, Y.H., Gussoni, E., 2014. Intramuscular adipogenesis is inhibited by myo-endothelial progenitors with functioning Bmpr1a signalling. *Nat Commun* 5. <https://doi.org/10.1038/ncomms5063>

Huang, Y., Das, A.K., Yang, Q.Y., Zhu, M.J., Du, M., 2012. Zfp423 Promotes Adipogenic Differentiation of Bovine Stromal Vascular Cells. *PLoS One* 7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047496>

Hussain, M.M., 2014. Intestinal lipid absorption and lipoprotein formation. *Curr Opin Lipidol.* <https://doi.org/10.1097/MOL.0000000000000084>

Iqbal, J., Walsh, M.T., Hammad, S.M., Cuchel, M., Tarugi, P., Hegele, R.A., Davidson, N.O., Rader, D.J., Klein, R.L., Hussaina, M.M., 2015. Microsomal triglyceride transfer protein transfers and determines plasma concentrations of ceramide and sphingomyelin but not

- glycosylceramide. *Journal of Biological Chemistry* 290, 25863–25875. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.659110>
- Jin, L., Yan, S., Shi, B., Bao, H., Gong, J., Guo, X., Li, J., 2014. Effects of vitamin A on the milk performance, antioxidant functions and immune functions of dairy cows. *Anim Feed Sci Technol* 192, 15–23. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.03.003>
- Jones, H.N., Powell, T.L., Jansson, T., 2007. Regulation of Placental Nutrient Transport - A Review. *Placenta* 28, 763–774. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2007.05.002>
- Kanai, M., Raz, A., Goodman, D.S., 1968. Retinol-binding protein: the transport protein for vitamin A in human plasma. *J Clin Invest* 47, 2025–2044. <https://doi.org/10.1172/JCI105889>
- Kumar, S., Sandell, L.L., Trainor, P.A., Koentgen, F., Duester, G., 2012. Alcohol and aldehyde dehydrogenases: Retinoid metabolic effects in mouse knockout models. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2011.04.004>
- Ladeira, M.M., Schoonmaker, J.P., Gionbelli, M.P., Dias, J.C.O., Gionbelli, T.R.S., Carvalho, J.R.R., Teixeira, P.D., 2016. Nutrigenomics and beef quality: A review about lipogenesis. *Int J Mol Sci*. <https://doi.org/10.3390/ijms17060918>
- Ladeira, M.M., Schoonmaker, J.P., Swanson, K.C., Duckett, S.K., Gionbelli, M.P., Rodrigues, L.M., Teixeira, P.D., 2018a. Review: Nutrigenomics of marbling and fatty acid profile in ruminant meat. *Animal*. <https://doi.org/10.1017/S1751731118001933>
- Ladeira, M.M., Schoonmaker, J.P., Swanson, K.C., Duckett, S.K., Gionbelli, M.P., Rodrigues, L.M., Teixeira, P.D., 2018b. Review: Nutrigenomics of marbling and fatty acid profile in ruminant meat. *Animal*. <https://doi.org/10.1017/S1751731118001933>
- Liu, X., Zhao, H., Jin, Q., You, W., Cheng, H., Liu, Y., Song, E., Liu, G., Tan, X., Zhang, X., Wan, F., 2018. Resveratrol induces apoptosis and inhibits adipogenesis by stimulating the SIRT1-AMPK α -FOXO1 signalling pathway in bovine intramuscular adipocytes. *Mol Cell Biochem* 439, 213–223. <https://doi.org/10.1007/s11010-017-3149-z>
- Lopes, R.C., Sampaio, C.B., Trece, A.S., Teixeira, P.D., Gionbelli, T.R.S., Santos, L.R., Costa, T.C., Duarte, M.S., Gionbelli, M.P., 2020. Impacts of protein supplementation during late gestation of beef cows on maternal skeletal muscle and liver tissues metabolism. *Animal* 14, 1867–1875. <https://doi.org/10.1017/S1751731120000336>
- Luna, R.C.P., Costa, M.J. de C., 2013. Vitamina A e sua relação com níveis glicêmicos: aspectos metabólicos e perspectivas na prevenção da disglucemia. *Rev Bras Nutr Clin* 28, 142.
- Maciel, F.C., Machado Neto, O.R., Duarte, M.S., Du, M., Lage, J.F., Teixeira, P.D., Martins, C.L., Domingues, E.H.R., Fogaça, L.A., Ladeira, M.M., 2022a. Effect of vitamin A injection at birth on intramuscular fat development and meat quality in beef cattle. *Meat Sci* 184. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108676>
- Maciel, F.C., Machado Neto, O.R., Duarte, M.S., Du, M., Lage, J.F., Teixeira, P.D., Martins, C.L., Domingues, E.H.R., Fogaça, L.A., Ladeira, M.M., 2022b. Effect of vitamin A injection at birth on intramuscular fat development and meat quality in beef cattle. *Meat Sci* 184. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108676>
- Martins, T.S., Sanglard, L.M.P., Silva, W., Chizzotti, M.L., Rennó, L.N., Serão, N.V.L., Silva, F.F., Guimarães, S.E.F., Ladeira, M.M., Dodson, M. V., Du, M., Duarte, M.S., 2015. Molecular factors underlying the deposition of intramuscular fat and collagen in skeletal muscle of Nellore and angus cattle. *PLoS One* 10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0139943>

- Miyamoto, J., Hasegawa, S., Kasubuchi, M., Ichimura, A., Nakajima, A., Kimura, I., 2016. Nutritional signaling via free fatty acid receptors. *Int J Mol Sci*. <https://doi.org/10.3390/ijms17040450>
- Napoli, J.L., 2017. Cellular retinoid binding-proteins, CRBP, CRABP, FABP5: Effects on retinoid metabolism, function and related diseases. *Pharmacol Ther*. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2017.01.004>
- Nascimento, K.B., Galvão, M.C., Meneses, J.A.M., Ramírez-Zamudio, G.D., Pereira, D.G., Paulino, P.V.R., Casagrande, D.R., Gionbelli, T.R.S., Ladeira, M.M., Duarte, M.S., Lóor, J.J., Gionbelli, M.P., 2024. Maternal protein supplementation during mid-gestation improves offspring performance and metabolism in beef cows. *J Anim Sci* 102. <https://doi.org/10.1093/jas/skae058>
- Noy, N., 2013. The one-two punch: retinoic acid suppresses obesity both by promoting energy expenditure and by inhibiting adipogenesis. *Hart's E and P*. <https://doi.org/10.4161/adip.23489>
- Oliveira, D.M., Chalfun-Junior, A., Chizzotti, M.L., Barreto, H.G., Coelho, T.C., Paiva, L. V, Coelho, # C P, Teixeira, P.D., Schoonmaker, J.P., Ladeira, M.M., 2014. Expression of genes involved in lipid metabolism in the muscle of beef cattle fed soybean or rumen-protected fat, with or without monensin supplementation 1. *J. Anim. Sci* 92, 5426–5436. <https://doi.org/10.2527/jas2014-7855>
- Ong, D.E., Chytil, F., 1978. Cellular Retinol-binding Protein from Rat Liver PURIFICATION AND CHARACTERIZATION*, *The JOURNAL of BIOLOGICAL CHEMISTRY*.
- Parker, R.S., 1996. Absorption, metabolism, and transport of carotenoids. *The FASEB Journal* 10, 542–551. <https://doi.org/10.1096/fasebj.10.5.8621054>
- Pickworth, C.L., Loerch, S.C., Fluharty, F.L., 2012. Effects of timing and duration of dietary vitamin A reduction on carcass quality of finishing beef cattle 1. <https://doi.org/10.2527/jas2011-4756>
- Puvogel, G., Baumrucker, C.R., Sauerwein, H., Rühl, R., Ontsouka, E., Hammon, H.M., Blum, J.W., 2005. Effects of an enhanced vitamin A intake during the dry period on retinoids, lactoferrin, IGF system, mammary gland epithelial cell apoptosis, and subsequent lactation in dairy cows. *J Dairy Sci* 88, 1785–1800. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72853-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72853-8)
- Quadro, L., Giordano, E., Costabile, B.K., Nargis, T., Iqbal, J., Kim, Y., Wassef, L., Hussain, M.M., 2020. Interplay between β -carotene and lipoprotein metabolism at the maternal-fetal barrier. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2019.158591>
- Quadro, L., Spiegler, E.K., 2020. Maternal-Fetal Transfer of Vitamin A and Its Impact on Mammalian Embryonic Development, in: *Subcellular Biochemistry*. Springer, pp. 27–55. https://doi.org/10.1007/978-3-030-42282-0_2
- Quick, T.C., Ong, D.E., 1990. Vitamin A Metabolism in the Human Intestinal Caco-2 Cell Line.
- Ramírez-Zamudio, G.D., da Cruz, W.F.G., Schoonmaker, J.P., de Resende, F.D., Siqueira, G.R., Machado Neto, O.R., Gionbelli, T.R.S., Teixeira, P.D., Rodrigues, L.M., Gionbelli, M.P., Ladeira, M.M., 2022. Effect of rumen-protected fat on performance, carcass characteristics and beef quality of the progeny from Nellore cows fed by different planes of nutrition during gestation. *Livest Sci* 258. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2022.104851>

- Raza, S.H.A., Pant, S.D., Wani, A.K., Mohamed, H.H., Khalifa, N.E., Almohaimeed, H.M., Alshanwani, A.R., Assiri, R., Aggad, W.S., Noreldin, A.E., Abdelnour, S.A., Wang, Z., Zan, L., 2022. Krüppel-like factors family regulation of adipogenic markers genes in bovine cattle adipogenesis. *Mol Cell Probes*. <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2022.101850>
- Reichert, B., Yasmeen, R., Jeyakumar, S.M., Yang, F., Thomou, T., Alder, H., Duester, G., Maisseyeu, A., Mihai, G., Harrison, E.H., Rajagopalan, S., Kirkland, J.L., Ziouzenkova, O., 2011. Concerted action of aldehyde dehydrogenases influences depot-specific fat formation. *Molecular Endocrinology* 25, 799–809. <https://doi.org/10.1210/me.2010-0465>
- Rodriguez, M., Enger, B.D., Weiss, W.P., Lee, K., Lee, C., 2023. Effects of different vitamin A supplies on performance and the risk of ketosis in transition cows. *J Dairy Sci* 106, 2361–2373. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22491>
- Rollin, X., Médale, F., Gutieres, S., Blanc, D., Kaushik, S.J., 2003. Short- and long-term nutritional modulation of acetyl-CoA carboxylase activity in selected tissues of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *British Journal of Nutrition* 89, 803–810. <https://doi.org/10.1079/bjn2003844>
- Sakai, A., Imai, M., Takahashi, K., Hasegawa, S., Yamasaki, M., Ohba, T., Takahashi, N., 2017. Protein kinase A activation by retinoic acid in the nuclei of HL60 cells. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1861, 276–285. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2016.11.039>
- Seo, J.B., Moon, H.M., Noh, M.J., Lee, Y.S., Jeong, H.W., Yoo, E.J., Kim, W.S., Park, J., Youn, B.S., Kim, J.W., Park, S.D., Kim, J.B., 2004. Adipocyte determination- and differentiation-dependent factor 1/sterol regulatory element-binding protein 1c regulates mouse adiponectin expression. *Journal of Biological Chemistry* 279, 22108–22117. <https://doi.org/10.1074/jbc.M400238200>
- Smith, S.B., Crouse, J.D., 1984. Relative contributions of acetate, lactate and glucose to lipogenesis in bovine intramuscular and subcutaneous adipose tissue. *Journal of Nutrition* 114, 792–800. <https://doi.org/10.1093/jn/114.4.792>
- Speer, H.F., Wilke, K.H., Drewnoski, M.E., 2024. Effects of vitamin A supplementation on liver retinol concentrations of beef cows and their calves managed in confinement. *Applied Animal Science* 40, 619–626. <https://doi.org/10.15232/aas.2024-02564>
- Spencer, T.E., Hansen, T.R., 2015. Implantation and establishment of pregnancy in ruminants, in: *Advances in Anatomy Embryology and Cell Biology*. Springer Verlag, pp. 105–135. https://doi.org/10.1007/978-3-319-15856-3_7
- Spiegler, E., Kim, Y.K., Wassef, L., Shete, V., Quadro, L., 2012. Maternal-fetal transfer and metabolism of vitamin A and its precursor β -carotene in the developing tissues. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2011.05.003>
- Stehlin-Gaon, C., Willmann, D., Zeyer, D., Sanglier, S., Van Dorsselaer, A., Renaud, J.P., Moras, D., Schüle, R., 2003. All-trans retinoic acid is a ligand for the orphan nuclear receptor ROR β . *Nat Struct Biol* 10, 820–825. <https://doi.org/10.1038/nsb979>
- Tan, Z., Jiang, H., 2024. Molecular and Cellular Mechanisms of Intramuscular Fat Development and Growth in Cattle. *Int J Mol Sci*. <https://doi.org/10.3390/ijms25052520>
- Tanner, A.R., Bauer, M.L., Swanson, K.C., Kennedy, V.C., Kirsch, J.D., Gaspers, J., Negrin-Pereira, N., Fontoura, A.B.P., Perry, G.A., Stokka, G., Rodas-Gonzalez, A., Ward, A., Dahlen, C.R., Neville, B., Borowicz, P.P., Reynolds, L.P., Ominski, K.H., Vonnahme, K.A., 2023.

Influence of corn supplementation to beef cows during mid- to late-gestation: Supplementation decreases placental microvascular surface density but does not alter uterine blood flow or neonatal performance¹. *Livest Sci* 268. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2023.105155>

Tanoury, Z., Piskunov, A., Rochette-Egly, C., 2013. Vitamin a and retinoid signaling: Genomic and nongenomic effects. *J Lipid Res*. <https://doi.org/10.1194/jlr.R030833>

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

Thaller, G., Kühn, C., Winter, A., Ewald, G., Bellmann, O., Wegner, J., Zühlke, H., Fries, R., 2003. DGAT1, a new positional and functional candidate gene for intramuscular fat deposition in cattle. *Anim Genet* 34, 354–357. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2052.2003.01011.x>

Tufarelli, V., Colonna, M.A., Losacco, C., Puvača, N., 2023. Biological Health Markers Associated with Oxidative Stress in Dairy Cows during Lactation Period. *Metabolites*. <https://doi.org/10.3390/metabo13030405>

Uezumi, A., Ito, T., Morikawa, D., Shimizu, N., Yoneda, T., Segawa, M., Yamaguchi, M., Ogawa, R., Matev, M.M., Miyagoe-Suzuki, Y., Takeda, S., Tsujikawa, K., Tsuchida, K., Yamamoto, H., Fukada, S.I., 2011. Fibrosis and adipogenesis originate from a common mesenchymal progenitor in skeletal muscle. *J Cell Sci* 124, 3654–3664. <https://doi.org/10.1242/jcs.086629>

Vieira, M., Saraiva, M.J., 2014. Transthyretin: A multifaceted protein. *Biomol Concepts*. <https://doi.org/10.1515/bmc-2013-0038>

Vonnahme, K.A., Lemley, C.O., Caton, J.S., Meyer, A.M., 2015. Impacts of maternal nutrition on vascularity of nutrient transferring tissues during gestation and lactation. *Nutrients*. <https://doi.org/10.3390/nu7053497>

Wang, B., Fu, X., Liang, X., Wang, Z., Yang, Q., Zou, T., Nie, W., Zhao, J., Gao, P., Zhu, M.J., de Avila, J.M., Maricelli, J., Rodgers, B.D., Du, M., 2017a. Maternal Retinoids Increase PDGFR α + Progenitor Population and Beige Adipogenesis in Progeny by Stimulating Vascular Development. *EBioMedicine* 18, 288–299. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2017.03.041>

Wang, B., Fu, X., Zhu, M.J., Du, M., 2017b. Retinoic acid inhibits white adipogenesis by disrupting GADD45A-mediated Zfp423 DNA demethylation. *J Mol Cell Biol* 9, 338–349. <https://doi.org/10.1093/jmcb/mjx026>

Wang, B., Nie, W., Fu, X., de Avila, J.M., Ma, Y., Zhu, M.J., Maquivar, M., Parish, S.M., Busboom, J.R., Nelson, M.L., Du, M., 2018. Neonatal vitamin A injection promotes cattle muscle growth and increases oxidative muscle fibers. *J Anim Sci Biotechnol* 9. <https://doi.org/10.1186/s40104-018-0296-3>

Wang, B., Yang, Q., Harris, C.L., Nelson, M.L., Busboom, J.R., Zhu, M.J., Du, M., 2016. Nutrigenomic regulation of adipose tissue development — role of retinoic acid: A review. *Meat Sci* 120, 100–106. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.04.003>

Wang, Y.H., Bower, N.I., Reverter, A., Tan, S.H., De Jager, N., Wang, R., McWilliam, S.M., Cafe, L.M., Greenwood, P.L., Lehnert, S.A., 2009. Gene expression patterns during intramuscular fat development in cattle. *J Anim Sci* 87, 119–130. <https://doi.org/10.2527/jas.2008-1082>

CHAPTER 2

ARTICLE 1 - Effects of maternal vitamin A injection during late gestation on maternal physiology, offspring performance, and recruitment of cells for myogenesis and adipogenesis in offspring muscle tissue

Article formatted according to **Livestock Science** guidelines

Highlights

- Maternal vitamin A injection modulated fetal programming in beef cattle.
- Vitamin A injection increased milk yield and improved milk composition.
- Placental vascularization responses to vitamin A were sex-dependent.
- Vitamin A enhanced adipogenic cell recruitment in offspring muscle.
- Offspring from vitamin A treated cows showed greater muscular development.

ARTICLE 1- Effects of maternal vitamin A injection during late gestation on maternal physiology, offspring performance, and recruitment of cells for myogenesis and adipogenesis in offspring muscle tissue

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effects of maternal vitamin A injection during late gestation on placental adaptations, lactation performance, and offspring skeletal muscle development in Tabapuã beef cattle. The experiment was conducted over two years using 41 pregnant *Bos indicus* (Tabapuã) cows. At 245 days of gestation, cows were blocked by parity and assigned to one of two treatments: control without vitamin A injection (CON, $n = 21$) or vitamin A injection (VA, $n = 20$). Cows in the VA group received intramuscular injections of vitamin A (2,700,000 IU) at 245, 260, and 275 days of gestation. Data were analyzed using the MIXED procedure of SAS in a randomized complete block design with a 2×2 factorial arrangement (treatment $\times$ offspring sex). Maternal vitamin A injection tended to reduce gestation length in cows carrying female fetuses ($P = 0.07$) and decreased maternal body weight at 275 days of gestation ($P = 0.09$). Additionally, VA-treated cows carrying male fetuses exhibited greater plasma retinol concentrations at 275 days of gestation ($P < 0.10$). Male fetuses exhibited greater gestational gain (0.702 vs. 0.610 kg/day) and placental weight compared with females. VA-treated cows carrying female fetuses exhibited approximately 11.5% greater vascular area density and 20% greater capillary area than CON cows carrying female fetuses, along with greater *STRA6* expression ($P = 0.04$). A significant VA $\times$ Sex interaction was observed for birth weight ($P = 0.05$), in which female calves born from vitamin A-treated cows had lower birth weight. During lactation, vitamin A injection increased milk yield and milk fat and protein concentrations, with the greatest milk production observed in cows nursing male calves ($P = 0.02$). At weaning, male calves exhibited greater body weight ($P = 0.01$) and average daily gain ($P = 0.05$) compared with females. Calves born from VA-treated cows exhibited greater muscling index ($P = 0.01$) and tended to present greater longissimus muscle length ($P = 0.06$). In offspring skeletal muscle, maternal vitamin A injection upregulated genes associated with adipogenesis (*ZNF423* and *PPARG*) and myogenesis at birth (*PAX7*), characterized by increased adipogenic and myogenic indices and lower myostatin abundance. Male offspring exhibited greater activation of retinoic acid signaling (*ALDH1A2*) and myogenic pathways (*MYOG*). At weaning, offspring from vitamin A-treated cows maintained a greater adipogenesis:myogenesis balance ($P = 0.07$) and increased *Nfix* expression ($P = 0.10$), a transcription factor associated with muscle fiber formation. In summary, maternal vitamin A injection during late gestation modulated placental vascularization, improved milk production and composition, and stimulated adipogenic and myogenic programming of offspring skeletal muscle in a sex-dependent manner, indicating that prenatal vitamin A administration may enhance developmental and carcass-related traits in beef cattle.

Keywords: Fetal programming, Gene expression, Maternal–fetal metabolism, Muscle growth, Retinoic acid.

1. Introduction

Vitamin A (VA) plays a fundamental role in mammalian growth and development due to its involvement in cellular proliferation, differentiation, and tissue morphogenesis (Harris et al., 2018; Hossain and Du, 2026). During gestation, the developing embryo is entirely dependent on maternal retinoid supply because mammals are unable to synthesize vitamin A *de novo* (Kumar et al., 2012). Consequently, adequate maternal retinoid availability is essential to support fetal development, particularly during critical periods of organogenesis and tissue programming. In circulation, retinoids are transported primarily as retinol bound to retinol-binding protein (RBP), whereas hepatic reserves represent the main source of circulating retinol (Quadro and Spiegler, 2020; Spiegler et al., 2012). Although the physiological importance of vitamin A during pregnancy is well established, the mechanisms regulating maternal-fetal retinoid transfer and fetal utilization remain incompletely understood, especially in beef cattle production systems based on *Bos indicus* genetics.

Beyond its classical role in embryonic development, retinoic acid, the biologically active metabolite of vitamin A, has emerged as an important regulator of skeletal muscle and adipose tissue development (Dean et al., 2024; Maciel et al., 2022b; Oliveira et al., 2026). Prenatal life represents a critical window for both myogenesis and adipogenesis, as the proliferation and differentiation of myogenic precursor cells and intramuscular adipogenic progenitor cells during this stage largely determine postnatal growth performance and carcass characteristics (Du, 2023; Du et al., 2017). Retinoic acid acts through nuclear receptors that regulate the transcription of genes associated with cellular commitment and differentiation, thereby influencing the development of muscle fibers and adipocytes (Peng et al., 2020; Wang and Du, 2023; Yu et al., 2022). Previous evidence suggests that vitamin A may stimulate adipogenic lineage commitment and modulate pathways involved in muscle development (Jin et al., 2024) however, the molecular mechanisms underlying these responses during fetal development are still poorly characterized. In particular, little is known about how maternal vitamin A supplementation affects fetal tissue programming, placental retinoid transfer, and the expression of genes associated with myogenesis and adipogenesis in purebred Zebu cattle. This knowledge gap is particularly relevant because *Bos indicus* cattle constitute the foundation of beef production systems in tropical regions, including Brazil, and are generally characterized by lower intramuscular fat deposition compared with *Bos taurus* breeds. Consequently, nutritional strategies capable of enhancing prenatal adipogenic programming, even if resulting in modest biological responses, may have important practical and economic implications when applied to such a large and commercially relevant cattle population.

In this context, investigating vitamin A administration in pregnant beef cows may provide important insights into maternal-fetal retinoid metabolism and its potential role in developmental programming. Understanding how maternal retinoid status influences fetal muscle and adipose tissue development could contribute to the establishment of nutritional strategies capable of improving offspring growth efficiency and productive performance. Furthermore, additional studies are required to define appropriate vitamin A dosages and administration protocols during gestation, as well as to elucidate the long-term biological implications of retinoid-mediated fetal programming in beef production systems (Pereira et al., 2026).

Therefore, it is hypothesized that supplementation with high doses of vitamin A during late gestation increases maternal circulating retinol concentrations, enhancing placental transfer of retinol to the fetus and thereby improving offspring developmental performance. Furthermore, this strategy may stimulate the proliferation and differentiation of myogenic precursor cells and intramuscular adipogenic progenitor cells during prenatal muscle development, potentially favoring skeletal muscle growth and intramuscular adipocyte formation in the offspring. Based on this, the present study aimed to evaluate the effects of vitamin A injection in pregnant Tabapuã cows on maternal physiology, lactation, offspring performance, and gene expression during the cow-calf phase, while also investigating whether these responses differed according to offspring sex.

2. Material and methods

The experiment was conducted at the Beef Cattle Research Facilities of the Federal University of Lavras (UFLA), Lavras, Minas Gerais, Brazil. All experimental procedures were previously approved by the Ethics Committee on Animal Use (CEUA) of UFLA under Protocol N°. 050/25.

2.1. Experimental design, treatments, and pre- and postpartum management

This study was carried out in two experimental replicates: year 1 (2023–2024) and year 2 (2024–2025). Both trials were carried out at the Beef Cattle Research Facilities of the Department of Animal Sciences at UFLA. The same experimental management protocol was adopted in both years. During the prepartum period, 41 pregnant Tabapuã cows (*Bos indicus*; heifers and cows; Year 1 = 24; Year 2 = 19), with an initial body weight of 542 ± 15 kg and age between 2 and 4 years, were used. The study followed a randomized complete block design

with a 2×2 factorial arrangement, consisting of vitamin A injection treatments and offspring sexes. Cows were inseminated with semen from different sires based on the genetic merit of dams, and fetal sex determination was performed by ultrasonography at 60 days of gestation to allocate animals among treatments.

From pregnancy diagnosis (60 days after insemination) until 230 days of gestation, cows were maintained on *Urochloa decumbens* cv. Marandu pasture. At 231 days of gestation, cows were weighed and transferred to individual pens (20 m²) equipped with feed bunks and water troughs. The front portion of the pens, including the feed bunk line, had a concrete floor and was covered by a roof approximately 3 m in height, whereas the remaining area consisted of soil flooring. Subsequently, cows were randomly assigned to one of two experimental treatments: Pregnant cows were assigned to one of two treatments: 1) control cows without vitamin A injection (CON; $n = 21$), or 2) cows injected with vitamin A (VA; $n = 20$) at a dose equivalent to three times the maintenance requirement for pregnant beef cows according to NASEM (2016) ($3 \times 60,000$ IU/day). Vitamin A was administered as retinyl palmitate (Monovin A®, Bravet, Rio de Janeiro, Brazil) via intramuscular injection into the rump (gluteobiceps muscle) every 15 days during late gestation (245, 260, and 275 days of gestation), providing 2,700,000 IU of vitamin A per cow at each application. The dosage and application protocol of vitamin A were established based on previous studies in beef cattle (Maciel et al., 2022b; Oliveira et al., 2026), and the injection period was selected according to the theoretical intramuscular adipogenesis “marbling window” proposed by Du et al. (2013c).

Diets were formulated according to the nutritional requirements for pregnant beef cows recommended by NASEM (2016), using ingredients commonly adopted in Brazilian beef production systems. Ingredient and chemical composition of the experimental diets are presented in Table 1. Cows were fed ad libitum twice daily at 07:30 and 15:30 h. Orts were collected and weighed daily to estimate dry matter intake (DMI). Feed and orts samples collected during gestation were dried, ground, and chemically analyzed according to AOAC (2000) procedures. Near the expected calving date, cows were moved to larger individual maternity pens to provide an adequate calving environment.

The offspring consisted of 16 females ($n = 8$ VA; $n = 8$ CON) and 25 males ($n = 12$ VA; $n = 13$ CON). The unequal number of experimental units among treatments resulted from twins’ gestation and animal losses associated with external factors not related to experimental treatments. After calving, standard neonatal care procedures were performed, including umbilical cord disinfection with 10% iodine and ensuring colostrum intake within the first 24

h postpartum. During the first seven days after birth, cows and calves remained in the maternity paddock equipped with feed bunks and a communal water trough for postpartum care and monitoring. Seven days postpartum, cows and calves were allocated together to a *Urochloa decumbens* cv. Marandu pasture area (DM = 29.7%; CP = 13.0%; NDF = 62.6%), receiving only mineral supplementation at 5 to 7 g/kg BW without vitamin A inclusion. The assurance level per kilogram of product were: 110 g Ca, 61.60 mg Co, 519 mg Cu, 25 g S, 160 mg Fl, 16 g P, 30 mg I, 17g Mg, 1.412 mg Mn, 7.60 mg Se, 65 g Na, 2.200 mg Zn, 1.100 UI Vitamin D1, 10.000 10E⁶ UFC *Saccharomyces cerevisiae*, Monensin 4.000mg. The same pasture area was used during both experimental periods under a continuous grazing system management. Calves were weaned at 200 ± 10.4 days of age.

2.2. Maternal performance

Pregnant cows were weighed at 245, 260, and 275 days of gestation to determine body weight. Average daily gain (ADG) of pregnant cows was estimated considering the accumulation of maternal body reserves and gestational components according to Gionbelli et al. (2015). Maternal tissue gain was obtained from body weight measurements excluding the accumulation of gestational components. Thus, maternal tissue gain was calculated as the difference between initial and final body weight during the period divided by the duration of the experimental interval. Pregnant tissue gain (PREG) was defined as the increase in weight associated with the development of the gravid uterus and mammary gland during gestation, where PREG = gravid uterus + mammary gland growth resulting from pregnancy.

2.3. Blood vitamin A concentration

At 275 days of gestation, blood samples (10 mL) were collected via jugular venipuncture using EDTA-containing Vacutainer tubes (Becton Dickinson, Juiz de Fora, MG, Brazil) at 24h after vitamin A injection. Samples were immediately placed in insulated containers with ice packs and centrifuged at $3,000 \times g$ for 20 min in a light-protected room. Plasma was harvested and stored at -80°C for subsequent analysis.

Retinol concentration was determined from blood samples according to the method described by Giuliano et al. (1992). Dried extracts obtained from serum samples were dissolved in absolute ethanol, and 20 μL aliquots were injected into a high-performance liquid chromatography (HPLC) system. The mobile phase consisted of 100% methanol under isocratic conditions with a flow rate of 1.0 mL/min. Detection was performed at a wavelength of 325

nm. Retinol identification and quantification were established by comparing the chromatographic peak areas of samples with those of a retinol standard (Sigma®, MO, USA).

2.4. Placental measurements and histological analyses

Placentas were collected immediately after expulsion. After the placental weight was recorded, cotyledons were immediately dissected and one sample was placed into containers containing formalin solution for tissue fixation while the other sample was immediately frozen in liquid nitrogen and stored at -80 °C until gene expression analysis. Subsequently, cotyledons were counted and the respective diameters were measured. Placental efficiency was calculated as calf body weight (kg) divided by placental weight (kg).

To quantify placental microvasculature, cotyledons were fixed in formalin for 24 h. Tissue samples were washed three times in 0.1 M sodium phosphate buffer solution (pH 7.2) for 30 min and subsequently rinsed in distilled water for 1 h before dehydration. Samples were then dehydrated in increasing concentrations of ethanol (70, 80, 85, 90, 95, 100 I, and 100 II%) for 20 min each. Subsequently, samples were washed twice in xylene for 15 min and embedded in paraffin for 1 h. Samples were positioned in paraffin embedding molds according to fiber orientation to ensure tissue stability during histological sectioning. Microtomy was performed using a rotary microtome to obtain 3- μ m-thick sections. After several sequential cuts, the most suitable tissue ribbon was placed in heated water (~45 °C) and subsequently mounted onto glass slides. Slides were then incubated in an oven at 40 to 50 °C to melt the paraffin and improve tissue adherence before hematoxylin and eosin (H&E) staining, following the method described by Pluske et al. (1996).

Histological images from each section were obtained using an Olympus optical microscope equipped with a 20 $\times$ objective lens coupled to a digital camera with 300-DPI image resolution. Image analysis was performed using the ImageJ software package. At least three randomly selected polygons were drawn on each image to determine vascular area density (VAD, % = vascular area/unit tissue area; an estimate related to blood flow), vascular surface density (VSD, μ m²/unit tissue volume in μ m³; an estimate related to nutrient exchange), and area per capillary (APC, μ m²; a parameter related to capillary size and branching) (Tanner et al., 2023; Vonnahme et al., 2015).

2.5. *Controlled suckling, milk production and quality*

During the first seven days postpartum, milk production was estimated using the weigh-suckle-weigh technique. Calves were separated from their dams for an 8-h period while maintaining visual and olfactory contact. After the separation period, calves were returned to their dams to suckle and completely empty the udder. Once udder emptying was confirmed, calves were weighed immediately before and after suckling. The difference between pre- and post-suckling weights was considered milk intake and used to estimate milk production over the 8-h period, which was then extrapolated to a 24-h period.

Milk production was measured at 15, 30, 45, 73, and 101 days of lactation using the hand milking technique. Calves were separated from their dams for approximately 12 h before milking. Two to four minutes before milking, cows were restrained in a chute and received an intramuscular injection of 1 mL of oxytocin (Ocitocina Forte UCB; Uzinas Químicas Brasileiras S/A, Jaboticabal, SP, Brazil) to stimulate milk ejection. Milk yield was then recorded, and milk samples were collected into sterile containers containing a bronopol preservative tablet (D & F Control Systems Inc., San Ramon, CA, USA). Aliquots of 40 mL were transferred to plastic vials containing Bronopol® preservative, maintained at 2 to 6°C, and submitted to the Milk Composition Laboratory (Milk Clinical, Piracicaba, SP, Brazil) for compositional analysis. Milk fat, protein, lactose, total solids, and solids-not-fat contents were determined by near-infrared spectroscopy according to ISO 9622:2013 and IDF 141:2013 standards.

2.6. *Tissue collection and gene expression analysis*

Liver biopsies for gene expression analysis were performed in cows at 245, 260, and 275 days of gestation and in the offspring at weaning (200 days of age). Biopsy samples were collected from the right hepatic lobe through the 11th intercostal space. The biopsy site was previously shaved, disinfected with chlorhexidine, and locally anesthetized with 10 mL of 2% lidocaine. After a small skin incision was made using a sterile scalpel, liver tissue samples (~100 mg) were obtained using a 15-cm Tru-Cut biopsy needle (2.0 mm diameter; Promedical, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brazil) inserted through the right 11th intercostal space below the ribs. Samples were snap frozen in liquid nitrogen and stored at -80 °C until further analyses. After the procedure, the incision site was washed with saline solution and closed using veterinary tissue glue. An antibiotic spray (Terra-Cortril®; oxytetracycline hydrochloride and hydrocortisone, topical use) was applied to the incision site after the biopsy procedure. Animals

were monitored twice daily for seven consecutive days to assess the biopsy site for signs of inflammation, infection, or postoperative complications. In calves, Muscle tissue biopsies were obtained from calves at birth and at 200 days of age from the Longissimus dorsi muscle between the 12th and 13th ribs on the right side, according to the methodology described by Oliveira et al. (2026).

Primer sequences for each gene were designed based on published GenBank sequences available from the National Center for Biotechnology Information (NCBI) using the *Bos indicus* genome as a reference. Primers (Table 2) were designed using OligoPerfect Designer software (Life Technologies, Grand Island, NY, USA) and commercially synthesized (Life Technologies, São Paulo, Brazil), then reconstituted to a final concentration of 10 μ mol. Total RNA was extracted from approximately 30mg of liver tissue, 100 mg of cotyledonary tissue and 170mg of muscle tissue SV Total RNA Isolation System (Promega, Madison, WI, USA). Total RNA integrity was evaluated by electrophoresis on 1.0% agarose gel stained with GelRed nucleic acid dye and visualized using a UVIttec FireReader XS D-191 77Ls20M system (UVIttec, Cambridge, UK). RNA concentration (ng/ μ L) and purity (260/280 and 260/230 ratios) were determined using a NanoDrop ND-1000 spectrophotometer (Thermo Scientific, Wilmington, DE, USA) at 260 nm. cDNA synthesis was performed using the High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) according to the manufacturer's instructions. The resulting cDNA was diluted at a 1:10 ratio for subsequent PCR analysis. The RT-qPCR cycling conditions were as follows: 50°C for 2 min, 95°C for 10 min, followed by 40 cycles at 95°C for 15 s and 60°C for 1 min, with a final step at 95°C for 15 s. Each reaction contained 1.0 μ L of cDNA (100 ng/ μ L), 0.3 μ L of each primer (1.5 μ M; forward and reverse), 5.0 μ L of SYBR Green Master Mix, and 3.4 μ L of UltraPure™ H₂O, totaling 10 μ L per sample in 96-well optical MicroAmp plates (Applied Biosystems). Reverse-transcription quantitative PCR (RT-qPCR) analyses were performed for each target gene using cDNA templates, with two technical replicates per sample. Results were normalized using the comparative cycle threshold (CT) method relative to the reference gene β -actin (ACTB) for cotyledonary tissue, liver and muscle. Relative gene expression was calculated using the Delta Delta Ct method (Livak and Schmittgen, 2001).

2.7. Offspring performance and carcass ultrasound

To evaluate offspring performance, calves were weighed at birth at 200 days of age (weaning) to calculate average daily gain (ADG). At weaning (200 days of age), carcass

ultrasonography was also performed in cows and offspring to evaluate longissimus muscle area (LMA), subcutaneous fat thickness (SFT), rump muscle length (RML), and rump fat thickness. Ultrasonographic evaluations were performed using Aloka 500-V ultrasound device (Corometrics Medical Systems, Wallingford, CT, USA) equipped with a 3.5-MHz linear-array transducer measuring 17.2 cm. For LMA and SFT measurements, the transducer was positioned between the 12th and 13th ribs along the dorsal midline of the animal. The LMA was outlined directly from the ultrasound image, and subcutaneous fat thickness was measured at the same location.

To evaluate RML and rump fat thickness, the transducer was positioned at the junction between the biceps femoris and gluteus medius muscles, between the ischium and ilium, oriented parallel to the vertebral column. Rump muscle length and fat thickness were determined from the ultrasound images obtained at this site. All images were captured and analyzed using ImageJ® software to ensure accurate measurement and quantification of muscle and fat deposition parameters.

2.8. Statistical analysis

Statistical analyses were performed using the MIXED procedure of SAS 9.4 (SAS Inst. Inc., Cary, NC) considering the cow-calf pair as the experimental unit. Dams parity (heifers or cows), Vitamin A injection treatment (VA and CON), offspring sex (male and female), and the interaction between Vitamin A treatment and offspring sex were considered as fixed effects. Year and cow-calf pairs were considered as random effects. Cow's initial BW was used as a covariate adjustment for performance data. When appropriate, expected progeny difference (EPD) estimations were included as covariates (Shike, 2018), and when no EPD was appropriate, sire was considered as a fixed effect. To account for the unequal numbers of experimental units among treatments, the Satterthwaite approximation was applied to adjust the denominator degrees of freedom. Milk yield and milk composition data were analyzed as repeated measures over time, and the compound symmetry covariance structure was chosen based on the lowest values for Akaike's information criterion. Data normality was assessed using the Shapiro-Wilk test. Gene expression data that did not present normal distribution were log-normalized prior to analysis. Statistical significance was declared at $P \leq 0.05$, and trends were discussed when $0.05 < P \leq 0.10$.

3. Results

3.1. Maternal and offspring performance

No interaction effects of vitamin A treatment (VA) and offspring sex (S) were observed for maternal intake and performance variables during the prepartum period, or for maternal performance during the postpartum period ($P \geq 0.10$; Table 3). However, a tendency for a VA $\times$ S interaction was observed in gestation length ($P = 0.07$), in which VA cows carrying female fetuses tended to have shorter gestation length compared with CON cows carrying female fetuses and VA cows carrying male fetuses (Table 3). In addition, at the beginning of the experimental period (245 d of gestation), cows carrying male fetuses tended to present greater ($P = 0.10$) BW compared to cows carrying female fetuses. During gestation, CON cows tended to have greater BW at 275 days of gestation compared with VA cows ($P = 0.09$).

No interaction effects were observed for gestational tissue gain variables. Maternal average daily gain (ADG) did not differ ($P = 0.12$) between VA and CON cows during late gestation (245 to 275 days of gestation). An offspring sex effect was detected for gestational gain ($P = 0.04$), with cows carrying male fetuses exhibiting greater gestational gain compared with cows carrying female fetuses. Control cows also showed greater total ADG (maternal tissue ADG + gestational ADG) compared with VA cows. An interaction effect between vitamin A supplementation and fetal sex (VA $\times$ S; $P < 0.10$) was observed for plasma retinol concentration in cows at 275 days of gestation, with higher retinol concentrations detected in VA-treated cows carrying male fetuses compared with the other treatment and fetal sex combinations. A VA $\times$ S interaction effect was observed for calf birth weight ($P = 0.05$), in which female offspring from VA-treated cows had lower birth BW compared with the other treatment groups. During the first week of lactation, no differences were observed in indirect milk production estimated by the weigh-suckle-weigh method ($P \geq 0.10$).

At weaning, vitamin A supplementation did not affect cow or calf BW, nor cow body condition score (BCS) at 200 days of age. Regarding offspring sex effects, males exhibited greater BW ($P = 0.01$) and higher ADG at weaning ($P = 0.05$) compared with females. In addition, cows nursing female calves during the grazing cow-calf phase had greater BCS at weaning ($P = 0.03$) and lower BCS loss ($P = 0.05$) compared with cows nursing male calves (Table 4.)

3.2. Placental parameters

In the present study, no VA $\times$ S interaction effects were observed for placental morphological parameters ($P > 0.10$) (Table 5). Cows carrying male fetuses had approximately 33.7% heavier placentas compared with cows carrying female fetuses ($P = 0.05$). For placental microvascularization, a significant VA $\times$ S interaction was observed ($P < 0.05$), cows carrying female fetuses and treated with VA exhibited approximately 11.5% greater vascular area density and approximately 20% greater capillary area compared with CON cows carrying female fetuses.

3.3. Milk production and composition

During lactation, a significant VA $\times$ S interaction was observed for milk yield ($P = 0.02$), and a tendency was detected for solids-not-fat content ($P = 0.09$) (Table 6). Vitamin A-treated cows nursing male calves exhibited greater milk production, whereas VA-treated cows nursing female calves showed lower solids-not-fat content compared with the other treatment groups (Figure 1). In addition, cows treated with vitamin A had approximately 15% greater milk yield, as well as ~17% higher milk fat and ~5% higher protein concentrations compared with CON cows ($P \leq 0.03$). Milk yield and total solids content were influenced by offspring sex ($P \leq 0.01$), with cows nursing male calves exhibiting approximately 20% greater milk production and 8% greater total solids content than cows nursing female calves. However, milk protein concentration was approximately 6% greater in cows nursing female calves.

Milk production and composition were also affected throughout the lactation period ($P \leq 0.05$) (Figure 2). Peak milk production was observed at 30 and 45 days of lactation, followed by a gradual decline over time. Milk fat, protein, total solids, and solids-not-fat concentrations increased throughout lactation, whereas lactose concentration decreased over time. No additional interactions among VA $\times$ T, S $\times$ T, or VA $\times$ S $\times$ T were observed for milk production or milk composition parameters during lactation.

3.4. Carcass ultrasound

During the cow-calf phase, no VA $\times$ S interaction effects were observed for carcass ultrasonography traits of cows and calves at weaning (Table 7). Vitamin A supplementation affected the muscling index ($P = 0.01$), with calves born to VA-treated cows showing an approximately 24.6% greater muscling index compared with calves from CON cows. Offspring sex also influenced this trait ($P = 0.05$), with female calves exhibiting approximately 16.0%

greater muscling index than males. Calves from VA cows also tended to have greater longissimus muscle length ($P = 0.06$), showing approximately 9% higher values compared with calves from CON cows.

For carcass ultrasonography traits evaluated in cows at weaning, only offspring sex effects were observed for muscling index ($P = 0.02$) and longissimus muscle length ($P = 0.05$), with cows nursing female calves exhibiting approximately 26.1% and 7.8% greater values than cows nursing male calves, respectively. Conversely, male calves tended ($P = 0.08$) to present approximately 27.7% greater subcutaneous fat thickness compared with females (Table 7).

3.5. Gene expression

Maternal. The expression of genes related to vitamin A metabolism in liver tissue from Tabapuã cows is presented in Table 8. A tendency for a triple interaction (Vitamin A $\times$ Sex $\times$ Time) was observed for *ALDH1A2* ($P = 0.06$) and *CYP26C1* ($P = 0.07$). In both genes, VA supplementation promoted marked upregulation at 260 days of gestation in cows carrying female fetuses, followed by a pronounced reduction at 275 days of gestation. In contrast, cows carrying male fetuses showed smaller variations in gene expression across gestation, particularly in the CON treatment. Overall, the highest expression levels for both *ALDH1A2* and *CYP26C1* were observed in VA-treated cows carrying female fetuses at 260 days of gestation (Figure 4). In addition, an interaction effect between vitamin A supplementation and gestational time (VA $\times$ Time; $P < 0.01$) was observed for *CYP26A1*, *LRAT*, and *RARA* expression. In all three genes, VA-treated cows showed marked upregulation at 260 days of gestation compared with the CON group, followed by a pronounced reduction in expression at 275 days of gestation. In contrast, cows from the CON group exhibited more stable expression patterns across gestation, with slight increases toward 275 days. Overall, the highest expression levels for *CYP26A1*, *LRAT*, and *RARA* were observed in VA cows at 260 days of gestation. No sex-of-offspring effects were observed for the evaluated genes ($P \geq 0.45$) (Figure 5). Given the biological relevance of the combined maternal, fetal, and gestational responses, the discussion primarily focused on interaction effects, even when significant main effects of vitamin A supplementation or gestational time were observed independently. A significant VA $\times$ S interaction was observed for *STRA6* expression ($P = 0.04$), with upregulation in cotyledons from VA-treated cows carrying female fetuses (Figure 6.). Vitamin A injection did not affect the expression of genes involved in angiogenesis (*PDGFRA* and *VEGFA*), glucose transport (*GLUT1* and *GLUT3*), fatty acid transport (*FATP1* and *CD36*), or retinol transport (*STRA6*) in

the cotyledon (fetal portion of the placenta). In addition, *VEGFA* and *SLC5A1* (*GLUT1*) mRNA expression were affected by offspring sex, with greater expression in cotyledons from cows carrying female fetuses ($P < 0.03$) (Table 9).

Offspring. Interactions between treatment and offspring sex resulted in higher expression of *RARA*, *CEBPA*, and *PAX7* in male offspring from VA-treated cows ($P < 0.10$; Table 10). Other genes associated with retinoic acid signaling, myogenesis, adipogenesis, and muscle growth pathways evaluated during this period were unaffected by VA, Sex, or the VA $\times$ Sex interaction ($P > 0.10$; Table 10). At birth, calves born from VA-treated cows exhibited greater expression of adipogenic genes, including *ZNF423* ($P = 0.07$) and *PPARY* ($P < 0.01$), as well as the satellite cell marker *PAX7* ($P = 0.03$), compared with calves from CON cows. Conversely, calves born from CON cows exhibited greater expression of myostatin (*MSTN*; $P = 0.03$). Offspring sex influenced several physiological processes, with upregulation of *ALDH1A1*, *ZNF423*, *DLK1* and *MyoG* in female calves ($P < 0.10$).

At weaning, the same genes associated with distinct physiological pathways were evaluated in offspring skeletal muscle. The expression of the major myogenic and adipogenic markers did not differ among treatments. However, offspring from VA-treated cows exhibited greater expression of the transcription factor *NFIX* ($P = 0.02$), whereas offspring from CON cows showed upregulation of myostatin (*MSTN*; $P = 0.04$) (Table 11). A significant VA $\times$ Sex interaction resulted in greater mRNA expression of the retinoid receptor *RXRΒ* ($P = 0.07$) and downregulation of the cytochrome P450 enzyme *CYP26C1* ($P = 0.05$) in female offspring, whereas male offspring born from cows treated with vitamin A during late gestation exhibited greater abundance of the peroxisome proliferator-activated receptor *PPARY* ($P < 0.01$).

4. Discussion

Vitamin A plays a critical role in regulating developmental and metabolic processes in beef cattle, particularly in skeletal muscle and adipose tissues. In the present study, we hypothesized that retinoic acid, the active metabolite of vitamin A, would enhance hepatic retinoid metabolism in pregnant cows and the recruitment of preadipocytes toward the adipogenic lineage in the offspring, while also modulating molecular pathways associated with angiogenesis, maternal-fetal nutrient transport, myogenesis, and retinoic acid availability in skeletal muscle, thereby promoting greater milk production and improved offspring performance during the cow-calf phase. Although prenatal vitamin A administration did not affect overall offspring body weight during the cow-calf phase, significant treatment $\times$ sex

interactions were observed for key performance traits and molecular markers, reinforcing the biological relevance of fetal programming by vitamin A. Notably, to our knowledge, this is the first study in purebred *Bos indicus* cattle evaluating the effects of maternal vitamin A injection during gestation on maternal retinoid metabolism and its potential physiological implications for offspring development.

Cows gestating male calves exhibited greater body weight and gestational tissue gain, reflecting increased development of the gravid uterus and mammary gland. Conversely, CON cows showed greater body weight and average daily gain at 275 days of gestation, suggesting a more favorable maternal metabolic and energy status. The greater plasma retinol concentration observed in cows carrying male fetuses at 275 days of gestation corroborates the findings of Jo et al. (2020), in which cows supplemented with 78,000 IU/day of vitamin A exhibited greater retinol concentrations than non-supplemented cows. These findings suggest that fetal sex may influence maternal retinoid metabolism and circulating retinol dynamics during late gestation. A tendency for a sex-dependent response to vitamin A supplementation was observed, with VA cows exhibiting shorter gestation length, which may have contributed to reduced fetal development in female offspring. Although no differences were detected in offspring body weight or growth performance during the cow–calf phase, previous studies have demonstrated positive effects of maternal vitamin A supplementation during late gestation on calf birth weight (Jo et al., 2020) and early postnatal growth (Harris et al., 2018; Song et al., 2023), despite limited effects on maternal and calf performance during lactation (Dean et al., 2024). Collectively, these findings indicate that the phenotypic response to maternal vitamin A supplementation may be influenced by offspring sex and dosage during gestation. Supporting this hypothesis, Oliveira et al. (2026) also reported distinct responses in female offspring following vitamin A injection in pregnant Nellore × Angus cows or neonatal calves, suggesting sex-specific developmental programming effects of vitamin A.

Vitamin A injection also exerted residual effects on lactational performance, increasing lactation persistency as well as milk fat and protein concentrations. Furthermore, VA cows nursing male calves presented greater milk yield and greater solids-not-fat content, which may explain the greater weaning weight of male calves and the lower body condition score observed in cows nursing males, indicating greater mobilization of maternal reserves to meet the higher nutritional demands of male offspring (Costa et al. 2006). In contrast, cows nursing female calves exhibited greater milk protein concentration, likely associated with higher total solids content (Lashkari et al., 2025). Although information regarding vitamin A supplementation in pregnant beef cows remains limited, studies in dairy cattle may provide important physiological

insights due to similarities in digestive, gestational, and productive processes (Pereira et al., 2026). In dairy cows, prepartum vitamin A supplementation has been associated with improved colostrum quality, including greater immunoglobulin G (IgG) and milk fat concentrations (Ishida et al., 2018; Nishijima et al., 2017). However, c These contrasting findings suggest that the effects of vitamin A on milk production and composition may depend on dosage, route of administration, and genetic background.

Considering the central role of retinoic acid in regulating multiple physiological processes and modulating gene expression (Carazo et al., 2021; Hossain and Du, 2026; Maciel et al., 2022b), together with the liver being the primary site of vitamin A metabolism and storage (approximately 80–85%; Shirakami et al. (2012)), we investigated key hepatic pathways related to retinol storage in hepatic stellate cells (*LRAT*), conversion of retinaldehyde to retinoic acid (*ALDH1A2*), activation of nuclear receptors (*RARA*), and retinoic acid catabolism (*CYP26A1*) in pregnant cows (Conserva et al., 2019). Our results demonstrated that vitamin A supplementation and gestational stage modulated hepatic retinoid metabolism. The marked increase in *LRAT* expression at 260 days of gestation suggests an enhanced hepatic storage capacity, potentially acting as a protective mechanism against excessive circulating retinoids, whereas increased *RARA* expression may indicate intensified retinoid signaling activity. In contrast, *CYP26A1* expression was markedly reduced at 275 days of gestation, suggesting decreased retinoic acid catabolism and, consequently, greater intracellular availability during late gestation. This adaptive response may represent a physiological strategy to sustain adequate retinoic acid concentrations, particularly because fetal retinol supply is entirely dependent on maternal circulation (Quadro and Spiegler, 2020; Spiegler et al., 2012), while nutrient and metabolic demands rapidly increase during mid- and late gestation (Cabezuelo et al., 2020).

We also evaluated the expression of angiogenic growth-related genes and solute transporters in placental cotyledons. No significant differences were observed in cotyledonary gene expression, suggesting that the fetal component of the placenta was not markedly altered by maternal vitamin A injection. This finding is supported by the absence of differences in uterine blood flow, placental weight, and placental efficiency between CON and VA groups. In cattle, placental development is primarily established during early and mid-gestation; therefore, vitamin A administration during late gestation may exert limited effects on cotyledonary signaling pathways (Reynolds et al., 2010; Vonnahme et al., 2015). Similar limitations have been reported in beef cows subjected to nutritional restriction during the second half of gestation (Paradis et al., 2017). Nevertheless, a sex-dependent response to vitamin A was observed for vascular area density and capillary area in cotyledons from VA cows carrying female fetuses.

We speculate that retinoic acid may have stimulated greater placental capillary vascularization as a compensatory mechanism to support nutrient delivery in female fetuses with reduced developmental potential. Although angiogenic gene expression was not altered, these findings suggest that alternative growth- and angiogenesis-related pathways may contribute to the increased vascular density observed in cotyledons from VA-treated cows carrying female fetuses (Zhu et al., 2007).

Additionally, cows gestating female fetuses exhibited greater expression of *VEGFA* and *GLUT1*, key genes involved in vascular development and glucose transport (Paradis et al., 2017), suggesting that fetal sex may influence placental adaptations to optimize oxygen and nutrient supply to female offspring. The increased expression of the retinol transporter receptor *STRA6* in cotyledons from VA cows carrying females further supports a sex-dependent regulation of transplacental retinol transfer Quadro and Spiegler (2020). Although *STRA6* has been suggested to function as a bidirectional retinol transporter under conditions of elevated retinoic acid availability (Noy, 2016), maternal vitamin A supplementation alone did not broadly increase placental *STRA6* expression, indicating that the placenta may possess a greater buffering and storage capacity for retinoids than fetal tissues.

Since mid- to late gestation is a critical window for skeletal muscle development and intramuscular adipogenesis (Du et al., 2017), the gene expression profile observed at birth suggests that maternal vitamin A injection during late gestation modulated retinol metabolism, myogenesis, and adipogenesis in the offspring. Retinoic acid acts through *RAR/RXR* heterodimers to regulate transcriptional activity of target genes involved in developmental programming (Kumar et al., 2012; Ziouzenkova and Plutzky, 2008). In the present study, male offspring from VA cows exhibited increased *RARA* expression, indicating enhanced retinoic acid signaling in skeletal muscle. Similar responses have been reported by Dean et al. (2024), suggesting that distinct retinoic acid receptor isoforms may participate in fetal programming mechanisms (Tanoury et al., 2013). Although *ALDH1A2* expression was not increased, the upregulation of retinoid-related signaling pathways in males may reflect a compensatory mechanism to regulate intracellular retinoic acid availability and downstream transcriptional activity (Wang et al., 2017b; Wang and Du, 2023). This response was accompanied by greater expression of adipogenic markers such as *ZNF423* and *DLK1*, indicating enhanced early adipogenic commitment in male offspring compared with females.

Maternal vitamin A administration likely enhanced adipogenic commitment in the offspring through activation of retinoic acid signaling pathways. The greater expression of *ZNF423* and *PPARG* observed in offspring from VA-treated cows may be explained by the

upregulation of *RARA* in skeletal muscle, particularly in males. Retinoic acid receptors (RARs) form heterodimers with retinoid X receptors (RXRs), acting as transcription factors that regulate adipogenic gene networks. *ZNF423* is a key upstream regulator of *PPARG* and *CEBPA*, promoting the differentiation of stromal vascular cells into adipocytes and favoring adipogenic lineage commitment (Wang et al., 2017b). Consistent with previous in vitro findings (Gupta et al., 2012), the increased expression of *ZNF423* and *PPARY* in the present study supports enhanced adipogenic programming in vivo. In addition, *ZNF423* overexpression has been associated with reduced *TGF-β* activity and lower fibrogenic potential, while *PPARY* plays a central role in early adipocyte differentiation and intramuscular lipid accumulation (Ladeira et al., 2018c; Moisés et al., 2014).

Because muscle fiber hyperplasia is primarily established during mid-gestation and myogenesis is highly sensitive to nutrient and metabolite availability (Du et al., 2017; Hossain and Du, 2026; Jo et al., 2020), we hypothesized that maternal vitamin A injection would enhance skeletal muscle development in the offspring by promoting mesenchymal progenitor commitment toward the myogenic lineage. Although no differences were observed in offspring body weight or growth performance during the cow–calf phase, vitamin A supplementation increased the expression of key myogenic markers (*MYF5* and *MyoG*) in skeletal muscle at birth. *MYF5* is responsible for committing pluripotent cells to the myogenic lineage and subsequently activating other myogenic regulatory factors (MRFs), including *MyoD* and *Myogenin* (Chal and Pourquié, 2017; Du, 2023). We speculate that these molecular alterations within the myoblast pool may have contributed to enhanced muscle development later in life through greater proliferation and fusion of muscle cells, which is supported by the improved carcass ultrasound measurements observed in offspring exposed to retinoic acid signaling. Similar findings have been reported by Jo et al. (2020) and Peng et al. (2020), who observed greater expression of myogenic genes in young calves without immediate improvements in postnatal growth performance. Likewise, Dean et al. (2024) reported no differences in muscularity by ultrasound following maternal vitamin A supplementation, although intramuscular fat deposition increased later in life, reinforcing the long-term programming effects of retinoic acid on skeletal muscle development.

At weaning, the greater *CYP26C1* expression observed in male offspring from VA-treated cows suggests enhanced retinoic acid oxidation and turnover. *CYP26* enzymes regulate retinoic acid catabolism through the conversion of RA into hydroxylated metabolites, maintaining intracellular retinoid homeostasis (Quadro and Spiegler, 2020). This response may partially explain the greater *PPARG* expression observed in males, since retinoic acid signaling

through *RAR/RXR* heterodimers directly regulates transcription of adipogenic target genes (Malibary, 2023). Collectively, these findings indicate that vitamin A-induced adipogenic programming occurs in a sex-dependent manner, with females appearing more responsive to adipogenic stimulation. Consistent with our observations, Baldassini et al. (2025) demonstrated that a single neonatal dose of vitamin A increased expression of adipogenic regulators, including *PPARG*, *CEBPA*, and *FABP4*, and promoted greater intramuscular fat deposition in crossbred calves (Scapol et al., 2023). Although intramuscular fat content was not directly measured in the present study, the coordinated regulation of adipogenic markers such as *ZNF423*, *DLK1*, *PPARG*, and *CEBPA* strongly supports enhanced adipogenic commitment, given their well-established association with intramuscular fat accretion (Hossain and Du, 2026; Martínez del Pino et al., 2020).

Key developmental regulators also contributed to the programming effects observed in this study. The transcription factor *NFIX* plays an essential role in muscle fiber formation (Taglietti et al., 2016), whereas *MSTN* acts as a negative regulator of muscle growth by suppressing myogenic regulatory factors such as *MyoD* and *Myogenin* (Tan and Jiang, 2024). The greater *NFIX* expression observed in offspring muscle at weaning may have stimulated muscle cell proliferation and differentiation while simultaneously suppressing *MSTN* expression. Although no statistical differences were detected for most myogenic markers at weaning, the reduced *MSTN* abundance suggests a favorable environment for muscle development. Previous evidence indicates that *NFIX* overexpression enhances *MyoD* activity and negatively regulates *MSTN*, reinforcing its role in promoting myogenic differentiation (Qiu et al., 2024). The absence of marked differences in adipogenic and myogenic markers at weaning was expected, as primary myogenesis occurs during fetal development and adipogenic potential declines postnatally (Du, 2023; Du et al., 2017). This coordinated regulation may explain the greater longissimus muscle length detected by ultrasound at weaning, indicating enhanced skeletal muscle development.

Overall, our findings suggest that vitamin A-mediated retinoic acid signaling dynamically modulates muscle development, with stronger myogenic effects during the neonatal stage and sustained influences on muscle growth during later developmental phases. Together, these results provide novel evidence that prenatal vitamin A administration can influence developmental programming mechanisms in beef cattle offspring, supporting future investigations into its long-term impacts on growth performance and carcass quality. Nevertheless, methodological limitations, particularly the limited number of experimental units, may have reduced the magnitude of detectable phenotypic and molecular responses,

which may partially explain the modest effects observed in some performance and gene expression variables. Therefore, additional studies with larger experimental populations are warranted to further elucidate the biological mechanisms and long-term productive implications of maternal vitamin A supplementation in beef cattle.

5. Conclusion

Maternal vitamin A injection altered retinoic acid metabolism during late gestation e increased milk production and improved milk composition by increasing fat and protein concentrations, while also enhancing placental vascularization in female fetuses. In the offspring, vitamin A injection stimulated adipogenesis and myogenesis during early skeletal muscle development, resulting in greater adipogenic commitment, improved myogenic balance, and enhanced muscularity and longissimus muscle development at weaning. Several responses were sex-dependent, with males showing greater muscle development responses and females exhibiting greater placental vascular adaptations. Although overall growth performance during the cow–calf phase was not markedly altered, these findings demonstrate that maternal vitamin A injection during late gestation can influence developmental programming mechanisms related to muscle and adipose tissue development in purebred *Bos indicus*. Future studies are warranted to further elucidate the long-term impacts of these physiological adaptations on carcass composition and meat quality.

Declaration of interest

The authors declared that they don't have conflict of interest

6. References

- AOAC., 1990. Official methods of analysis. 15th ed., Assoc. Off. Anal. Chem., Arlington, V.A.
- Baldassini, W.A., Ramírez-Zamudio, G.D., Duarte, M.S., Ladeira, M.M., Pereira, G.L., Machado-Neto, O.R., Torres, R.N.S., De Magistri, M.S., Camargo, L.R., Curi, R.A., Chardulo, L.A.L., 2025. Early-life vitamin A supplementation modulates the skeletal muscle transcriptome and intramuscular fat deposition in feedlot-finished beef steers. *J. Anim. Sci.* 103. <https://doi.org/10.1093/jas/skaf248>
- Cabezuelo, M.T., Zaragoza, R., Barber, T., Viña, J.R., 2020. Role of vitamin A in mammary gland development and lactation. *Nutrients*. <https://doi.org/10.3390/nu12010080>
- Carazo, A., Macáková, K., Matoušová, K., Krčmová, L.K., Protti, M., Mladěnka, P., 2021. Vitamin a update: Forms, sources, kinetics, detection, function, deficiency, therapeutic use and toxicity. *Nutrients*. <https://doi.org/10.3390/nu13051703>

- 598 Chal, J., Pourquié, O., 2017. Making muscle: Skeletal myogenesis in vivo and in vitro.
599 Development (Cambridge). <https://doi.org/10.1242/dev.151035>
- 600 Conserva, M.R., Anelli, L., Zagaria, A., Specchia, G., Albano, F., 2019. The pleiotropic role of
601 retinoic acid/retinoic acid receptors signaling: From vitamin A metabolism to gene
602 rearrangements in acute promyelocytic Leukemia. Int. J. Mol. Sci.
603 <https://doi.org/10.3390/ijms20122921>
- 604 Costa, M. J. R. P. et al. Suckling behaviour of Nelore, Gir and Caracu calves and their crosses.
605 Applied Animal Behaviour Science, v. 101, n. 3-4, p. 276-287, 2006.
- 606 Costa, T. P., Gionbelli, M.P., Duarte, M. de S., 2021. Fetal programming in ruminant animals:
607 understanding the skeletal muscle development to improve meat quality. Animal Frontiers 11,
608 66–73. <https://doi.org/10.1093/af/vfab061>
- 609 Dean, S., Gomes, M., Silva, W., Steele, M., Wood, K., Du, M., Costa, T., Serão, N., Gionbelli, M.,
610 Duarte, M., 2024. Vitamin A–Enriched Diet at Late Gestation Affects Intramuscular Fat
611 Deposition in Beef Offspring. Meat and Muscle Biology 8.
612 <https://doi.org/10.22175/mmb.17646>
- 613 Du, M., 2023. Prenatal Development of Muscle and Adipose and Connective Tissues and Its
614 Impact on Meat Quality. Meat and Muscle Biology 7. <https://doi.org/10.22175/mmb.16230>
- 615 Du, M., Ford, S.P., Zhu, M.J., 2017. Optimizing livestock production efficiency through maternal
616 nutritional management and fetal developmental programming. Animal Frontiers 7, 5–11.
617 <https://doi.org/10.2527/af.2017-0122>
- 618 Du, M., Huang, Y., Das, A.K., Yang, Q, Duarte, M.S., Dodson, M. V, Zhu, M. J., 2013.
619 Manipulating mesenchymal progenitor cell differentiation to optimize performance and carcass
620 value of beef cattle. J. Anim. Sci 91, 1419–1427. <https://doi.org/10.2527/jas2012-5670>
- 621 Du, M., Rahardja, D.P., 2023. Vitamin A, a Critical Nutrient for Improving Efficiency and Quality
622 of Beef Cattle Production, in: AIP Conference Proceedings. American Institute of Physics Inc.
623 <https://doi.org/10.1063/5.0143970>
- 624 Du, M., Tong, J., Zhao, J., Underwood, K.R., Zhu, M., Ford, S.P., Nathanielsz, P.W., 2010. Fetal
625 programming of skeletal muscle development in ruminant animals. J. Anim. Sci.
626 <https://doi.org/10.2527/jas.2009-2311>
- 627 Gionbelli, M.P., Duarte, M.S., Filho, S.C.V., Detmann, E., Chizzotti, M.L., Rodrigues, F.C.,
628 Zanetti, D., Gionbelli, T.R.S., Machado, M.G., 2015. Achieving body weight adjustments for
629 feeding status and pregnant or non-pregnant condition in beef cows. PLoS One 10.
630 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112111>
- 631 Gupta, R.K., Arany, Z., Seale, P., Mepani, R.J., Ye, L., Conroe, H.M., Roby, Y.A., Kulaga, H.,
632 Reed, R.R., Spiegelman, B.M., 2010. Transcriptional control of preadipocyte determination by
633 Zfp423. Nature 464, 619–623. <https://doi.org/10.1038/nature08816>
- 634 Gupta, R.K., Mepani, R.J., Kleiner, S., Lo, J.C., Khandekar, M.J., Cohen, P., Frontini, A.,
635 Bhowmick, D.C., Ye, L., Cinti, S., Spiegelman, B.M., 2012. Zfp423 expression identifies
636 committed preadipocytes and localizes to adipose endothelial and perivascular cells. Cell
637 Metab. 15, 230–239. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.01.010>

- 638 Harris, C.L., Wang, B., Deavila, J.M., Busboom, J.R., Maquivar, M., Parish, S.M., McCann, B.,
 639 Nelson, M.L., Du, M., 2018a. Vitamin A administration at birth promotes calf growth and
 640 intramuscular fat development in Angus beef cattle. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 9.
 641 <https://doi.org/10.1186/s40104-018-0268-7>
- 642 Harris, C.L., Wang, B., Deavila, J.M., Busboom, J.R., Maquivar, M., Parish, S.M., McCann, B.,
 643 Nelson, M.L., Du, M., 2018b. Vitamin A administration at birth promotes calf growth and
 644 intramuscular fat development in Angus beef cattle. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 9.
 645 <https://doi.org/10.1186/s40104-018-0268-7>
- 646 Hossain, M.N., Du, M., 2026. Optimization of Marbling Through Vitamin A Management at
 647 Different Stages of Production Cycle in Beef Cattle. *Meat and Muscle Biology*.
 648 <https://doi.org/10.22175/mmb.20408>
- 649 Hossain, N., Gao, Y., Li, X., Zhao, L., Liu, X., Marie De Avila, J., Zhu, M.-J., Du, M., 2024. Single-
 650 cell RNA transcriptomics in mice reveals embryonic origin of fibrosis due to maternal obesity.
- 651 Huang, Z., Yu, X., Jiang, Z., Tang, G., Gao, S., Xiang, Y., Luo, Y., Ye, B., Li, Y., Song, P., Xin, Y.,
 652 Du, M., Zhao, J., Wang, B., 2024. Neonatal vitamin A but not retinoic acid administration
 653 increases intramuscular adipocyte number in sheep by promoting vascularization. *Animal*
 654 *Nutrition* 19, 215–225. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2024.08.006>
- 655 Ishida, M., Nishijima, Y., Ikeda, S., Yoshitani, K., Obata, A., Sugie, Y., Aoki, Y., Yamaji, T., Fujita,
 656 M., Nakatsuji, Y., Kume, S., 2018. Effects of supplemental β -carotene on colostral
 657 immunoglobulin and plasma β -carotene and immunoglobulin in Japanese Black cows. *Animal*
 658 *Science Journal* 89, 1102–1106. <https://doi.org/10.1111/asj.13032>
- 659 Jin, L., Yan, S., Shi, B., Bao, H., Gong, J., Guo, X., Li, J., 2014. Effects of vitamin A on the milk
 660 performance, antioxidant functions and immune functions of dairy cows. *Anim. Feed Sci.*
 661 *Technol.* 192, 15–23. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.03.003>
- 662 Jo, Y.H., Peng, D.Q., Kim, W.S., Kim, S.J., Kim, N.Y., Kim, S.H., Nejad, J.G., Lee, J.S., Lee, H.G.,
 663 2020. The effects of vitamin A supplementation during late-stage pregnancy on longissimus
 664 dorsi muscle tissue development, birth traits, and growth performance in postnatal Korean
 665 native calves. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 33, 742–752. <https://doi.org/10.5713/ajas.19.0413>
- 666 Kumar, S., Sandell, L.L., Trainor, P.A., Koentgen, F., Duester, G., 2012. Alcohol and aldehyde
 667 dehydrogenases: Retinoid metabolic effects in mouse knockout models. *Biochim. Biophys.*
 668 *Acta Mol. Cell Biol. Lipids.* <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2011.04.004>
- 669 Ladeira, M.M., Schoonmaker, J.P., Swanson, K.C., Duckett, S.K., Gionbelli, M.P., Rodrigues,
 670 L.M., Teixeira, P.D., 2018. Review: Nutrigenomics of marbling and fatty acid profile in
 671 ruminant meat. *Animal*. <https://doi.org/10.1017/S1751731118001933>
- 672 Lashkari, S., Charoy, L., Pons, L., Jensen, S.K., 2025. Transition of milk fatty acid profile and
 673 vitamins A and E from colostrum to mature milk in Danish Holstein cows. *PLoS One* 20.
 674 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0328897>
- 675 Lopes, R.C., Sampaio, C.B., Trece, A.S., Teixeira, P.D., Gionbelli, T.R.S., Santos, L.R., Costa,
 676 T.C., Duarte, M.S., Gionbelli, M.P., 2020. Impacts of protein supplementation during late
 677 gestation of beef cows on maternal skeletal muscle and liver tissues metabolism. *Animal* 14,
 678 1867–1875. <https://doi.org/10.1017/S1751731120000336>

- 679 Maciel, F.C., Machado Neto, O.R., Duarte, M.S., Du, M., Lage, J.F., Teixeira, P.D., Martins, C.L.,
 680 Domingues, E.H.R., Fogaça, L.A., Ladeira, M.M., 2022. Effect of vitamin A injection at birth
 681 on intramuscular fat development and meat quality in beef cattle. *Meat Sci.* 184.
 682 <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108676>
- 683 Martínez del Pino, L., Urrutia, O., Arana, A., Alfonso, L., Mendizabal, J.A., Soret, B., 2020.
 684 Expression of key myogenic, fibrogenic and adipogenic genes in Longissimus thoracis and
 685 Masseter muscles in cattle. *Animal* 14, 1510–1519.
 686 <https://doi.org/10.1017/S1751731120000051>
- 687 Moisés, S.J., Shike, D.W., Faulkner, D.B., Meter, W.T., Keisler, D., Loor, J.J., 2014. Central role
 688 of the PPAR γ gene network in coordinating beef cattle intramuscular adipogenesis in response
 689 to weaning age and nutrition. *Gene Regul. Syst. Bio.* 2014, 17–32.
 690 <https://doi.org/10.4137/GRSB.S11782>
- 691 Nascimento, K.B., Galvão, M.C., Meneses, J.A.M., Ramírez-Zamudio, G.D., Pereira, D.G.,
 692 Paulino, P.V.R., Casagrande, D.R., Gionbelli, T.R.S., Ladeira, M.M., Duarte, M.S., Loor, J.J.,
 693 Gionbelli, M.P., 2024. Maternal protein supplementation during mid-gestation improves
 694 offspring performance and metabolism in beef cows. *J. Anim. Sci.* 102.
 695 <https://doi.org/10.1093/jas/skae058>
- 696 Nishijima, Y., Taniguchi, S., Ikeda, S., Yoshitani, K., Hamano, T., Tani, H., Fujita, M., Murakami,
 697 K., Kogusa, K., Sato, K., Sugimoto, M., Kume, S., 2017. Effects of β -carotene-enriched dry
 698 carrots on β -carotene status and colostral immunoglobulin in β -carotene-deficient Japanese
 699 Black cows. *Animal Science Journal* 88, 653–658. <https://doi.org/10.1111/asj.12693>
- 700 Noy, N., 2016. Vitamin a transport and cell signaling by the retinol-binding protein receptor
 701 STRA6. *Subcell. Biochem.* 81, 77–93. https://doi.org/10.1007/978-94-024-0945-1_3
- 702 Oliveira, J.M., Casagrande, D.R., Laura, S.A.S., Horta, A.H.A., Miranda, A.S., Gionbelli, T.R.S.,
 703 Chalfun, L.H.L., Ladeira, M.M., 2026. Influence of maternal or neonatal Vitamin A injection
 704 on calf performance and muscle transcriptomics in the cow-calf phase. *Trop. Anim. Health*
 705 *Prod.* 58, 180. <https://doi.org/10.1007/s11250-026-04976-0>
- 706 Paradis, F., Wood, K.M., Swanson, K.C., Miller, S.P., McBride, B.W., Fitzsimmons, C., 2017.
 707 Maternal nutrient restriction in mid-to-late gestation influences fetal mRNA expression in
 708 muscle tissues in beef cattle. *BMC Genomics* 18. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-4051-5>
- 709 Peng, D.Q., Jo, Y.H., Kim, S.J., Kim, N.Y., Nejad, J.G., Lee, H.G., 2020. Oral vitamin A
 710 supplementation during neonatal stage enhances growth, pre-adipocyte and muscle
 711 development in Korean native calves. *Anim. Feed Sci. Technol.* 268.
 712 <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114609>
- 713 Pereira, P.H.B., Santos, M.M. dos, Duarte, M. de S., Sampaio, C.B., 2026. Exploring vitamin A
 714 supplementation in beef cattle: Implications for cow-calf systems. *Revista Brasileira de*
 715 *Zootecnia* 55. <https://doi.org/10.37496/rbz5520240194>
- 716 Qiu, M., Zhang, X., Liao, L., Zhang, N., Liu, M., 2024. Regulatory Role of Nfix Gene in Sheep
 717 Skeletal Muscle Cell Development and Its Interaction Mechanism with MSTN. *Int. J. Mol. Sci.*
 718 25. <https://doi.org/10.3390/ijms252211988>

- 719 Quadro, L., Spiegler, E.K., 2020. Maternal-Fetal Transfer of Vitamin A and Its Impact on
 720 Mammalian Embryonic Development, in: *Subcellular Biochemistry*. Springer, pp. 27–55.
 721 https://doi.org/10.1007/978-3-030-42282-0_2
- 722 Reynolds, L.P., Borowicz, P.P., Caton, J.S., Vonnahme, K.A., Luther, J.S., Hammer, C.J., Maddock
 723 Carlin, K.R., Grazul-Bilska, A.T., Redmer, D.A., 2010. Developmental programming: the
 724 concept, large animal models, and the key role of uteroplacental vascular development. *J. Anim.*
 725 *Sci.* <https://doi.org/10.2527/jas.2009-2359>
- 726 Rodriguez, M., Enger, B.D., Weiss, W.P., Lee, K., Lee, C., 2023. Effects of different vitamin A
 727 supplies on performance and the risk of ketosis in transition cows. *J. Dairy Sci.* 106, 2361–
 728 2373. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22491>
- 729 Scapol, R.S., Baldassini, W.A., Gagaoua, M., Ramírez-Zamudio, G.D., Ladeira, M.M., Poleti,
 730 M.D., Ferraz, J.B.S., Torres, R. de N.S., Torrecilhas, J.A., Pereira, G.L., Machado-Neto, O.R.,
 731 Curi, R.A., Chardulo, L.A.L., 2023. Muscle proteome of crossbred cattle that received vitamin
 732 A at birth: impacts on meat quality traits. *Livest. Sci.* 275.
 733 <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2023.105316>
- 734 Shirakami, Y., Lee, S.A., Clugston, R.D., Blaner, W.S., 2012. Hepatic metabolism of retinoids and
 735 disease associations. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Biol. Lipids.*
 736 <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2011.06.023>
- 737 Song, P., Chen, X., Zhao, Jiamin, Li, Q., Li, X., Wang, Y., Wang, B., Zhao, Junxing, 2023. Vitamin
 738 A injection at birth improves muscle growth in lambs. *Animal Nutrition* 14, 204–212.
 739 <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2023.05.011>
- 740 Spiegler, E., Kim, Y.K., Hoyos, B., Narayanasamy, S., Jiang, H., Savio, N., Curley, R.W., Harrison,
 741 E.H., Hammerling, U., Quadro, L., 2018. β -apo-10'-carotenoids support normal embryonic
 742 development during Vitamin A deficiency. *Sci. Rep.* 8. [https://doi.org/10.1038/s41598-018-](https://doi.org/10.1038/s41598-018-27071-3)
 743 27071-3
- 744 Spiegler, E., Kim, Y.K., Wassef, L., Shete, V., Quadro, L., 2012. Maternal-fetal transfer and
 745 metabolism of vitamin A and its precursor β -carotene in the developing tissues. *Biochim.*
 746 *Biophys. Acta Mol. Cell Biol. Lipids.* <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2011.05.003>
- 747 Taglietti, V., Maroli, G., Cermenati, S., Monteverde, S., Ferrante, A., Rossi, G., Cossu, G.,
 748 Beltrame, M., Messina, G., 2016. Nfix Induces a Switch in Sox6 Transcriptional Activity to
 749 Regulate MyHC-I Expression in Fetal Muscle. *Cell Rep.* 17, 2354–2366.
 750 <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.10.082>
- 751 Tan, Z., Jiang, H., 2024. Molecular and Cellular Mechanisms of Intramuscular Fat Development
 752 and Growth in Cattle. *Int. J. Mol. Sci.* <https://doi.org/10.3390/ijms25052520>
- 753 Valadares Filho, S.C., Costa e Silva, L.F., Gionbelli, M.P., Rotta, P.P., Marcondes, M.I., Chizzotti,
 754 M.L., Prados, L.F., 2016. Nutrient Requirements of Zebu and Crossbred Cattle - BR-CORTE
 755 3.0, third ed. Suprema, Viçosa, Brazil.
- 756 Vonnahme, K.A., Lemley, C.O., Caton, J.S., Meyer, A.M., 2015. Impacts of maternal nutrition on
 757 vascularity of nutrient transferring tissues during gestation and lactation. *Nutrients.*
 758 <https://doi.org/10.3390/nu7053497>

759 Wang, B., Du, M., 2023. Increasing adipocyte number and reducing adipocyte size: the role of
760 retinoids in adipose tissue development and metabolism. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*
761 <https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2227258>

762 Wang, B., Fu, X., Zhu, M.J., Du, M., 2017. Retinoic acid inhibits white adipogenesis by disrupting
763 GADD45A-mediated Zfp423 DNA demethylation. *J. Mol. Cell Biol.* 9, 338–349.
764 <https://doi.org/10.1093/jmcb/mjx026>

765 Yu, X., Ma, Y., Luo, Yanhui, Tang, G., Jiang, Z., Zhang, J., Ye, B., Huang, Z., Luo, Yicheng, Du,
766 M., Wang, B., 2022. Neonatal vitamin A administration increases intramuscular fat by
767 promoting angiogenesis and preadipocyte formation. *Meat Sci.* 191.
768 <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2022.108847>

769 Zhu, M.J., Du, M., Hess, B.W., Means, W.J., Nathanielsz, P.W., Ford, S.P., 2007. Maternal Nutrient
770 Restriction Upregulates Growth Signaling Pathways in the Cotyledonary Artery of Cow
771 Placentomes. *Placenta* 28, 361–368. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2006.04.005>

772 Ziouzenkova, O., Plutzky, J., 2008. Retinoid metabolism and nuclear receptor responses: New
773 insights into coordinated regulation of the PPAR-RXR complex. *FEBS Lett.*
774 <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2007.11.081>

775

776

777

778

779

780

781

782

783

784

785

786

787

788

789

790

791

792

793

794

795 **Tables**

796 **Table1.** Level of inclusion of ingredients and Chemical composition of the diets used during
 797 the experimental period

Ingredient composition, %DM	Basal diet
Corn silage	82.8
Ground corn grain	5.00
Soybean meal	10.5
Urea	0.30
Mineral-vitamin premix ¹	1.40
Chemical Composition, % DM	
Dry matter, %	36.0
Crude protein, %	11.2
RDP	7.80
RUP	3.40
Total digestible nutrients, %	65.7

798 ¹ Nutrient assurance levels (per kilogram of the premixed product): 110 g Ca. 61.60 mg Co. 519 mg Cu. 25 g S.
 799 160 mg Fl. 16 g P. 30 mg I. 17g Mg. 1.412 mg Mn. 7.60 mg Se. 65 g Na. 2.200 mg Zn. 1.100 UI Vitamin D1.
 800 10.000 10E6 UFC *Saccharomyces cerevisiae*. Monensin 4.000mg

801

802 **Table 2.** Primers sequences (5' – 3') used in the RT-qPCR analysis.

Abbreviation	Gene	Primer Sequence	Accession Number
STRA6	Signaling Receptor And Transporter Of Retinol 6	F: GGTACAGCAGATCCTCTTCTTC R: CCACGAGGACTTCAGGTAATG	XM_019983976.2
PDGFR α	Platelet-derived growth factor receptor A	F: CGAGATGGGAGTTTCCAAGAG R: GACAGGTTGAGACCGACTTAAT	XM_024993021.1
VEGF α	Vascular-endothelial growth factor A	F: ACTTGAGTTGGGAGGAGAATG R: GCTGCCGTAAGAGGGATAAA	NM_174216.2
SLC2A1	Solute carrier family 2 member 1	F: TGCTGAGCGTCATCTTCATC R: TCTCCTCGTTGCGGTTAATG	XM_019957687.2
SLC2A3	Solute carrier family 2 member 3	F: AGAGATGGAGAGCAGCAAAC R: GTGTTGTAGCCAAACTGGAAAG	XM_070790189.1
SLC27A1	Solute carrier family 27 member 1	F: CTCTCATGTCTGTGTGTCTGTCTC R: CCCAGAAACGTCTGTTCTACTT	XM_019963872.2

CD36	Cluster of differentiation 36	F: GTGATGAGAAGGCGGAAATG R: ACCACACCAACACTGAGCAA	NM_001278621.1
ALDH1A2	Aldehyde dehydrogenase 1 family member A2	F: CAGGAGAACAGGTGTGTGAAG R: CACACTGAACCCAGAGAGAAAG	XM_070797496.1
LRAT	Lecithin retinol acyltransferase	F: CGGGAGTTGTTGACCTTCTT R: GGCTCAGGGTTTCTTCCATAA	XM_019977982.2
CYP26A1	Cytochrome P450 family 26 subfamily A member 1	F: ATGGATACCAGATTCCCAAAGG R: GCAGAAAGCGGTCAGGATTA	XM_019953229.2
CYP26C1	Cytochrome P450 family 26 subfamily C member 1	F: GCCTAATGGGATGGAAGGATAC R: TAGTGTCACCTGCTCCAAAGC	XM_019988597.2
RARA	Retinoic acid receptor alpha	F: TCTGCCTCATCTGTGGAGAC R: CTGGCATTGCTGGTGATGA	XM_027556851.1
RXRβ	Retinoid X Receptor beta	F: CTGTGACCAACATCTGCCAG R: CTCCATGAGGAAGGTGTCGA	NM_001083640.1
NFIX	Nuclear factor I X	F: AGACTGCATAGAACATGGAGATG R: GTTGAACCAGGTGTAGGAGAAG	XM_070792703.1
MSTN	Myostatin	F: CCACGGAGTCTGATCTTCTAAC R: TATCCACAGTTGGGCCTTTAC	XM_019969486.2
CEBPα	CCAAT Enhancer binding protein alpha	F: GGCAACGACTTTGACTACCC R: GGTCATTGTCACTGGTCAGC	NM_176784.2
PPARγ	Peroxisome Proliferator Activated Receptor gamma	F: GACATCAAGCCCTTCACCAC R: GGGGACTGATGTGCTTGAAC	NM_181024.2
DLK1	Delta like non-canonical notch ligand 1	F: GGATTCTGCGACGATGACAG R: TGTGGTTGTAGCGCAGATTG	NM_174037.2
ZNF423	Zinc finger protein 423	F: CCGTTCAAGTGCACCTACTG R: GGACGAAGACTGTGAAGCAC	NM_001101893.1
PAX7	Paired box 7	F: GACCCTCCAGTTTCCTCATTT R: CCAGTTATGAAACCCTCCTCTG	XM_027522151.1
MYOG	Myogenin	F: CACAGATGCCACCACTTCTG R: TTCAGCACAGAGACCTTGGT	NM_001111325.1
MYF5	Myogenic factor 5	F: AGCGTCTACTGTCCTGATGTA R: GTTGGTGATCCGATCCACTATG	NM_174116.1
ACTB	Actin beta	F: GTCCACCTTCCAGCAGATGT R: CAGTCCGCCTAGAAGCATTT	NM_173979.3

803 Actin beta (ACTB), , Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH), , Platelet derived growth factor
804 receptor alpha (PDGFRα), Peroxisome Proliferator Activated Receptor gamma (PPARγ), Retinoic acid receptor
805 alpha (RARα), Vascular endothelial growth factor A (VEGFA), Vascular endothelial growth factor A (VEGFA),

806 Signaling Receptor And Transporter Of Retinol 6 (STRA6), Solute carrier family 2 member 1 (SLC2A1), Solute
 807 carrier family 2 member 3 (SLC2A3), Solute carrier family 27 member 1 (SLC27A1), Cluster of differentiation
 808 36 (CD36), Aldehyde dehydrogenase 1 family member A2 (ALDH1A2), Lecithin retinol acyltransferase (LRAT),
 809 Cytochrome P450 family 26 subfamily A member 1 (CYP26A1), Cytochrome P450 family 26 subfamily C
 810 member 1 (CYP26C1), Nuclear factor I X (NFIX), Myostatin (MSTN), CCAAT Enhancer binding protein alpha
 811 (CEBPA), Delta like non-canonical notch ligand 1 (DLK1), Retinoic acid receptor alpha (RARA), Retinoid X
 812 Receptor beta (RXRB), Zinc finger protein 423 (ZNF423), Paired box 7 (PAX7), Myogenic differentiation 1
 813 (MYOD1), Myogenin (MYOG), Myogenic factor 5 (MYF5), Peroxisome Proliferator Activated Receptor gamma
 814 (PPAR γ),

815

816 **Table 3.** Effects of maternal vitamin A injection in the last trimester of gestation on maternal
 817 performance during gestation.

Item	Vitamin A (VA)			Sex		SEM [‡]	P- value		
	CON	VA	SEM [‡]	Male	Female		VA [¥]	OS	VA x S [†]
Maternal Body Weight, kg									
Day 245 of gestation	516	511	16.9	528	498	17.1	0.73	0.10	0.94
Day 260 of gestation	548	543	4.69	545	546	4.81	0.29	0.86	0.65
Day 275 of gestation	571	560	5.22	564	567	5.35	0.09	0.62	0.52
<i>Day 245–275 of gestation</i>									
Maternal tissue ADG ¹ , g	0.451	0.190	0.14	0.229	0.412	0.14	0.12	0.31	0.66
Gestation ADG ² , kg/day	0.674	0.638	0.03	0.702	0.610	0.03	0.39	0.04	0.26
Total ADG ³ , kg/day	1.136	0.835	0.14	0.943	1.028	0.15	0.09	0.65	0.51
Birth weight, kg	536	527	0.24	527	536	8.05	0.27	0.39	0.27
Average daily gain, ADG kg/d	1.23	0.93	0.32	1.04	1.15	0.32	0.09	0.61	0.52
DMI, kg/day	6.33	5.82	0.91	6.16	5.99	0.91	0.32	0.76	0.99
DMI, % BW	1.18	1.09	0.17	1.14	1.13	0.17	0.30	0.95	0.90
Days of gestation	294	291	2.84	294	292	2.88	0.16	0.48	0.07
Male	293 ^{ab}	294 ^a							
Female	296 ^a	288 ^b							
Retinol Cows, ug/L	8.34	8.47	0.02	8.43	8.39	0.03	<0.01	0.34	<0.01
Male	8.30 ^c	8.56 ^a							
Female	8.39 ^c	8.38 ^b							

818 a, b, c Means within a row sharing a common superscript do not differ significantly

819 [‡]SEM = standard error of the means

820 [¥]VA = P-value for vitamin A effects

821 [†]VA×S = vitamin A × offspring sex interaction

822 CON = control treatment with no Vitamin A injection in cows; VA = VA injection in pregnant cows at 245, 260
 823 and 275 d of gestation

824

825 **Table 4.** Effects of maternal vitamin A injection in the last trimester of gestation on cow and
 826 calf performance during the cow-calf phase

Item	Vitamin A (VA)	Sex	SEM [‡]	P- value
------	----------------	-----	------------------	----------

	CON	VA		Male	Female		VA [‡]	Sex	VA x S [†]
Calf Birth weight, Kg	31.3	29.3	1.34	33.1	27.5	1.36	0.21	<0.01	0.05
Male	32.5 ^a	33.7 ^a							
Female	30.0 ^a	24.9 ^b							
Milk production kg/day	7.42	7.16	0.44	7.47	7.11	0.43	0.59	0.41	0.61
Calf BW at weaning, Kg	184.6	173.1	16.4	190.2	167.5	16.5	0.12	0.01	0.47
Calf ADG, kg/day	0.743	0.720	0.07	0.765	0.698	0.07	0.47	0.05	0.18
Cow BW at weaning, kg	482	483	23.3	475	490	23.4	0.96	0.20	0.65
Cow ADG, kg/d	-0.261	-0.208	0.08	-0.253	-0.216	0.08	0.36	0.55	0.77
Cow BCS	4.47	4.66	0.45	4.08	5.05	0.46	0.63	0.03	0.18
Cows difference BCS	-2.35	-2.31	0.55	-2.84	-1.82	0.56	0.94	0.05	0.48

827 a, b, c Means within a row sharing a common superscript do not differ significantly

828 [‡]SEM = standard error of the means

829 [‡]VA = P-value for vitamin A effects

830 [†]VA×S = vitamin A × offspring sex interaction

831 CON = control treatment with no Vitamin A injection in cows; VA = VA injection in pregnant cows at 245, 260
832 and 275 d of gestation; BW = Body Weight; ADG = Average Daily Again; BCS= Body Condition Score

833

834 **Table 5.** Effects of maternal vitamin A injection in the last trimester of gestation on placental
835 parameters

Item	Vitamin A (VA)		SEM [‡]	Sex		SEM [‡]	P- value		
	CON	VA		Male	Female		VA [‡]	Sex	VA x S [†]
Placental weight, Kg	3.77	3.86	0.86	4.41	3.30	0.86	0.23	0.05	0.24
N°. of cotyledons, n	64.1	59.2	5.94	54.8	68.5	5.94	0.52	0.12	0.96
Cotyledon length, cm	6.79	6.99	0.69	7.27	6.22	0.64	0.79	0.13	0.99
Placental efficiency	8.04	7.49	1.02	7.31	8.24	1.02	0.47	0.32	0.86
VAD, %	11.65	13.43	8.52	8.48	16.59	8.62	0.55	0.08	0.02
VSD, $\mu\text{m}^2/\mu\text{m}^3$	5.25	6.57	8.30	4.64	7.19	8.33	0.42	0.28	0.48
APC, μm^2	95.2	94.6	40.0	88.8	101	40.2	0.95	0.32	0.02

836 a, b, c Means within a row sharing a common superscript do not differ significantly

837 [‡]SEM = standard error of the means

838 [‡]VA = P-value for vitamin A effects

839 [†]VA×S = vitamin A × offspring sex interaction

840 CON = control treatment with no Vitamin A injection in cows; VA = VA injection in pregnant cows at 245, 260
841 and 275 d of gestation; BW = Body Weight; ADG = Average Daily Again; BCS= Body Condition Score; VAD=
842 Vascular area density; VSD= Vascular surface density; APC= Area Per Capillary.

843

844 **Table 6.** Repeated measurement over time of milk production in Tabapuã cows.

	Milk yield, kg	Fat, %	Protein, %	Lactose, %	TDE	DDE
<i>Vitamin A</i>						
CON	3.40	2.52	3.55	4.46	12.55	9.29
VA	3.92	2.96	3.74	4.68	12.76	9.38
SEM	0.16	0.23	0.08	0.17	0.20	0.07

<i>Sex</i>						
Male	3.99	2.77	3.54	4.40	13.14	9.29
Female	3.34	2.71	3.75	4.75	12.18	9.37
SEM	0.18	0.25	0.08	0.19	0.21	0.07
<i>Time, days</i>						
15d	2.88	2.09	3.47	4.78	12.10	9.16
30d	4.67	2.37	3.59	4.59	12.36	9.22
45d	4.31	2.83	3.63	4.62	12.73	9.41
73d	3.70	3.04	3.71	4.54	12.95	9.46
101d	2.76	3.39	3.83	4.33	13.16	9.42
SEM	0.21	0.26	0.09	0.17	0.26	0.09
<i>P-Value</i>						
VA	0.01	0.03	0.02	0.16	0.23	0.18
Sex	0.01	0.65	0.05	0.13	0.01	0.38
Time	<0.01	<0.01	<0.01	0.04	<0.01	0.02
VA x S	0.02	0.46	0.32	0.48	0.78	0.09
VA x T	0.22	0.81	0.93	0.97	0.80	0.89
S x T	0.86	0.92	0.66	0.98	0.16	0.64
S x VA x T	0.98	0.99	0.89	0.28	0.94	0.78

a, b, c Means within a row sharing a common superscript do not differ significantly

‡SEM = standard error of the means

¥VA = P-value for vitamin A effects

†VA×S = vitamin A × offspring sex interaction

CON = control treatment with no Vitamin A injection in cows; VA = VA injection in pregnant cows at 245, 260 and 275 d of gestation; TDE = Total dry extract; DDE = Defatted dry extract

Table 7. Effects of maternal vitamin A injection in the last trimester of gestation on the cow and offspring muscle development and fat thickness at weaning

Item	Vitamin A (VA)		SEM‡	Sex		SEM‡	P- value		
	CON	VA		Male	Female		VA¥	Sex	VA x S†
Longissimus muscle area, cm ²	29.8	32.5	1.98	31.8	30.5	1.96	0.23	0.55	0.43
Muscularity index, cm ² /100 kg BW	15.0	18.7	0.97	15.6	18.1	0.98	0.01	0.05	0.57
Longissimus muscle width, cm	11.1	12.1	0.40	11.3	11.9	0.40	0.06	0.25	0.80
Backfat thickness, cm	1.74	2.06	0.68	1.74	2.05	0.68	0.14	0.20	0.75
Rump depth, cm	5.44	4.91	0.28	5.33	5.02	0.28	0.13	0.38	0.20
Rump fat thickness, cm	1.12	1.11	0.47	1.04	1.19	0.47	0.93	0.48	0.69
Longissimus muscle area, cm ²	42.7	43.2	5.84	40.8	45.0	5.87	0.87	0.22	0.79
Muscularity index, cm ² /100 kg BW	23.7	25.8	4.14	21.9	27.6	4.16	0.33	0.02	0.85
Longissimus muscle width, cm	13.1	13.3	1.05	12.7	13.7	1.05	0.77	0.05	0.64
Backfat thickness, cm	1.00	1.07	0.40	1.16	0.91	0.40	0.56	0.08	0.16
Rump depth, cm	6.71	6.53	0.27	6.36	6.88	0.27	0.56	0.13	0.10
Rump fat thickness, cm	6.35	6.93	1.25	6.50	6.78	1.27	0.23	0.67	0.60

a, b, c Means within a row sharing a common superscript do not differ significantly

‡SEM = standard error of the means

‡VA = P-value for vitamin A effects

†VA×S = vitamin A × offspring sex interaction

CON = control treatment with no Vitamin A injection in cows; VA = VA injection in pregnant cows at 245, 260 and 275 d of gestation; BW = Body Weight

Table 8. Effects of maternal vitamin A injection in the last trimester of gestation on liver tissue gene expression at different times of gestation

Item	LRAT	ALDH1A2	RARA	CYP26A1	CYP26C1
<i>Vitamin A (VA)</i>					
CON	1.17	0.78	1.04	0.93	0.74
VA	1.14	0.36	0.77	0.47	0.34
SEM	0.22	0.12	0.14	0.15	0.13
<i>Sex (S)</i>					
Male	1.18	0.56	0.94	0.62	0.55
Female	1.13	0.51	0.86	0.70	0.45
SEM	0.23	0.11	0.14	0.15	0.13
<i>Tempo (T), days of gestation</i>					
245 d	1.17	0.61	0.92	0.64	0.43
260 d	1.44	0.92	1.49	0.99	0.80
275 d	0.91	0.27	0.53	0.46	0.36
SEM	0.25	0.14	0.17	0.16	0.14
<i>P-Value</i>					
VA	0.88	<0.01	0.08	0.01	<0.01
Sex	0.85	0.70	0.60	0.61	0.45
Time	0.09	<0.01	<0.01	<0.01	0.03
VA x S	0.12	0.59	0.17	0.31	0.84
VA x T	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
S x T	0.70	0.28	0.60	0.43	0.21
VA x S x T	0.12	0.06	0.51	0.42	0.07

a, b, c Means within a row sharing a common superscript do not differ significantly

‡SEM = standard error of the means

‡VA = P-value for vitamin A effects

†VA×S = vitamin A × offspring sex interaction

VA×T = vitamin A × time interaction

VA×S × T = vitamin A × time interaction

CON = control treatment with no Vitamin A injection in cows; VA = VA injection in pregnant cows at 245, 260 and 275 d of gestation; S = offspring sex; T = time of gestation

Table 9. Effects of maternal vitamin A injection in the last trimester of gestation on gene expression in cotyledons

Item	Vitamin A (VA)		SEM [‡]	Sex		SEM [‡]	P- value		
	CON	VA		Male	Female		VA [¥]	Sex	VA x S [†]
<i>PDGFRA</i>	1.13	0.76	0.45	1.22	0.66	0.46	0.18	0.14	0.20
<i>VEGFA</i>	1.38	1.13	0.57	0.79	1.72	0.58	0.40	0.03	0.63
<i>GLUT1</i>	0.99	0.75	0.30	0.28	1.46	0.31	0.26	0.00	0.36
<i>GLUT3</i>	0.54	0.45	0.25	0.44	0.56	0.26	0.75	0.73	0.44
<i>FATP1</i>	0.89	0.66	0.41	0.76	0.78	0.42	0.51	0.96	0.90
<i>STRA6</i>	1.38	1.24	0.81	1.33	1.29	0.83	0.68	0.94	0.04
<i>CD36</i>	0.99	2.62	1.85	2.15	1.21	1.92	0.43	0.71	0.54

a, b, c Means within a row sharing a common superscript do not differ significantly

[‡]SEM = standard error of the means

[¥]VA = P-value for vitamin A effects

[†]VA×S = vitamin A × offspring sex interaction

CON = control treatment with no Vitamin A injection in cows; VA = VA injection in pregnant cows at 245, 260 and 275 d of gestation

Table 10. Effects of maternal vitamin A injection in the last trimester of gestation on longissimus thoracis muscle gene expression at birth

Item	Vitamin A (VA)		SEM [‡]	Sex		SEM [‡]	P- value		
	CON	VA		Male	Female		VA [¥]	Sex	VA x S [†]
Vitamin A metabolism									
<i>ALDH1A1</i>	0.44	0.49	0.11	0.61	0.35	0.11	0.76	0.10	0.18
<i>RARA</i>	1.17	1.39	0.75	1.52	0.96	0.79	0.61	0.07	0.02
<i>RXRβ</i>	0.69	0.79	0.16	0.92	0.55	0.16	0.66	0.16	0.99
<i>CYP26C1</i>	0.94	1.92	0.81	1.60	1.38	0.78	0.13	0.47	0.96
Adipogenesis and other key regulators of mesenchymal cell development									
<i>ZNF423</i>	0.69	1.11	0.17	1.45	0.53	0.14	0.07	<0.01	0.42
<i>PPARγ</i>	0.35	3.14	0.92	0.97	1.12	0.55	<0.01	0.84	0.48
<i>CEBPA</i>	1.03	1.01	0.13	0.13	0.82	0.12	0.90	0.04	0.02
<i>DLK1</i>	0.90	1.03	0.14	1.17	0.76	0.13	0.51	0.07	0.34
Muscle cell determination and muscle fiber formation									
<i>PAX7</i>	1.18	1.20	0.26	1.46	0.97	0.27	0.97	0.18	0.03
<i>MyOG</i>	1.12	1.47	0.29	1.66	0.92	0.30	0.20	0.02	0.17
<i>MYF5</i>	1.12	0.88	0.80	1.60	0.39	0.79	0.77	0.16	0.14
<i>NFIX</i>	0.75	0.96	0.25	1.13	0.64	0.56	0.50	0.17	0.33
<i>MSTN</i>	0.69	0.27	0.32	0.65	0.29	0.30	0.03	0.04	0.35

a, b, c Means within a row sharing a common superscript do not differ significantly

[‡]SEM = standard error of the means

[¥]VA = P-value for vitamin A effects

[†]VA×S = vitamin A × offspring sex interaction

CON = control treatment with no Vitamin A injection in cows; VA = VA injection in pregnant cows at 245, 260 and 275 d of gestation

Table 11. Effects of maternal Vitamin A injection on the final third of pregnancy on longissimus thoracis muscle gene expression at weaning

Item	Vitamin A (VA)		SEM [‡]	Sex		SEM [‡]	P- value		
	CON	VA		Male	Female		VA [‡]	Sex	VA x S [†]
Vitamin A metabolism									
<i>ALDH1A1</i>	0.67	1.00	0.20	0.98	0.68	0.83	0.29	0.30	0.91
<i>RARA</i>	0.77	1.43	0.28	1.18	0.93	0.27	0.13	0.54	0.86
<i>RXRβ</i>	0.49	1.40	0.18	1.22	0.67	0.17	0.07	0.03	0.07
<i>CYP26C1</i>	0.42	0.85	0.14	0.90	0.39	0.15	0.02	0.02	0.05
Adipogenesis and other key regulators of mesenchymal cell development									
<i>ZNF423</i>	0.85	0.41	0.25	0.65	0.53	0.24	0.24	0.65	0.54
<i>PPARG</i>	0.96	1.55	0.53	1.02	1.46	0.53	0.02	0.06	0.00
<i>CEBPA</i>	0.92	0.82	0.26	0.84	0.89	0.26	0.72	0.87	0.98
<i>DLK1</i>	0.78	0.75	0.25	0.86	0.68	0.25	0.93	0.62	0.81
Muscle cell determination and muscle fiber formation									
<i>PAX7</i>	0.87	0.70	0.45	0.77	0.79	0.45	0.71	0.96	0.92
<i>MyOG</i>	0.96	1.12	0.80	0.89	1.21	0.80	0.76	0.47	0.45
<i>MYF5</i>	1.06	0.96	0.47	1.02	0.99	0.46	0.75	0.93	0.92
<i>NFIX</i>	0.59	1.37	0.35	1.03	0.78	0.32	0.02	0.41	0.97
<i>MSTN</i>	1.34	0.62	0.20	0.64	1.31	0.20	0.01	0.03	0.32

893



894

Figure 1. Interaction effect between Vitamin A treatment (CON vs. VA) and offspring's sex (Male vs. Female) on milk production in Tabapuã cows. Different superscripts represent different means ($P < 0.10$).

897

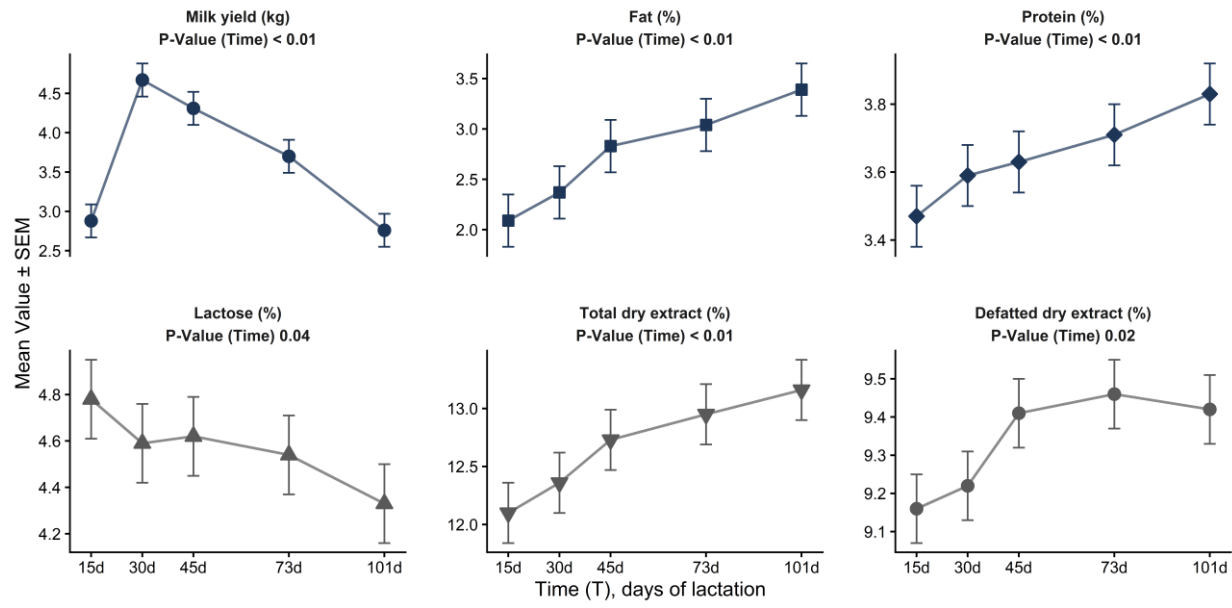


Figure 2. Effect of vitamin A injection on the final third of pregnancy in Tabapua cows on milk production and quality throughout lactation.

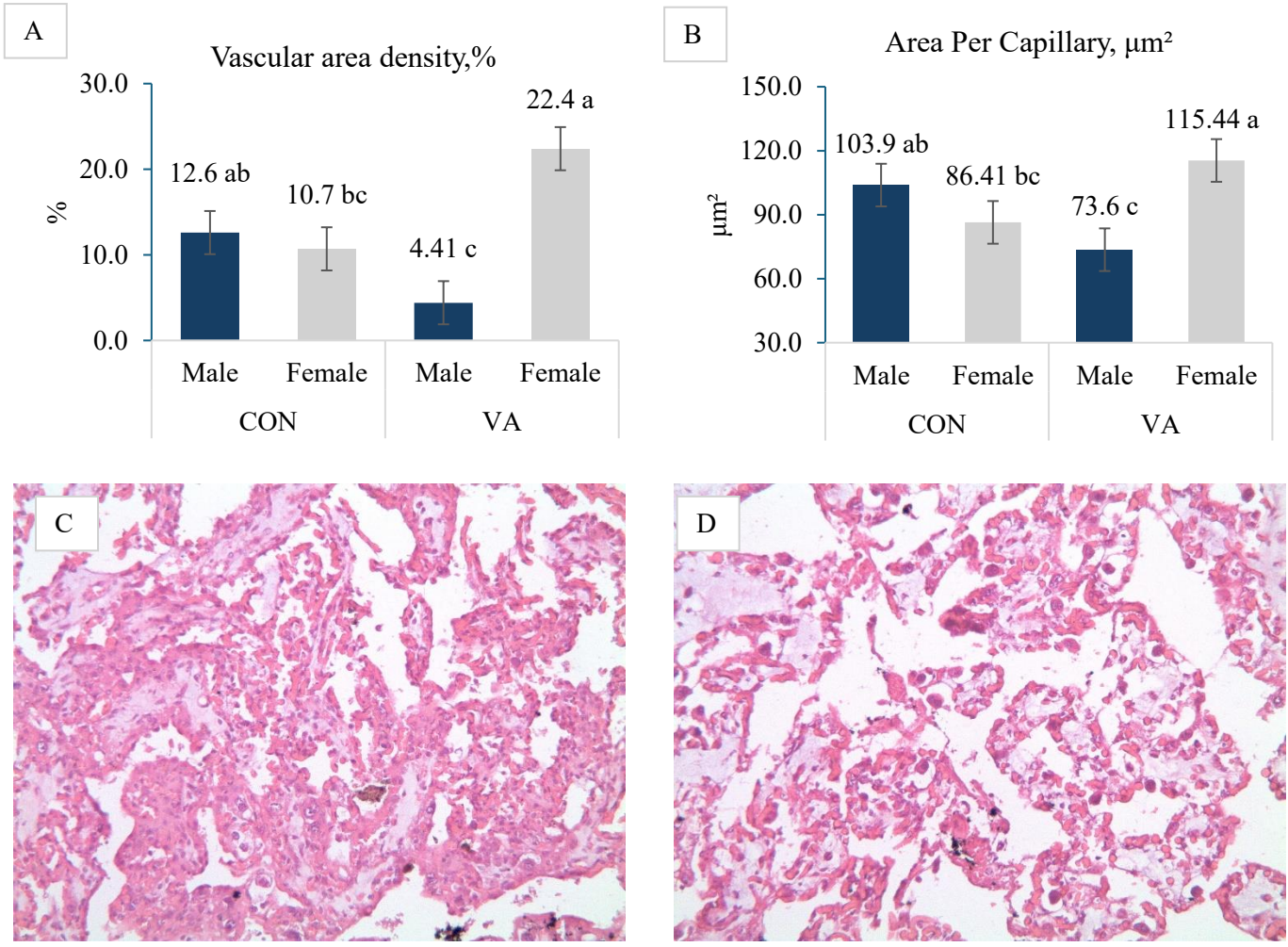


Figure 3. Interaction effect between Vitamin A treatment (CON vs. VA) and offspring's sex (Male vs. Female) on cotyledon microvascularization. Vascular area density, % (A) and Area Per Capillary, μm^2 (B). The average size of blood vessels was counted in three fields/image (μm^2) captured at 20 $\times$. Representative image of the VA (C) and CON (D) groups. The bars represent the mean $\pm$ standard error of the mean (SEM).

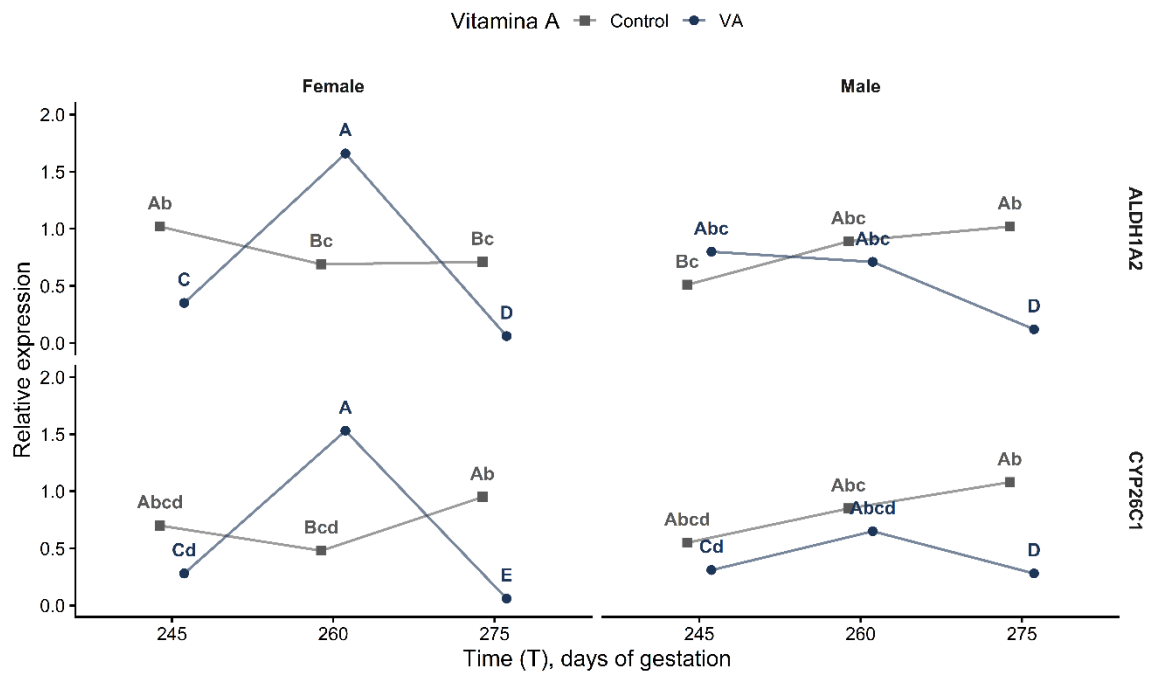
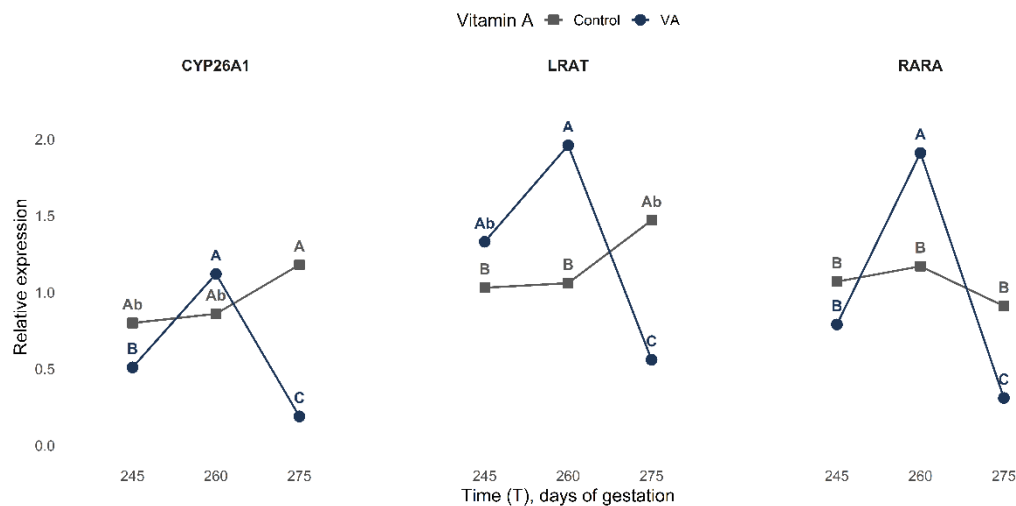
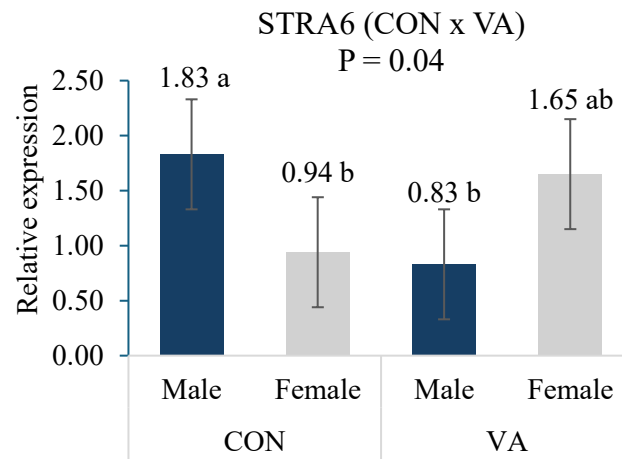


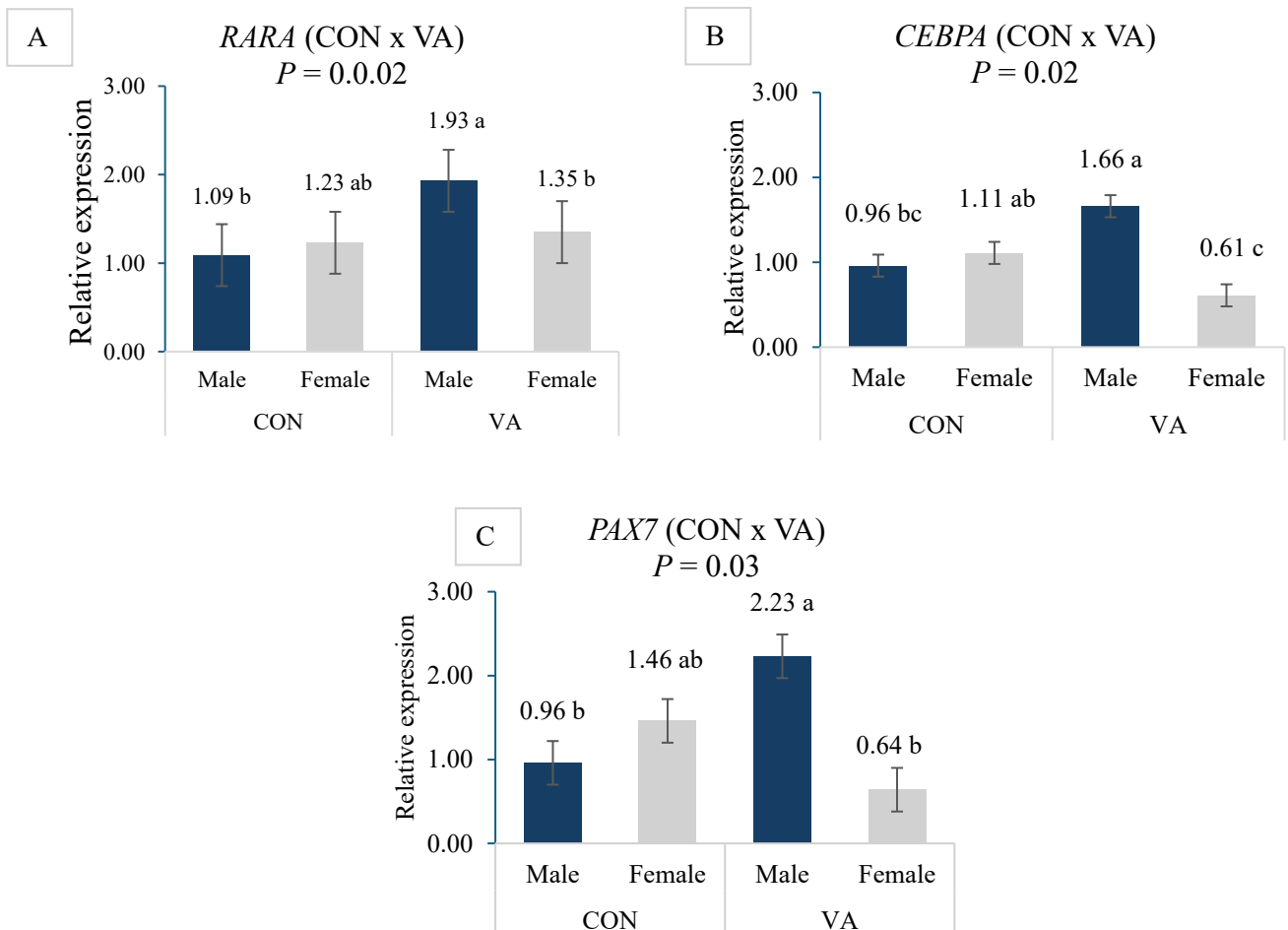
Figure 4. Triple interaction effect between vitamin A treatment (CON vs. VA), fetal sex (Male vs. Female), and gestational time (245, 260, and 275 days) on hepatic expression of *ALDH1A2* and *CYP26C1* in pregnant Tabapuã cows. Different superscripts represent different means ($P < 0.10$).



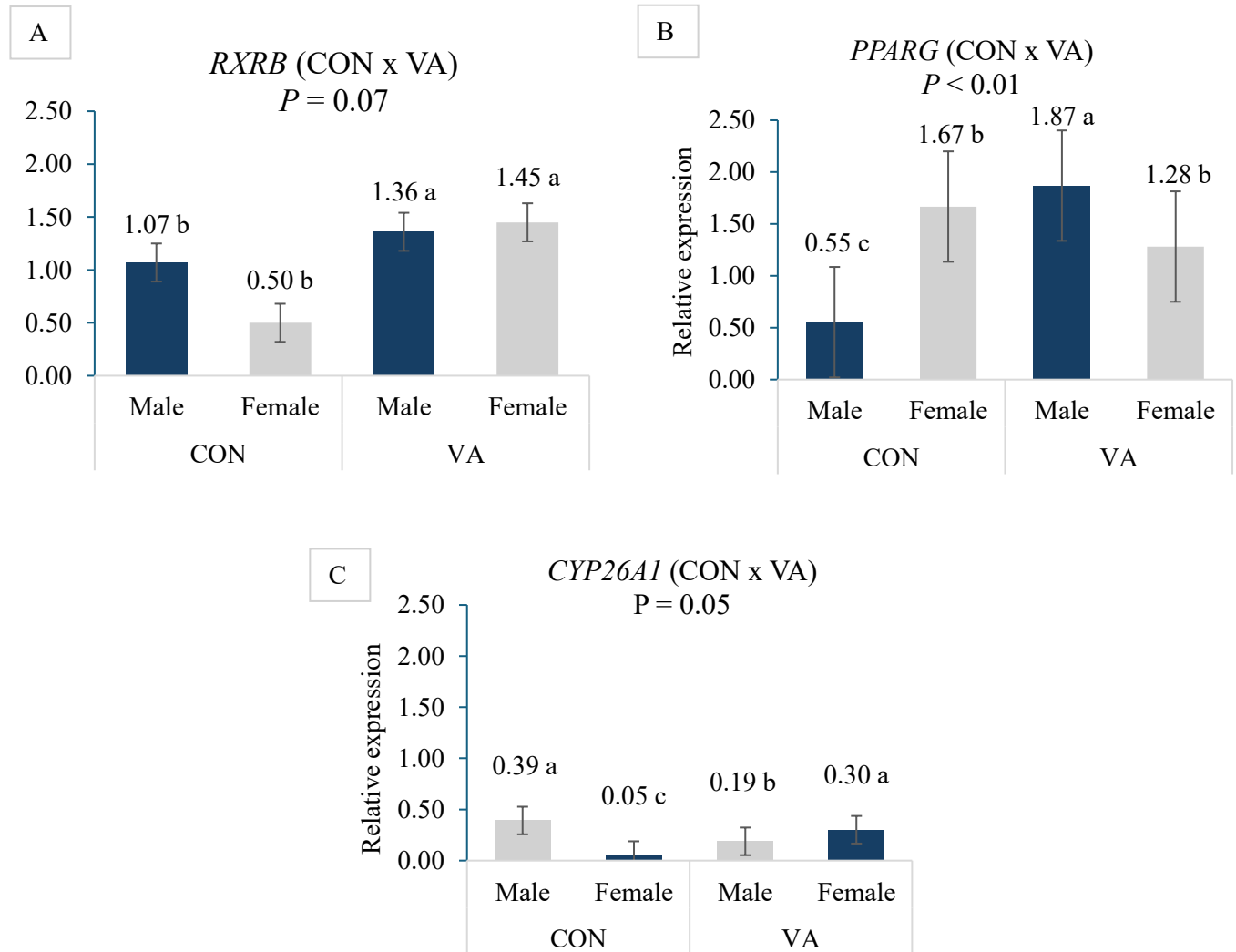
914 **Figure 5.** Interaction effect between vitamin A treatment (CON vs. VA) and gestational time
 915 (245, 260, and 275 days) on hepatic expression of *CYP26A1*, *LRAT*, and *RARA* in pregnant
 916 Tabapuã cows. Different superscripts represent different means ($P < 0.05$).



917 **Figure 6.** Interaction effect between Vitamin A treatment (CON vs. VA) and offspring's sex
 918 (Male vs. Female) on the relative gene expression of *STRA6* in cotyledons. Different subscripts
 919 represent different means ($P < 0.10$).



920 **Figure 7.** Interaction effect between Vitamin A treatment (CON vs. VA) and offspring's sex
 921 (Male vs. Female) on the relative gene expression of *RARA* (A), *CEBPA* (B), and *PAX7* (C) at
 922 7 days. Different subscripts represent different means ($P < 0.10$).



923 **Figure 8.** Interaction effect between Vitamin A treatment (CON vs. VA) and offspring's sex
 924 (Male vs. Female) on the relative gene expression of *RXR*B (A), *PPARG* (B), and *CYP26A1*
 925 (C) at weaning. Different subscripts represent different means ($P < 0.10$).

926

927

928