

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

NÍVEIS DE METIONINA + CISTINA E SUPLEMENTAÇÃO
DE VITAMINA B₆ PARA SUÍNOS MACHOS CASTRADOS E
FÊMEAS DOS 75 AOS 100 KG

Autor: Cleiton Pagliari Sangali
Orientador: Prof. Dr. Paulo Cesar Pozza
Coorientador: Prof. Dr. Antonio Cláudio Furlan

MARINGÁ
Estado do Paraná
Fevereiro – 2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

NÍVEIS DE METIONINA + CISTINA E SUPLEMENTAÇÃO
DE VITAMINA B₆ PARA SUÍNOS MACHOS CASTRADOS E
FÊMEAS DOS 75 AOS 100 KG

Autor: Cleiton Pagliari Sangali
Orientador: Prof. Dr. Paulo Cesar Pozza
Coorientador: Prof. Dr. Antonio Cláudio Furlan

“Tese apresentada como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá - Área de Concentração Produção Animal”

MARINGÁ
Estado do Paraná
Fevereiro – 2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá, PR, Brasil)

S225n Sangali, Cleiton Pagliari
Níveis de metionina + cistina e suplementação de
vitamina B₆ para suínos machos castrados e fêmeas
dos 75 aos 100Kg / Cleiton Pagliari Sangali --
Maringá, 2016.
115 f. : il., figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Cesar Pozza.
Coorientador: Prof. Dr. Antonio Claudio Furlan.
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de
Maringá, Centro de Ciência Agrárias, Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia, 2016.

1. Aminoácidos sulfurados. 2. Suínos -
Características de carcaça. 3. Suínos - desempenho.
4. Expressão gênica. 5. Homocisteína. 6. Qualidade
de carne. I. Pozza, Paulo Cesar, orient. II.
Furlan, Antonio Claudio, coorient. III. Universidade
Estadual de Maringá. Centro de Agrárias. Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia. IV. Título.

CDD 21.ed. 636.6

AHS-002843




UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**NÍVEIS DE METIONINA + CISTINA E
SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA B6 PARA SUÍNOS
MACHOS CASTRADOS E FÊMEAS DOS 75 AOS 100 KG**

Autor: Cleiton Pagliari Sangali
Orientador: Prof. Dr. Paulo Cesar Pozza

TITULAÇÃO: Doutor em Zootecnia - Área de Concentração Produção
Animal


APROVADA em 22 de fevereiro de 2016.


Profª Drª Eliane Gasparino


Profª Drª Simara Márcia Marcato


Prof. Dr. Alexandre Oba


Prof. Dr. Caio Abércio da Silva


Prof. Dr. Paulo Cesar Pozza
(Orientador)

“O entusiasmo é a maior força da alma. Conserva-o e nunca te faltará poder para conseguires o que desejas”

Napoleão Bonaparte (*1769 - †1821)

A Deus e Nossa Senhora Aparecida, pela vida e proteção, e por permitirem que este sonho se tornasse realidade,

Aos familiares, em especial a minha mãe, Lourdes Pagliari, mulher batalhadora, minha fonte de inspiração,

À minha namorada, Jéssica Ortega de Jesus: companheira e amiga em todos os momentos,

Ao meu amigo e professor Paulo Cesar Pozza, exemplo de ética profissional,

Aos professores, colegas e funcionários, que auxiliaram na elaboração deste trabalho,

Dedico!

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, por todas as oportunidades que me foram proporcionadas;

A todos os professores e funcionários do Centro de Ciências Agrárias e do Programa de Pós-graduação em Zootecnia da UNIOESTE, pelos conhecimentos essenciais, os quais foram os alicerces da minha formação acadêmica;

Ao meu orientador, Prof. Dr. Paulo Cesar Pozza, e co-orientador, Prof. Dr. Antonio Cláudio Furlan, pela paciência, pelo conhecimento repassado, pelos exemplos de ética, profissionalismo e dedicação;

Aos integrantes da banca de qualificação e defesa, por aceitarem o convite e contribuírem para o enriquecimento do presente trabalho;

À professora Eliane Gasparino e suas orientadas, Ana Paula Del Vesco e Angélica de Souza Khatlab, por toda a ajuda e pelos conhecimentos repassados;

Aos colegas do grupo de pesquisa: Tiago Junior Pasquetti, Vinícius Cambito de Paula, Isabela Ferreira Leal, Bruno Henrique Monteiro, Natália Galoro Leite, Silvia Letícia Ferreira e Laura Marcela Diaz Huepa, pela atenção e contribuição dedicadas a este trabalho;

Aos funcionários do Setor de Suinocultura da Fazenda Experimental de Iguatemi, em especial ao Carlos José da Silva, João Salvalágio Rodrigues e Antônio Donizete de Moraes, pela ajuda e comprometimento na realização deste trabalho;

A todos meus grandes amigos de graduação e pós-graduação, em especial: Aparecida da Costa Oliveira, Débora Cristiane Freitag, Ricardo Araujo Castilho, Leandro Dalcin Castilha, Camila Francisca Muniz, Lucas Antonio Costa Esteves, Lucas Pimentel

Bonagurio, Heber Luiz Pereira, Alessandra Nardina Trícia Rigo Monteiro, Marcelise Regina Fachinello, Daiane de Oliveira Grieser, Kellen Cristina Kuwahara, Tatiana García Díaz, Natália Holtz Alves Pedroso Mora, Aline Mayra da Silva Oliveira, Juliana Alice Lösch, Taciana Maria Moraes de Oliveira, Micheli Zaminhan e Mayra Diaz Vargas, pela convivência e pelos momentos que compartilhamos da nossa amizade;

A todos os familiares, pelo incentivo nos estudos e por torcerem pelo meu sucesso;

À minha mãe, Lourdes Pagliari que, mesmo diante de tantas dificuldades, sempre me proporcionou condições para tornar este sonho realidade;

À minha namorada, Jéssica Ortega de Jesus, pelo companheirismo, compreensão e amizade em todos os momentos;

Obrigado.

BIOGRAFIA

CLEITON PAGLIARI SANGALI, filho de Jorge Sangali e Lourdes Pagliari, nasceu em Matelândia – PR, em 19 de março de 1986.

Em fevereiro de 2005, iniciou o Curso de Graduação em Zootecnia pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná, no *campus* de Marechal Cândido Rondon-PR, cumprindo as exigências para obtenção do título de “Zootecnista” em dezembro de 2009.

Em março de 2010, iniciou o Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, Nível Mestrado, pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon-PR, concentrando seus estudos na área de Nutrição de Monogástricos, submetendo-se aos exames finais de defesa de dissertação em junho de 2012.

Em 2013, iniciou o Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, em Nível de Doutorado, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na área de Nutrição de Suínos. Submeteu-se ao Exame Geral de Qualificação em 16 de dezembro de 2015 e, em 22 de fevereiro de 2016, submeteu-se à defesa da Tese.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	xi
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xii
RESUMO.....	xv
ABSTRACT.....	xvii
I. INTRODUÇÃO.....	19
1. Revisão de literatura	22
1.1. Importância dos aminoácidos na nutrição de suínos.....	22
1.2. Exigências de AAS para suínos.....	23
1.2.1. Fatores que influenciam as exigências de AAS para suínos.....	25
1.3. Metabolismo e funções dos AAS.....	28
1.3.1. Regulação do ciclo da metionina.....	31
1.3.2. SAM e síntese de biomoléculas.....	33
1.3.3. Metabolismo da cisteína e síntese de biomoléculas.....	36
1.4. Vitamina B ₆ e sua relação metabólica com a metionina.....	40
1.5. Hiper-homocisteinemia.....	45
1.6. Efeito dos AAS sobre as características de carcaça e qualidade de carne.....	49
REFERÊNCIAS.....	53
II. OBJETIVOS GERAIS.....	64
III. NÍVEIS DE METIONINA + CISTINA DIGESTÍVEIS E SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA B ₆ PARA SUÍNOS MACHOS CASTRADOS DOS 75 AOS 100 KG.....	65
Resumo.....	65

Introdução.....	66
Materiais e Métodos.....	67
Resultados.....	73
Discussões.....	78
Conclusões.....	86
Referências.....	87
IV. NÍVEIS DE METIONINA + CISTINA DIGESTÍVEIS E SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA B ₆ PARA FÊMEAS SUÍNAS DOS 75 AOS 100 KG.....	92
Resumo.....	92
Introdução.....	93
Materiais e Métodos.....	94
Resultados.....	100
Discussões.....	105
Conclusões.....	111
Referências.....	111
V. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	115

LISTA DE TABELAS

	Página
1. Revisão de literatura	22
Tabela 1. Exigência de Met+Cis e sua relação com a lisina, para suínos, em fase de terminação.....	25
Tabela 2. Classificação da hiper-homocisteinemia em humanos.....	47
III. NÍVEIS DE METIONINA + CISTINA DIGESTÍVEIS E SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA B ₆ PARA SUÍNOS MACHOS CASTRADOS DOS 75 AOS 100 KG.....	65
Tabela 1. Composição centesimal, química e energética das rações experimentais contendo diferentes níveis de metionina + cistina (Met+Cis) digestíveis.	68
Tabela 2. Sequência dos <i>primers</i> da metionina sintase (MS), cistationina- γ -lyase (CGL) e β -actina, utilizados na reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real.....	72
Tabela 3. Desempenho de suínos machos castrados, dos 75 aos 100 kg, alimentados com rações contendo diferentes níveis de metionina + cistina digestíveis e suplementação de vitamina B ₆	74
Tabela 4. Níveis plasmáticos de glicose, uréia, creatinina, triglicerídeos e proteínas totais de suínos machos castrados, dos 75 aos 100 kg, alimentados com rações contendo diferentes níveis de metionina + cistina digestíveis e suplementação de vitamina B ₆	74
Tabela 5. Características de carcaça e peso dos órgãos de suínos machos castrados, dos 75 aos 100 kg, alimentados com rações contendo diferentes níveis de metionina + cistina digestíveis e suplementação de vitamina B ₆	76
Tabela 6. Expressão gênica da metionina sintase (MS) e cistationina- γ -lyase (CGL), no fígado (f) e no músculo (m), e níveis séricos de homocisteína de suínos machos castrados, dos 75 aos 100 kg, alimentados com rações contendo diferentes níveis de metionina + cistina digestíveis e suplementação de vitamina B ₆	76

Tabela 7. Características qualitativas do <i>Longissimus dorsi</i> de suínos machos castrados, dos 75 aos 100 kg, alimentados com rações contendo diferentes níveis de metionina + cistina digestíveis e suplementação de vitamina B ₆	77
IV. NÍVEIS DE METIONINA + CISTINA DIGESTÍVEIS E SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA B ₆ PARA FÊMEAS SUÍNAS DOS 75 AOS 100 KG.....	92
Tabela 1. Composição centesimal, química e energética das rações experimentais contendo diferentes níveis de metionina + cistina (Met+Cis) digestíveis.	95
Tabela 2. Sequência dos <i>primers</i> da metionina sintase (MS), cistationina- γ -lyase (CGL) e β -actina, utilizados na reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real.....	99
Tabela 3. Desempenho de fêmeas suínas, dos 75 aos 100 kg, alimentadas com rações contendo diferentes níveis de metionina + cistina digestíveis e suplementação de vitamina B ₆	101
Tabela 4. Níveis plasmáticos de glicose, uréia, creatinina, triglicerídeos e proteínas totais de fêmeas suínas, dos 75 aos 100 kg, alimentadas com rações contendo diferentes níveis de metionina + cistina digestíveis e suplementação de vitamina B ₆	101
Tabela 5. Características de carcaça e peso dos órgãos de fêmeas suínas, dos 75 aos 100 kg, alimentadas com rações contendo diferentes níveis de metionina + cistina digestíveis e suplementação de vitamina B ₆	103
Tabela 6. Expressão gênica da metionina sintase (MS) e cistationina- γ -lyase (CGL), no fígado (f) e no músculo (m), e níveis séricos de homocisteína de fêmeas suínas, dos 75 aos 100 kg, alimentadas com rações contendo diferentes níveis de metionina + cistina digestíveis e suplementação de vitamina B ₆	103
Tabela 7. Características qualitativas do <i>Longissimus dorsi</i> de fêmeas suínas, dos 75 aos 100 kg, alimentadas com rações contendo diferentes níveis de metionina + cistina digestíveis e suplementação de vitamina B ₆	104

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Fórmula estrutural dos aminoácidos L-metionina e L-cisteína.....	24
Figura 2. Metabolismo da metionina pelas vias da transmetilação (TM), remetilação (RM) e transulfuração (TS).....	29
Figura 3. Síntese de biomoléculas a partir da SAM.....	33
Figura 4. Metabolismo da cisteína e síntese de biomoléculas.....	37
Figura 5. Sistema de defesa antioxidante da GSH contra o H ₂ O ₂ e ROOH. Participação das moléculas de glutathione reduzida (GSH) e oxidada (GSSG) e das enzimas glutathione peroxidase (GPx) e glutathione redutase (GR).....	38
Figura 6. Estrutura química e interconversões metabólicas da vitamina B ₆	40
Figura 7. Interações metabólicas entre a metionina e a vitamina B ₆	43

LISTA DE ABREVIATURAS

a*	Componente vermelho-verde
AAS	Aminoácidos sulfurados
AMT	Aminotransferase
AT	Amidino transferase
ATP	Trifosfato de adenosina
b*	Componente amarelo-azul
BHMT	Betaína-homocisteína metil-transferase
CA	Conversão alimentar
CBS	Cistationina β -sintase
CC	Creatina quinase
CD	Cisteína desoxigenase
cDNA	DNA complementar
CDR	Consumo diário de ração
CGL	Cistationina- γ -lyase
CH ₃	Grupos metil
CMH	Creatina monohidratada
CSAT	Cisteína-sulfinato aminotransferase
CSD	Cisteína-sulfinato descarboxilase
DFD	Dark firm and dry
ET	Espessura de toucinho
FA	Fosfatase alcalina
GCS	γ -glutamyl-cisteína-sintetase
GAPDH	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase
GMT	Guanidinoacético-metiltransferase

GPD	Ganho de peso diário
GPx	Glutaciona peroxidase
GR	Glutaciona redutase
GS	Glutaciona sintetase
GSH	Glutaciona reduzida
GSSG	Glutaciona oxidada
H ₂ O ₂	Peróxidos de hidrogênio
H ₂ S	Sulfato de hidrogênio
HPRT1	Hipoxantina fosforibosiltransferase 1
HTML	3-hidroxi-TML
HTMLA	HTML aldolase
K _m	Constante de Michaelis
L*	Luminosidade
MAT	Metionina-adenosil-transferase
Met+Cis	Metionina + cistina
Met+Cis:Lis	Relação de metionina + cistina com a lisina
MMCM	Metilmalonil-CoA-mutase
MS	Metionina sintase
MT	Metil-transferases
MTHFR	Metileno-tetrahidrofolato-redutase
NH ₃	Radical amina
OD	Ornitina-descarboxilase
PAG	Perda de água por gotejamento
PPCNR	Perda de peso de carcaça no resfriamento
PCQ	Peso da carcaça quente
PCR	Peso da carcaça resfriada
PFO	Piridoxamina fosfato oxidase
PL	Profundidade do músculo <i>Longissimus dorsi</i>
PLC	Perda de líquido por cocção
PLD	Perda de líquido por descongelamento
PLP	Piridoxal-fosfato
PQ	Piridoxal quinase
PROPT	Propilaminotransferase

PSE	Pale, soft and exudative
qPCR	Reação em cadeia da polimerase quantitativa
RCM	Rendimento de carne magra
RCQ	Rendimento de carcaça quente
RM	Remetilação
RP	Rendimento de pernil
SER	Cor normal, textura mole e baixa retenção de água
SAH	S-adenosil-homocisteína
SAHH	S-adenosil-homocisteína hidrolase
SAM	S-adenosilmetionina
SAMD	S-adenosilmetionina descarboxilase
SHMT	Serina-hidroximetil-transferase
S-S	Ligação dissulfeto
TM	Transmetilação
Tm	Temperatura de melting
TMABA	4-N-trimetil-aminobutiraldeido
TML	N6-trimetillisina
TS	Transulfuração
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade

RESUMO

Foram realizados dois experimentos com o objetivo de avaliar os efeitos de níveis de metionina + cistina (Met+Cis) digestíveis e da suplementação de vitamina B₆ sobre o desempenho, variáveis sanguíneas, características de carcaça, qualidade de carne e a expressão gênica de enzimas envolvidas no metabolismo da metionina de suínos machos castrados e fêmeas, dos 75 aos 100 kg. No experimento I, foram utilizados 56 suínos machos castrados, com peso médio inicial de $75,11 \pm 1,84$ kg; distribuídos em um delineamento experimental de blocos casualizados, num esquema fatorial 2×4, constituído de dois níveis suplementares de vitamina B₆ (1,58 e 3,58 mg/kg) e quatro níveis de Met+Cis digestíveis (0,350; 0,450; 0,550 e 0,650%), com sete repetições e um animal por unidade experimental. No experimento II, foram utilizados 56 fêmeas suínas, com peso médio inicial de $75,06 \pm 1,68$ kg; distribuídas em delineamento experimental idêntico ao do experimento I, com exceção dos níveis de Met+Cis digestíveis, que foram de 0,370; 0,470; 0,570 e 0,670%. Não foram observadas interações ($P > 0,05$) entre suplementação de vitamina B₆ e os níveis de Met+Cis digestíveis estudados (experimentos I e II). Os níveis de Met+Cis digestíveis não influenciaram o desempenho dos suínos. Foi observado redução ($P < 0,01$) na espessura de toucinho e aumento ($P = 0,01$) no rendimento de carne magra de suínos machos castrados, a medida que os níveis de Met+Cis digestíveis aumentaram nas rações. A suplementação de 3,58 mg de vitamina B₆/kg de ração proporcionou maior profundidade do músculo *Longissimus dorsi* ($P = 0,05$) e melhor conversão alimentar ($P = 0,05$) (Experimento I). As concentrações plasmáticas de triglicerídeos apresentaram uma resposta quadrática ($P < 0,01$) em função dos níveis de Met+Cis digestíveis, em que as menores concentrações foram estimadas para os níveis de 0,496 e 0,575% (experimentos I e II, respectivamente). Houve aumento linear ($P = 0,01$) dos níveis séricos de homocisteína em função do aumento dos níveis de Met+Cis na ração dos

machos, contudo, estes níveis foram semelhantes ($P > 0,05$) para as fêmeas. Não houve efeito dos tratamentos sobre a expressão gênica das enzimas metionina sintase e cistationina- γ -lyase, em ambos os sexos. Foi observado um aumento linear ($P < 0,05$) na perda de líquido por descongelamento e uma resposta quadrática para a perda de líquido por cocção e força de cisalhamento em função dos níveis de Met+Cis digestíveis (experimentos I e II). Conclui-se que as exigências de Met+Cis digestíveis para suínos machos castrados e fêmeas, dos 75 aos 100 kg, são inferiores a 10,46 g/dia (0,350%) e 10,60 g/dia (0,370%), respectivamente, com base em variáveis de desempenho e qualidade de carne, e altos níveis destes aminoácidos reduzem a espessura de toucinho e elevam a concentração sanguínea de homocisteína nos suínos machos castrados.

Palavras-chave: aminoácidos sulfurados, características de carcaça, desempenho, expressão gênica, homocisteína, qualidade de carne

ABSTRACT

Two experiments were conducted to evaluate the effect of the digestible methionine+cystine (Met+Cys) levels and B₆ vitamin supplementation on performance, blood variable, carcass characteristics, meat quality and gene expression of enzymes involved in the methionine metabolism of barrows and gilts from 75 to 100 kg. In experiment I, fifty six barrows were used, averaging 75.11 ± 1.84 kg of initial weight, allotted in a completely randomized block design arranged in a 2×4 factorial scheme, composed by two supplementing B₆ vitamin levels (1.58 e 3.58 mg/kg) and four digestible Met+Cys levels (0.350, 0.450, 0.550 and 0.650%), with seven replicates and one animal per experimental unit. In experiment II, fifty six female pigs were used, averaging 75.06 ± 1.68 kg of initial weight, distributed in identical design experiment I, except for digestible Met+Cys levels, what were of 0.370; 0.470; 0.570 and 0.670%. No interactions ($P > 0.05$) between B₆ vitamin supplementation and digestible Met+Cys levels were observed (experiments I and II). The digestible Met+Cys levels did not affect pig performance. Was observed reduction ($P < 0.01$) in backfat thickness and increased ($P = 0.01$) in the yield of lean meat of barrows, as the increased digestible Met+Cys levels in diets. Supplementation of 3.58 mg vitamin B₆/kg diet provided greater depth of *Longissimus dorsi* ($P = 0.05$) and better feed conversion ($P = 0.05$) (Experiment I). Plasma triglyceride concentrations presented a quadratic response ($P < 0.01$) as a function of digestible Met+Cys levels, wherein the lowest concentrations were estimated for the levels of 0.496 and 0.575% (experiments I and II, respectively). There was a linear increase ($P = 0.01$) in serum homocysteine levels due to the increase of Met+Cys levels in the diet of males, however, these levels were similar ($P > 0.05$) for females. Treatments did not affect the gene expression of the methionine synthase and cystathionine- γ -lyase enzymes in both sexes. Was observed a linear increase ($P < 0.05$) in loss of liquid by thawing and one quadratic response for the fluid loss by cooking and

shear force as a function of digestible Met+Cys levels (experiments I and II). It is concluded that the requirements of digestible Met+Cys for barrows and gilts from 75 to 100 kg are lower than 10.46 g/day (0.350%) and 10.60 g/day (0.370%), respectively, based on performance variables and meat quality, and high levels of these amino acids reduce backfat thickness and increase the homocysteine blood concentration in barrows.

Keywords: carcass characteristics, gene expression, homocysteine, meat quality, performance, sulfur amino acids

I. INTRODUÇÃO

Em sistemas intensivos de produção de suínos, que visam obter alimentos para consumo humano, a maior parte dos custos concentra-se nas despesas com a alimentação. Estima-se que tal despesa represente de 70 a 80% do custo total de produção e as fontes proteicas apresentam uma contribuição de aproximadamente 25% neste custo. Diante disto, pesquisas relacionadas a nutrição podem melhorar a eficiência alimentar e reduzir os custos de produção, possibilitando aumento na produtividade.

Suínos necessitam de quantidades adequadas de aminoácidos nas rações para atender suas exigências de manutenção e deposição corporal de proteína (Abreu et al., 2014). Consumos de aminoácidos abaixo ou acima das exigências biológicas do animal pode restringir a taxa e a eficiência de crescimento. Por outro lado, o nível adequado de aminoácidos na ração pode melhorar a eficiência alimentar, a taxa de crescimento e, conseqüentemente, aumentar o rendimento econômico da atividade suinícola.

Neste sentido, o principal conceito empregado nas pesquisas modernas de nutrição aminoacídica para suínos é o da proteína ideal, segundo o qual é necessário fornecer aos animais o balanço exato de aminoácidos, sem deficiências ou excessos, com o objetivo de satisfazer as exigências de manutenção e máximo ganho de proteína corporal (Zaviezo, 1998). Com base neste conceito, todos os aminoácidos necessários aos animais devem ser fornecidos em quantidades suficientes para atender a exigência mínima, evitando excessos e custos extras, além de reduzir a excreção de nitrogênio para o ambiente (Van Milgen & Dourmad, 2015).

Contudo, os constantes avanços obtidos na área do melhoramento genético, para seleção de suínos com maior potencial para deposição de carne magra, vêm exigindo uma reavaliação constante das exigências nutricionais, uma vez que, mudanças nas deposições de tecidos corporais podem gerar diferenças na exigência diária de nutrientes, sobretudo de aminoácidos (Santos et al., 2007). Além disso, na fase de

terminação, suínos de sexos diferentes apresentam diferenças no desempenho e nas características de carcaça, influenciando suas exigências nutricionais. De uma forma geral, machos castrados cirurgicamente consomem mais ração e ganham peso mais rapidamente do que as fêmeas. Entretanto, as fêmeas são mais eficientes em converter alimento para ganho de peso, pois depositam maior porcentagem de tecido muscular e menor de tecido adiposo em relação aos machos castrados. Como possuem taxa de deposição de tecido magro maior e consumo inferior ao dos machos castrados, as exigências de aminoácidos das fêmeas geralmente são superiores (Hahn & Baker, 1995; Frantz et al., 2009).

Entre os aminoácidos, a metionina, juntamente com a cistina (Met+Cis) ou simplesmente aminoácidos sulfurados (AAS), se destaca como um dos principais aminoácidos a ser considerado na formulação das rações para suínos, sendo considerado o segundo aminoácido limitante para animais em terminação (Oliveira Neto, 2014) em dietas à base de milho e farelo de soja. Dentre as funções conferidas à metionina, a principal é ser substrato para síntese de proteínas, sendo precursora de outros aminoácidos, notadamente da cisteína que, assim como a metionina, também é utilizada para a síntese de proteína corporal (Brosnan & Brosnan, 2006). Na forma de S-adenosilmetionina (SAM), a metionina é doadora de grupos metil (CH₃) para uma infinidade de substâncias corporais (como creatina), estando ainda envolvida na síntese de poliaminas (Nelson & Cox, 2014). A cisteína, por sua vez, está envolvida na síntese de proteínas do pêlo e de outros componentes corporais importantes, como a glutatona (Stipanuk & Ueki, 2011).

Nas últimas décadas, várias pesquisas dedicaram-se ao estudo da homocisteína, um metabólito do ciclo da metionina. Em níveis normais, a homocisteína desempenha funções essenciais no organismo animal. Porém, seu excesso pode desencadear um quadro de hiper-homocisteinemia, com o desenvolvimento de doenças cardiovasculares em humanos e animais (Stahlk et al., 2004; França et al., 2006; Huang et al., 2008; Thaler et al., 2013).

O metabolismo, em geral, mantém as concentrações de homocisteína em níveis baixos, mas a sua elevação no sangue possui causas multifatoriais, como fatores patológicos e fisiológicos, mas principalmente fatores genéticos e nutricionais (Amorin et al., 2011). Dentre as bases nutricionais, encontram-se a deficiência de vitaminas que estão envolvidas no metabolismo da homocisteína, como as vitaminas B₆ (piridoxina),

B₁₂ e folato, ou a um excesso de metionina na dieta (Shoveller et al., 2004; França et al., 2006; Zhang et al., 2009; Xie et al., 2014; Martinez-Vega et al., 2015).

Entre as vitaminas, a B₆ desempenha importante função no metabolismo da metionina e no controle dos níveis sanguíneos de homocisteína. Na sua forma ativa, piridoxal-fosfato (PLP), a vitamina B₆ serve de cofator enzimático para três enzimas do metabolismo da metionina: serina-hidroximetil-transferase (SHMT), cistationina β-sintase (CBS) e cistationina-γ-lyase (CGL), sendo as duas últimas relacionadas à via da transulfuração, considerada a principal via de eliminação do excesso de homocisteína (Brosnan & Brosnan, 2006). No entanto, são escassos os estudos envolvendo metionina e vitamina B₆, o que justifica a realização de pesquisas com esse propósito para suínos.

Da mesma forma, o conhecimento dos mecanismos subjacentes ao metabolismo da metionina requer informações mais detalhadas, como os mecanismos pelos quais nutrientes específicos regulam a expressão de determinados genes relacionados ao metabolismo deste aminoácido. Essas interações são estudadas pela genômica da nutrição, ciência conhecida como nutrigenômica (Gonçalves et al., 2009). Desta maneira, análises da expressão de genes, relacionados ao metabolismo da metionina, juntamente com os de concentração de metabólitos, como a homocisteína, podem melhorar a compreensão da fisiologia animal frente a diferentes estratégias nutricionais.

Além de melhorar o desempenho dos animais, a utilização de aminoácidos industriais pode resultar em melhorias nas características de carcaça e na qualidade da carne suína. Apesar disso, ao contrário de aminoácidos como a lisina e o triptofano, existem poucas informações a respeito do efeito da suplementação com Met+Cis sobre características da carcaça, como rendimento de carne magra (RCM) e espessura de toucinho (ET) e de atributos de qualidade da carne, como cor, capacidade de retenção de água e maciez.

Neste contexto, este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar os efeitos dos níveis de Met+Cis digestíveis e da suplementação de vitamina B₆ sobre o desempenho, variáveis sanguíneas, características de carcaça, qualidade de carne e a expressão gênica de enzimas do metabolismo da metionina de suínos machos castrados e fêmeas, dos 75 aos 100 kg.

1. Revisão de Literatura

1.1. Importância dos aminoácidos na nutrição de suínos

Durante muitos anos, a formulação de rações para suínos foi baseada no conceito de proteína bruta, fazendo com que na maioria das vezes as dietas apresentassem níveis de aminoácidos desbalanceados e em excesso. Diferentemente dos carboidratos e lipídios, os aminoácidos não podem ser armazenados no corpo dos animais e, todo o excesso deve ser catabolizado (desaminação), representando um gasto extra de energia para o organismo. O nitrogênio resultante pode ser utilizado para a síntese de outros compostos nitrogenados ou simplesmente excretado nos dejetos (poluição ambiental), enquanto a cadeia carbônica é predominantemente utilizada como fonte de energia, função que os carboidratos e lipídios podem exercer a um custo mais baixo (Nones, 2002; Moreira & Pozza, 2014).

Funcionalmente, a proteína dietética fornece aminoácidos que são os nutrientes essenciais utilizados pelo organismo. Quantitativamente, a proteína é um nutriente dispendioso na dieta de suínos e sua conversão em tecidos animais requer a digestão, a absorção e o metabolismo pós-absortivo dos aminoácidos derivados. Desta forma, o aporte adequado de proteína na dieta depende da capacidade da mesma em proporcionar aminoácidos em quantidades e proporções adequadas (NRC, 2012).

Com base na observação de que a composição de aminoácidos da proteína dietética de alta qualidade, para animais em crescimento, se assemelha a composição de aminoácidos do tecido dos animais, foi desenvolvido o conceito de expressar as exigências de aminoácidos na dieta como um perfil ideal de aminoácidos. O perfil ideal mais tarde tornou-se conhecido como "proteína ideal" e, apesar de existir há mais de 50 anos (Mitchell, 1964), ainda é muito relevante. O pressuposto é que um padrão proteico alimentar ideal contém o equilíbrio entre todos os aminoácidos, sem deficiências nem excessos, necessários para a manutenção e o crescimento da espécie (Zaviezo, 1998).

Desta forma, o conceito de proteína ideal trouxe a oportunidade de realizar uma nutrição de precisão, na qual todos os aminoácidos necessários aos animais são fornecidos em quantidades suficientes para atender a exigência mínima, evitando excessos e custos extras, além de reduzir a excreção de nitrogênio para o ambiente (Bertechini, 2012; van Milgen & Dourmad, 2015).

Os aminoácidos da proteína ideal são geralmente expressos em proporções ideais ou percentagens de um aminoácido referência. Convencionalmente, o aminoácido utilizado como referência é a lisina (100%). Segundo Araújo & Sobreira (2008), a lisina é utilizada como referência por quatro razões principais. Em primeiro lugar, a lisina é um aminoácido estritamente essencial, não havendo nenhuma via de síntese endógena. Seu metabolismo está orientado principalmente para deposição de proteína corporal. Além disso, há uma grande quantidade de dados existentes sobre a digestibilidade e as exigências de lisina para suínos. Por último, sua análise laboratorial, para a determinação dos seus níveis nos ingredientes, rações e tecidos é precisa e relativamente simples.

Dentro do conceito de proteína ideal, a lisina, juntamente com a metionina, a treonina e o triptofano, são considerados os aminoácidos mais limitantes nos ingredientes das rações para suínos (Hahn & Baker, 1995; Fraga, 2008), e suas exigências são geralmente atendidas com fontes industriais de aminoácidos, como L-lisina, DL-metionina, L-treonina e L-triptofano (Moura, 2004).

No entanto, a redução acentuada da concentração proteica implica na necessidade de inclusão de outros aminoácidos como, por exemplo, a valina e a isoleucina (Le Bellego & Noblet, 2002). Além disso, o fornecimento total de proteína da dieta deve ser suficiente para proporcionar nitrogênio necessário para a síntese de aminoácidos não essenciais e condicionalmente não essenciais (Van Milgen & Dourmad, 2015).

Cabe ressaltar que a síntese de aminoácidos não essenciais tem uma demanda energética e o correto balanço entre aminoácidos essenciais e não-essenciais pode proporcionar maior eficiência na utilização do nitrogênio da dieta. Em suínos, esta relação deve estar em torno de 50/55-45, para permitir a retenção de nitrogênio e a sua ótima utilização (Wang & Fuller, 1989; Lenis et al., 1999).

1.2. Exigências de AAS para suínos

A metionina caracteriza-se como um aminoácido sulfuroso que juntamente com a cisteína são os dois únicos envolvidos na formação de proteína animal que contêm enxofre em sua estrutura química (Figura 1) (Ren et al., 2013).

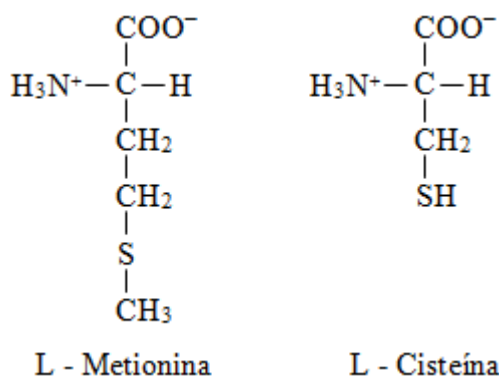


Figura 1. Fórmula estrutural dos aminoácidos L-metionina e L-cisteína. Fonte: Adaptado de Ren et al. (2013).

A metionina é considerada um aminoácido essencial para suínos em todas as fases de criação (Rostagno et al., 2011 NRC, 2012). A cisteína, por outro lado, pode ser sintetizada a partir da metionina, sendo comumente classificada como aminoácido nutricionalmente não essencial. Contudo, em condições de deficiência de metionina a cisteína passa a ser um aminoácido essencial, sendo melhor classificado como condicionalmente não essencial (Lewis, 2003; NRC, 2012). Esta relação metabólica entre os aminoácidos metionina e cisteína explica o porquê das suas exigências serem expressas em conjunto, como metionina+cisteína, ou simplesmente como AAS.

Entretanto, a cisteína é instável em solução, sendo facilmente oxidada em seu dímero, a cistina, com o número de moles igual à metade do número de moles da cisteína (Lewis, 2003). Por esta razão, a cistina é normalmente considerada em um contexto nutricional, e as exigências de AAS geralmente são expressas como Met+Cis.

De modo geral, parte das exigências em Met+Cis dos suínos podem ser atendidas com a suplementação de fontes industriais de cisteína e/ou cistina. Entretanto, a utilização de cisteína ou cistina não é de interesse comercial, principalmente por que a cisteína não pode ser convertida em metionina e pelo alto custo destes produtos. Outra razão reside no fato que, as formas D-cisteína e D-cistina não possuem atividade biológica para suínos, devendo ser fornecida a L-cisteína ou a L-cistina, caso se queira utilizar essa fontes de AAS nas rações (Oliveira Neto, 2014). Por outro lado, os isômeros D, L e a forma comercial DL-metionina são eficientemente utilizados pelos suínos (Reifsnnyder et al., 1984; Chung & Baker, 1992), sendo normalmente utilizados para atender as exigências em AAS desta espécie.

Entre os aminoácidos, a Met+Cis é considerada como o segundo aminoácido limitante para suínos em terminação (Oliveira Neto, 2014), em dietas à base de milho e

farelo de soja, logo, a determinação adequada das suas exigências se torna necessária para garantir o máximo desempenho dos animais. Como já mencionado, o nível dos aminoácidos devem estar sempre correlacionados com o conteúdo de lisina na ração (proteína ideal). Apesar disso, as relações de Met+Cis com a lisina (Met+Cis:Lis) encontradas na literatura, para suínos em terminação, são bastante variáveis (Tabela 1).

Tabela 1. Exigências de Met+Cis e sua relação com a lisina, para suínos, em fase de terminação

Peso (kg)	Sexo	Variáveis	Met+Cis (%)	Met+Cis:Lis (%)	Autores
72-104	Fêmeas	CA, GPD	≤ 0,350	≤ 0,50	Loughmiller et al. (1998)
74-110#	Fêmeas	CA, GPD	≤ 0,306	≤ 0,47	Knowles et al. (1998)
		RDG	0,423	0,65	
60-95	Machos	CA, RCM	0,507	0,63	Santos et al. (2007)
85-109*	Machos	CA, GPD	≤ 0,505	≤ 0,54	Pena et al. (2008)
		RDC	0,617	0,66	
97-125*	Misto	CA	0,599	0,58	Frantz et al. (2009)
95-125	Machos	CA, GPD	≤ 0,427	≤ 0,57	Santos et al. (2011)

CA = Conversão alimentar; GPD = Ganho de peso diário; RCM = Rendimento de carne magra; RDG = Redução de deposição de gordura na carcaça; RDC = Redução de colesterol no toucinho e no lombo. #Aminoácidos totais. *Suplementados com 5 ppm de ractopamina.

Rostagno et al. (2011) propõem exigências de 0,497% e 0,535% de Met+Cis para suínos machos castrados e fêmeas, dos 70 aos 100 kg, respectivamente, o que equivale a uma relação com a lisina de 0,60%, para ambos os sexos. O NRC (2012) sugere requerimentos de metionina + cisteína de 0,400% e 0,440%, para suínos machos castrados e fêmeas, respectivamente, dos 75 aos 100 kg. Ao contrário do proposto por Rostagno et al. (2011), a relação dos AAS com a lisina apresentados pelo NRC (2012) variam entre os sexos, sendo maiores para os machos castrados (0,58%) em relação as fêmeas (0,57%). Essas divergências sugerem que o assunto ainda demanda avaliações, evidenciando a necessidade de novas pesquisas acerca do melhor nível de Met+Cis digestível para suínos na fase de terminação. Além disso, essas publicações apresentam valores médios, sendo, às vezes, insuficientes e pouco flexíveis para otimizar o desempenho dos animais nas diferentes situações, havendo, a necessidade de constante atualização de suas recomendações.

1.2.1. Fatores que influenciam as exigências de AAS para suínos

Embora o perfil da proteína ideal seja muitas vezes assumido como constante, a relação de alguns aminoácidos com a lisina não é sempre fixa, podendo variar de acordo

com a genética, peso corporal, tipo sexual, além de fatores ambientais como temperatura e *status* sanitário das instalações dos animais (Moura et al., 2006; van Milgen & Dourmad, 2015).

As exigências de AAS para suínos em terminação representam o somatório das necessidades de manutenção e de retenção proteica. Segundo Abreu et al. (2014), os principais determinantes das exigências de aminoácidos para manutenção são as perdas endógenas intestinais, que são influenciadas pelo consumo alimentar e pelas perdas de tegumentos (descamação epitelial e cerdas), que são influenciados pelo peso metabólico ($PV^{0,75}$) e pelo catabolismo mínimo de aminoácidos (*turnover* proteico e síntese de compostos nitrogenados essenciais). Já as exigências para retenção proteica estão diretamente associadas com o potencial genético do animal para deposição de proteína no organismo (NRC, 2012).

A suinocultura moderna trabalha com animais de linhagens especializadas para produção de maior rendimento de carne na carcaça (deposição de proteína). Estes animais exigem mais lisina para o crescimento do que suínos de pior desempenho (Abreu et al., 2014). Porém, diferente da lisina, as exigências de AAS para suínos em terminação é controlada pela necessidade de manutenção, e não pela necessidade para deposição de proteína, portanto, não aumenta proporcionalmente às exigências de lisina quando há aumento na deposição de proteína (Mavromichalis & Cera, 2001; Pena et al., 2008). Desta forma, a relação de AAS com a lisina deve diminuir em animais com maior potencial genético para retenção proteica. Isto também é válido para animais suplementados com ractopamina, β -agonista adrenérgico que aumenta a deposição muscular (Mavromichalis & Cera, 2001; Armstrong et al., 2004; Frantz et al., 2009).

Segundo Chung e Baker (1992) e Yang et al. (1997), os aminoácidos com maior envolvimento em processos fisiológicos relacionados a manutenção, como a Met+Cis, apresentam suas relações com a lisina aumentadas em função da idade ou peso corporal. Loughmiller et al. (1998) reiteram ainda que o aumento das relações Met+Cis:Lis é mais expressivo a partir dos 50 kg, quando os requerimentos para manutenção continuam a aumentar, mas a taxa proporcional de deposição de proteína diminui. Apesar deste consenso, existem poucos trabalhos na literatura que avaliaram a exigência de AAS para suínos em terminação.

Na fase de terminação, suínos de sexos diferentes apresentam diferenças no desempenho e nas características de carcaça, influenciando suas exigências nutricionais. As tabelas de exigências nutricionais (Rostagno et al., 2011; NRC, 2012) geralmente

classificam os suínos na fase de terminação como machos inteiros, fêmeas e machos castrados. O National Research Council (NRC, 2012) apresenta ainda as exigências nutricionais para suínos machos imunocastrados.

De uma forma geral, machos castrados cirurgicamente consomem mais ração e ganham peso mais rapidamente que as fêmeas. Entretanto, as fêmeas são mais eficientes em converter alimento para ganho de peso, pois depositam maior porcentagem de tecido muscular e menor de tecido adiposo em relação aos machos castrados. Como possuem taxa de deposição de tecido magro maior e consumo inferior ao dos machos castrados, as exigências de aminoácidos das fêmeas são superiores (Hahn & Baker, 1995; Grandhi & Nyachot, 2002; Frantz et al., 2009). Por fim, machos inteiros e imunocastrados apresentam maior deposição de carne magra na carcaça, o que justifica sua maior exigência em aminoácidos quando comparado às fêmeas e aos machos castrados cirurgicamente (Clapper et al., 2000; Grandhi & Nyachot, 2002; Dunshea, 2010).

As condições ambientais (temperatura e *status* sanitário) em que vivem os animais também podem influenciar as exigências de aminoácidos, e devem sempre ser levados em consideração ao se formular rações para suínos. A presença de microrganismos que infectam os animais e que atuam sobre o sistema imune e sobre a capacidade de ganhar peso corporal alteram toda a fisiologia e, conseqüentemente, as rotas metabólicas dos nutrientes, modificando a exigência de aminoácidos ou qualquer outro nutriente (Oliveira Neto, 2014; Rakhshandeh et al., 2014).

Aminoácidos com maior envolvimento na deposição proteica, como é o caso da lisina, apresentam acentuada redução das suas exigências quando os animais são mantidos em ambientes com condições sanitárias deficientes (Williams et al., 1997). Por outro lado, a relação entre AAS e lisina deve ser maior em animais submetidos a alto desafio sanitário (Stahly, 1998; Capozzalo et al., 2014; Rakhshandeh et al., 2014). Segundo Machado & Fontes (2006), os AAS são majoritários nas proteínas associadas às funções de manutenção, representando 4,9%, e minoritários nas proteínas musculares, em que representam aproximadamente 1,6%.

A temperatura ambiente elevada também é reconhecida por alterar a relação entre AAS e lisina (Oliveira Neto, 2003). De acordo com Ferreira (2005), a temperatura crítica superior para suínos na fase de terminação é de 27°C e, quando a temperatura do meio ambiente se eleva acima do limite superior da Zona de Conforto, o sistema termorregulador é ativado para manter o equilíbrio térmico entre o animal e o meio. A mudança no metabolismo ocasiona um desvio de nutrientes disponíveis para produção,

reduzindo a taxa e a eficiência de sua utilização para o crescimento corporal, modificando a exigência nutricional dos animais (Brumano, 2008).

Trabalhando com suínos dos 30 aos 60 kg em temperaturas ambientais de conforto (22°C) e estresse térmico (32°C) Kiefer et al. (2005a,b) inferiram que as exigências nutricionais de Met+Cis dos suínos (0,549%), mantidos em ambiente de conforto térmico, é superior a exigência para máximo ganho de peso em suínos mantidos em ambiente de alta temperatura (0,527%). Isto, em partes, pode ser explicado pela maior deposição de proteína nos animais mantidos em ambiente termoneutro (122g) em relação aos mantidos em ambiente de alta temperatura (108g). Nestas condições, espera-se uma redução mais acentuada nas exigências de aminoácidos com maior envolvimento na deposição proteica, como é o caso da lisina, aumentando a relação entre AAS e lisina.

1.3. Metabolismo e funções dos AAS

A metionina possui um complexo metabolismo no organismo dos animais (Figura 2). Para melhor entendimento, este metabolismo foi dividido em três vias, a transmetilação, remetilação e a transulfuração, que serão discutidas a seguir.

Na etapa de transmetilação, que corresponde à passagem da metionina a homocisteína, inicialmente a enzima metionina-adenosil-transferase (MAT) catalisa a transferência da adenosina, proveniente de uma molécula de ATP para a metionina, transformando-a na sua forma ativa, a SAM. Essa reação é incomum, pelo fato do átomo de enxofre nucleofílico da metionina atacar o carbono 5' da ribose do ATP, ao invés de atacar um dos átomos de fósforo. Posteriormente, a SAM doa seu grupamento CH₃ para um aceptor, formando S-adenosil-homocisteína (SAH). Esta reação é catalisada por uma variedade de metil-transferases (MT) envolvendo uma variedade de aceptores (Brosnan & Brosnan, 2006; Nelson & Cox, 2014). Segundo Brosnan et al. (2007a) e Williams & Schalinske (2007), a SAM é considerada o cofator metilante mais potente do organismo, essencial para a biossíntese de vários componentes celulares, sendo ainda utilizada na síntese de poliaminas.

A SAH, gerada nas reações de metilação, é hidrolisada com apoio da enzima adenosil-homocisteína-hidroxilase (SAHH), formando homocisteína e adenosina (Nelson; Cox, 2014). Embora seja uma reação reversível, com um equilíbrio que favorece a formação de SAH a partir de homocisteína, sob condições normais a

remoção rápida da homocisteína garante que a reação prossiga a partir de SAH para homocisteína (Sharma et al., 2006).

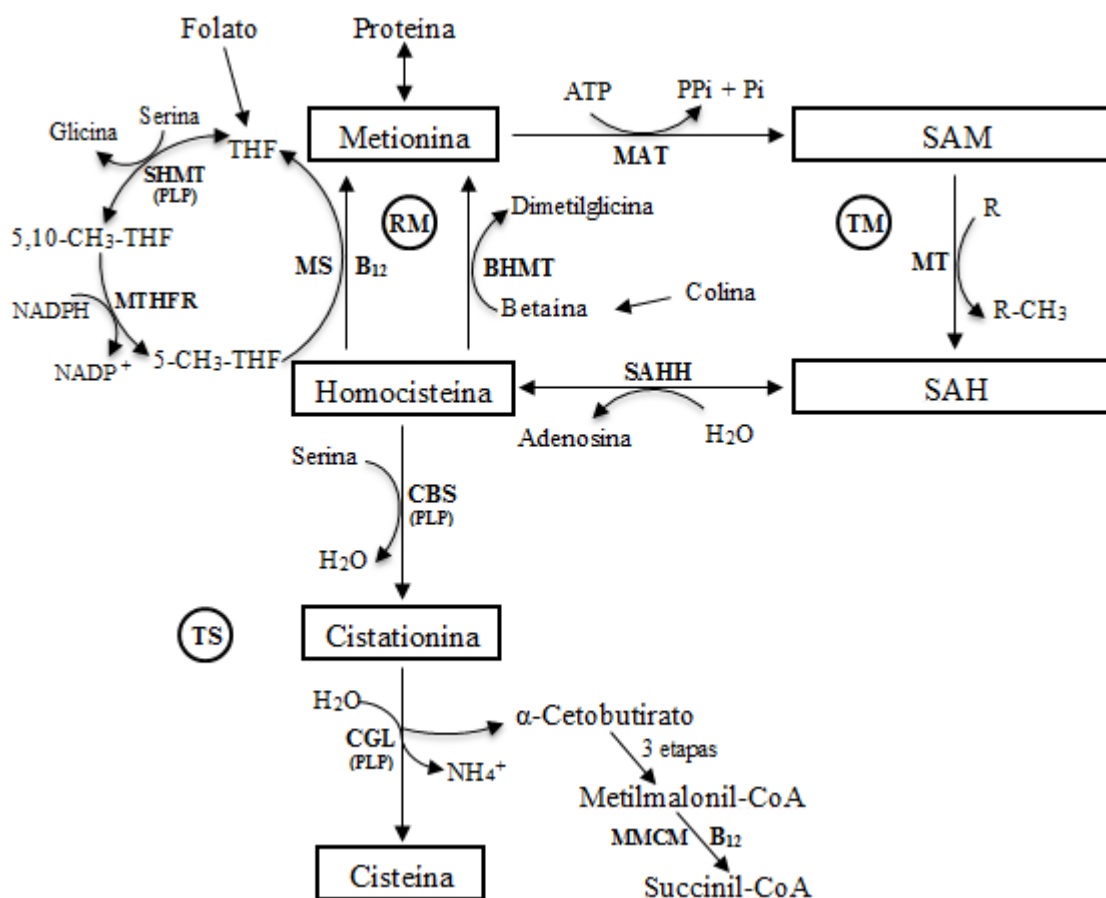


Figura 2. Metabolismo da metionina pelas vias da transmetilação (TM), remetilação (RM) e transulfuração (TS). Fonte: Adaptado e expandido de Brosnan & Brosnan (2006) e Nelson & Cox (2014).

A metionina pode ser regenerada no metabolismo animal pela transferência de um grupo metil para a homocisteína. Esta via é denominada de remetilação e quando combinada com a transmetilação compreende o ciclo da metionina, que ocorre majoritariamente ou em todas as células animais (Brosnan & Brosnan, 2006). O agente metilante da homocisteína é o N⁵-metiltetraidrofolato, com intervenção da metionina sintase (MS), enzima expressa na maioria dos tecidos, principalmente no coração, músculo esquelético e pâncreas. O grupo metil é inicialmente transferido para a cobalamina, derivada da vitamina B₁₂, formando metilcobalamina, que é usada como doadora de grupo metil para a regeneração da metionina e do tetraidrofolato (Nelson & Cox, 2014).

A forma oxidada do tetraidrofolato é uma vitamina (folato ou vitamina B9), convertida por meio de duas etapas em tetraidrofolato, pela ação da enzima diidrofolato-reductase. A fonte principal de unidades de carbono para o tetraidrofolato é a remoção do carbono da serina, em sua conversão em glicina, produzindo N⁵,N¹⁰-metilenotetraidrofolato. Esta reação é catalisada pela SHMT, uma enzima dependente da coenzima PLP, a forma ativa da vitamina B₆. Em seguida, o N⁵,N¹⁰-metilenotetraidrofolato é convertido a N⁵-metiltetraidrofolato em uma reação irreversível catalisada pela N⁵,N¹⁰-metileno-tetraidrofolato-reductase (MTHFR), utilizando o NADH como doador de elétrons. Ao doar seu grupo metil para a homocisteína, o N⁵-metiltetraidrofolato é reconvertido em tetraidrofolato, fechando uma sequência de reações que é denominada ciclo do folato (Nijhout et al., 2006; Reed et al., 2006; Nelson & Cox, 2014).

Desta forma, a reação de metilação da homocisteína, catalisada pela MS, é importante não apenas para a resíntese da metionina, mas também para a conversão do N⁵-metiltetraidrofolato em tetraidrofolato, forma da vitamina que pode ser utilizada para a biossíntese de nucleotídeos (Matthews et al., 1998).

O grupo CH₃ utilizado na remetilação da homocisteína pode ainda ser doado pela betaína, em uma reação catalisada pela betaína-homocisteína-metil-transferase (BHMT) com a formação de metionina e dimetilglicina. A betaína pode ser obtida a partir da dieta ou do metabolismo, pela conversão irreversível da colina em betaína (Stead et al., 2006; Reed et al., 2006). Todavia, a via de metilação da homocisteína, a partir da betaína, parece apresentar uma baixa eficiência no metabolismo, provavelmente por causa da limitada distribuição da enzima BHMT nos tecidos (Skomial et al., 2004; Stead et al., 2006). Segundo estes autores, a transcrição da BHMT é abundante apenas no fígado e no rim, sendo muito limitada no cérebro, coração e músculo esquelético.

Reed et al. (2006) reiteram ainda que a concentração de homocisteína é diminuída pela suplementação de betaína quando o suprimento de folato é baixo, mas a concentração de homocisteína é relativamente insensível à betaína quando o status de folato é normal ou alto.

A homocisteína, formada a partir da metionina, pode ainda ser catabolizada pela via da transulfuração (Figura 2), que consiste na transferência do grupo enxofre da homocisteína para a serina, formando uma molécula de cisteína. O primeiro passo desta via consiste na condensação da homocisteína e serina, catalisada pela enzima CBS, resultando na formação de cistationina, com liberação de uma molécula de água.

Finalmente a CGL catalisa a hidrólise da cistationina, produzindo cisteína livre, α -cetobutirato e amônia (Banerjee et al., 2003; Stipanuk, 2004; Stipanuk & Ueki, 2011). As duas enzimas envolvidas na via de transulfuração são dependentes da coenzima PLP, sendo um importante ponto de ligação do metabolismo da metionina e da vitamina B₆.

As duas reações da via da transulfuração são irreversíveis, o que explica o princípio nutricional bem conhecido que a cisteína não é um aminoácido essencial, desde que o fornecimento de metionina esteja adequado na dieta, mas a metionina é um aminoácido essencial, independentemente da disponibilidade de cisteína (Oliveira Neto, 2014).

Apesar de todas as células serem capazes de realizarem a transmetilação e a remetilação, o catabolismo da homocisteína via transulfuração é restrito aos tecidos que contenham tanto CBS como CGL (Quere et al., 1999). Segundo Brosnan et al. (2007a), a via da transulfuração apresenta alta atividade apenas no fígado, rins, intestino delgado e pâncreas.

O α -cetobutirato, formado durante a reação de hidrólise da cistationina para formar cisteína, é catabolizado por descarboxilação oxidativa, via propionil-CoA, que entra no ciclo do ácido cítrico ao nível de succinil-CoA. Desta forma, o esqueleto carbônico da metionina pode ser utilizado para a produção de glicose e glicogênio, o que explica a classificação deste aminoácido como glicogênico (Stipanuk, 2004; Nelson & Cox, 2014).

Assim, a via da transulfuração é responsável tanto pela transferência de enxofre da metionina para a serina, para sintetizar cisteína, como também para o catabolismo da cadeia de carbono da metionina para produzir energia.

1.3.1 Regulação do ciclo da metionina

A regulação precisa do ciclo da metionina é essencial por duas razões. Em primeiro lugar, uma taxa constante de metilação deve ser mantida para garantir que o DNA e outras biomoléculas sejam metilados, apesar das variações diárias na entrada de metionina e cofatores. Em segundo lugar, embora a remetilação da homocisteína seja essencial para a manutenção do ciclo, quando a entrada de metionina é baixa, o excesso de homocisteína deve ser removido via transulfuração, quando a entrada de metionina é

alta, visto que o acúmulo excessivo de homocisteína no organismo está associado a vários tipos de doenças cardiovasculares.

Desta forma, o metabolismo da metionina possui mecanismos que regulam suas três vias. Na primeira reação da via da transmetilação, a SAM gerada pela ativação da metionina apresenta controle alostérico sobre as enzimas MAT, responsáveis por catalisarem esta reação. Segundo Reed et al. (2004), existem duas isoformas de MAT no fígado (MAT I e MAT III). A atividade da MAT I é inibida pelo seu produto, a SAM, por outro lado, a MAT III é estimulada por SAM. Como resultado, a concentração de metionina no ciclo é muito constante, independente da variação na entrada de metionina. Em modelo desenvolvido pelos autores, pode-se observar que a concentração de metionina variou apenas 7% quando a entrada de metionina para o sistema foi variada em 600%. Embora as concentrações de metionina permaneceram constante por causa das ações de MAT I e MAT III, a concentração do seu produto, a SAM, varia em proporção à entrada de metionina para o ciclo.

A sensibilidade da SAM para entrada de metionina ao ciclo, e a sua capacidade em controlar a atividade de algumas enzimas das vias da remetilação e da transulfuração, é fundamental para a regulação do metabolismo deste aminoácido. SAM é um inibidor alostérico da MTHFR e BHMT, e também um ativador alostérico da CBS. Assim, quando a entrada de metionina ao ciclo aumenta, uma elevada concentração de SAM reduz a quantidade de grupo metilo no ciclo, por inibir as atividades das enzimas envolvidas na remetilação de homocisteína (MTHFR e BHMT) e estimular a atividade da CBS, responsável pela perda irreversível de homocisteína do ciclo. Por outro lado, quando a entrada de metionina é baixa, as concentrações de SAM diminuem e a atividade da CBS retorna ao normal, conservando homocisteína para remetilação. O resultado deste controle é uma conservação de metionina quando as concentrações de metionina são baixas, e remoção do excesso de homocisteína quando as concentrações de metionina estão elevadas (Finkelstein, 2000; Stipanuk, 2004; Prudova et al., 2006; Nijhout et al., 2006). Contudo, a deficiência de algumas vitaminas (B₆, B₁₂ e folato) utilizadas como cofatores enzimáticos pode alterar a atividade das enzimas envolvidas no metabolismo da metionina, prejudicando o controle das concentrações de homocisteína (Lima et al., 2006; Zhang et al., 2009).

O estado oxidativo da célula também possui efeito no controle do metabolismo da metionina. Segundo Taoka et al. (1999) e Jhee et al. (2000), a enzima CBS é organizada em uma estrutura de três domínios funcionais. A parte central da enzima contém o

núcleo catalítico, que é responsável pela reação catalisada pelo PLP. O domínio C-terminal é responsável pela regulação alostérica da enzima por SAM, e o domínio N-terminal contém um grupo heme, que regula a enzima em resposta às condições redox. De modo geral, peróxidos aumentam a atividade da CBS, enquanto antioxidantes diminuem (Vitvitsky et al., 2003). Este efeito regulador da CBS, por sensor redox, pode permitir que a célula direcione mais metionina para gerar cisteína para a síntese de glutatona (GSH) durante o estresse oxidativo.

1.3.2. SAM e síntese de biomoléculas

Todos os aminoácidos possuem várias funções metabólicas, porém, sua principal função está relacionada com a formação de proteína corporal (massa muscular), permitindo que os animais alcancem seu máximo potencial genético para ganho de peso e conversão alimentar (Ren et al., 2013). Dentre os aminoácidos, a metionina merece destaque especial, pois além de ser o aminoácido iniciador do processo de tradução da síntese de proteínas eucarióticas (Nelson & Cox, 2014), promove a formação de produtos especializados de grande importância no metabolismo.

A metionina, na forma de SAM, é o principal doador de grupamentos CH_3 no organismo animal, sendo exigida para a síntese de importantes biomoléculas (Figura 3), como a carnitina e a fosfatidilcolina, essenciais para o metabolismo de lipídios.

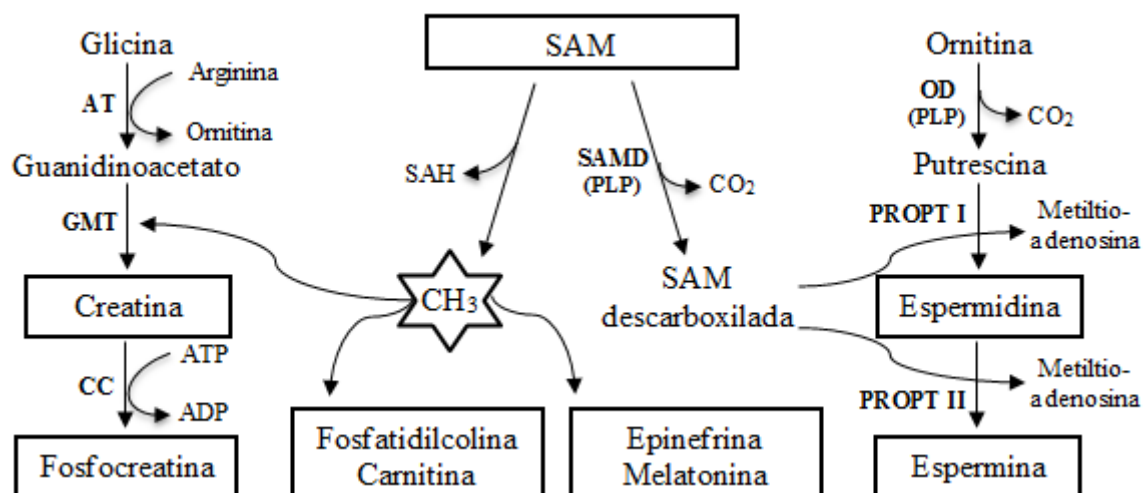


Figura 3. Síntese de biomoléculas a partir da SAM. Fonte: Adaptado e expandido de Brosnan & Brosnan (2006) e Nelson & Cox (2014).

Segundo Stead et al. (2006) e Amorin et al. (2011) a fosfatidilcolina pode ser produzida por duas vias biossintéticas diferentes. Cerca de 30% é proveniente da tripla metilação da fosfatidiletanolamina, sendo essa reação uma das mais importantes consumidoras de SAM em mamíferos. Os outros 70% são sintetizados a partir da colina.

A fosfatidilcolina é o fosfolípido mais abundante (>50%) nas membranas celulares de mamíferos e desempenha um papel fundamental na manutenção de fluidos de membranas e receptores de membrana celular (Cheng et al., 1996; Zeisel et al., 2006). Este fosfolípido desempenha um importante papel na absorção intestinal de lipídios, pois aumenta a solubilidade micelar, formando quilomícrons (Mendes & Brito, 2007). Segundo Cheng et al. (1996), a fosfatidilcolina também é essencial no metabolismo de lipídios no fígado, sendo responsável pela secreção de lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), evitando o seu acúmulo neste órgão.

A carnitina também desempenha importante papel no metabolismo dos lipídios. Este cofator, derivado dos aminoácidos lisina e metionina (na forma de SAM), está envolvido no transporte de ácidos graxos de cadeia longa na membrana mitocondrial. O Acil-graxo, sintetizado na reação entre ácido graxo, CoA e ATP, liga-se a carnitina para compor a Acil graxo-carnitina, possibilitando o seu transporte do citosol para a matriz mitocondrial, para ser oxidado pela β -oxidação e gerar energia (Ramsay et al., 2001; Stephens et al., 2007; Strijbis et al., 2008).

O processo de síntese da carnitina inicia-se com a tripla metilação pós-tradução de um resíduo de lisina, ligada ao peptídeo, para formar N⁶-trimetil-lisina (TML), utilizando SAM como doadora de grupos CH₃. Em seguida, o TML é liberado pela degradação deste peptídeo por lisossomos ou proteossomas. O TML gerado é inicialmente convertido em 3-hidroxi-TML (HTML) pela ação de uma dioxigenase, Fe²⁺-dependente. A segunda enzima envolvida na síntese da carnitina, a HTML aldolase (HTMLA) é uma enzima PLP-dependente, sendo responsável pela clivagem aldólica do HTML, resultando em 4-N-trimetil-aminobutiraldeído (TMABA) e glicina. O TMABA gerado é então convertido em carnitina, numa sequência de duas reações envolvendo uma desidrogenase (NAD⁺-dependente) e uma dioxigenase (Fe²⁺-dependente) (Vaz & Wanders, 2002; Strijbis et al., 2009, 2010).

Além do seu envolvimento na síntese de fosfatidilcolina e carnitina a SAM pode doar seu grupo metil a uma variedade de receptores, sendo essencial para a biossíntese de vários componentes celulares, incluindo creatina, epinefrina, melatonina, proteínas, DNA e RNA (Stipanuk, 2004; Brosnan et al., 2007a). Atualmente, cerca de 60

metiltransferases foram identificadas em mamíferos, mas este número pode ser superior a 300 (Brosnan & Brosnan, 2006).

Segundo Stead et al. (2006) e Brosnan et al. (2007b) as reações de metilação, envolvidas na síntese de fosfatidilcolina e creatina, contam com a maioria dos grupos metil consumidos durante o ciclo da metionina. Apesar de haver um debate sobre a contribuição relativa destas duas reações ao metabolismo da SAM, há um consenso de que juntas respondem por mais de dois terços da demanda total de grupos metil.

A creatina (ácido α -metil guanidino acético) é sintetizada em duas etapas, a partir dos aminoácidos glicina e arginina, tendo também a metionina como doadora de grupo metil (Brosnan et al., 2011; Moret et al., 2011). A glicina reage primeiramente com a arginina para formar o ácido guanidinoacetato (Figura 3). Esta reação ocorre nos rins e é catalisada pela amidinotransferase (AT). O ácido guanidinoacético formado nos rins é transportado para o fígado, onde recebe o grupo metil da SAM e forma a creatina, cuja reação é catalisada pela enzima guanidinoacético-metiltransferase (GMT) (Brosnan et al., 2011; Nelson & Cox, 2014).

A creatina é liberada pelo fígado e captada, principalmente, pelo tecido muscular, onde é fosforilada pela enzima creatina quinase (CC) para ser armazenada na forma de fosfocreatina (Verhoeven et al., 2005; Orsenigo et al., 2005). A fosfocreatina constitui um importante tampão energético no músculo esquelético, uma vez que é uma fonte rápida e disponível de fosfatos de alta energia, para regenerar a molécula de ATP a partir do ADP (Guyton & Hall, 2012). A creatina e fosfocreatina musculares são constantemente desidratadas por reações não enzimáticas irreversíveis, gerando creatinina, a qual é excretada pelos rins. Esta perda constante de creatina é proporcional à massa muscular e deve ser substituído por resíntese endógena (Janicki e Buzala, 2013).

Um destino alternativo para a SAM é sua descarboxilação, sob ação da enzima S-adenosilmetionina descarboxilase (SAMDC), para formar SAM descarboxilada, que é o doador de grupos aminopropil para a síntese de poliaminas (espermidina e espermina). A ornitina é inicialmente transformada em putrescina, pela ação da enzima ornitina descarboxilase (OD), dependente de PLP (Figura 3). Posteriormente, a enzima propilaminotransferase I (PROPT I) promove a reação química da SAM descarboxilada com a putrescina, formando a espermidina, que juntamente com outra molécula de SAM descarboxilada produz espermina, sendo necessária a presença da enzima PROPT II (Fukagawa, 2006; Nelson & Cox, 2014).

Apesar da enzima SAM_H competir com as metiltransferases pela SAM, a reação de descarboxilação geralmente consome menos de 30% de SAM disponível, e a metionina é ainda eficientemente resintetizada a partir do metiltioadenosina formado na via de síntese das poliaminas (Stipanuk, 1986).

O conhecimento das funções fisiológicas das poliaminas ainda não está totalmente elucidado. Segundo Grimble & Grimble (1998) e Fukagawa (2006) estas aminas biogênicas estão envolvidas no crescimento e proliferação celular e na síntese de proteínas e ácidos nucleicos. Desta forma, as poliaminas são encontradas em altas concentrações em locais onde exista elevada divisão celular.

O epitélio intestinal é um exemplo de tecido que está em constante renovação celular, devido às diversas “agressões” decorrentes do contato com o alimento consumido e também pela presença de microrganismos no lúmen intestinal. Em seu estudo, Artis (2008) observou que a presença de bactérias no lúmen intestinal pode ser detectada pelas células dendríticas, responsáveis por aumentar a concentração de macrófagos e outras células do sistema imune no epitélio intestinal. Assim, pode-se inferir que o intestino possui elevada produção de enterócitos e de células do sistema imune, necessitando de grandes quantidades de poliaminas para executar essa função.

1.3.3. Metabolismo da cisteína e síntese de biomoléculas

Assim como a metionina, a cisteína também está envolvida na produção de proteínas, sendo responsável pela formação de vários componentes corporais importantes (Figura 4), como GSH, taurina e sulfato de hidrogênio (H₂S) (Stipanuk, 2004; Stipanuk & Ueki, 2011; Nelson & Cox, 2014).

Nas proteínas dos alimentos, tecidos corporais e no sangue, a cisteína encontra-se principalmente na forma do seu dímero, a cistina (Yin et al., 2015). Segundo Lewis (2003), isto ocorre devido à baixa estabilidade da molécula de cisteína em soluções, sendo facilmente oxidada. Nesta reação duas moléculas ou resíduos de cisteína são unidos covalentemente por uma ligação dissulfeto (S-S), que exercem um papel especial nas estruturas de muitas proteínas pela formação de junções covalentes entre partes de uma molécula polipeptídica ou entre duas cadeias polipeptídicas diferentes (Nelson & Cox, 2014). As proteínas do pêlo e das mucinas são exemplos de proteínas corporais com grande concentração de cisteína sob a forma de cistina.

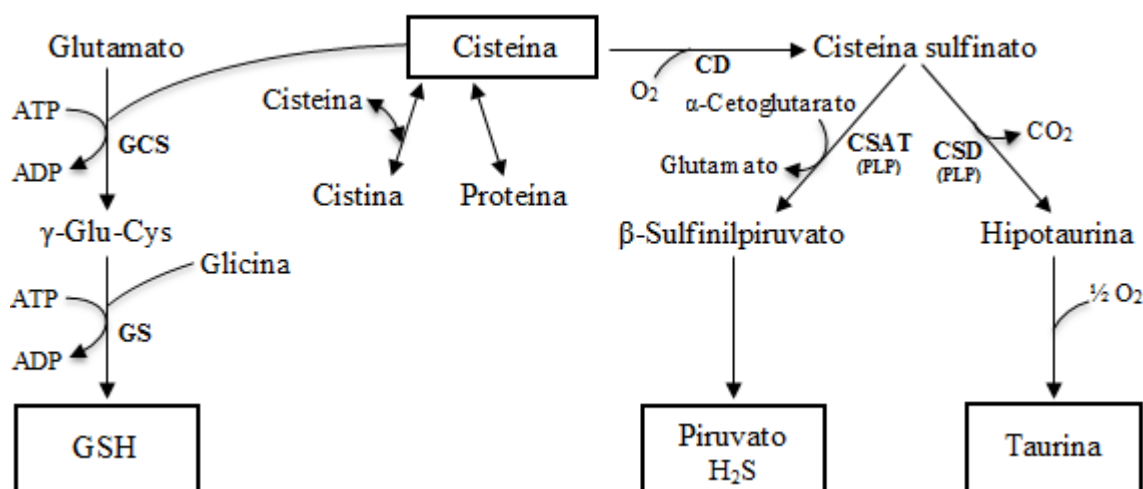


Figura 4. Metabolismo da cisteína e síntese de biomoléculas. Fonte: Adaptado e expandido de Stipanuk (2004), Stipanuk & Ueki (2011) e Nelson & Cox (2014).

No interior das células, a cistina é facilmente reduzida à cisteína. Esta reação é catalisada pelos sistemas da tioredoxina e da glutathiona redutase, sendo considerado como um processo chave para a biossíntese de proteínas, GSH, H₂S e taurina, já que a cisteína é utilizada nestas vias e não a cistina (Park et al., 2010; Conrad & Sato, 2012).

Grande parte da cisteína formada no organismo, ou adquirida através da alimentação, é utilizada para formação de GSH. Sua biossíntese ocorre na maioria dos tecidos, sendo realizada através de duas sucessivas reações enzimáticas dependentes de ATP. Na primeira etapa, ocorre uma ligação entre os aminoácidos glutamato e cisteína, por intermédio da enzima γ -glutamil-cisteína-sintetase (GCS), resultando em γ -glutamil-cisteína. A segunda fase consiste na ligação desse dipeptídeo com a glicina, pela ação da enzima glutathiona sintetase (GS) (Lu, 2009; Chen et al., 2013). Desta forma, a GSH é um tripeptídeo chamado γ -glutamilcisteinil-glicina (γ -Glu-Cys-Gly).

A GSH está envolvida em uma variedade de ações biológicas, dentre elas, cita-se a proteção contra compostos tóxicos, na regulação da proliferação celular, apoptose, no sistema imune, reservatório de cisteína, e a principal, agente antioxidante (Wu et al., 2004; Huber et al., 2008).

O sistema antioxidante da GSH é um dos mais abundantes e importantes na proteção das células animais contra os danos causados por agentes oxidantes. Este sistema atua sobre peróxidos de hidrogênio (H₂O₂) e hidroperóxidos orgânicos (ROOH), convertendo-os em água e álcool, respectivamente. Além da GSH reduzida, o sistema antioxidante da GSH (Figura 5) é composto pela glutathiona oxidada (GSSG) e

pelas enzimas glutatona peroxidase (GPx) e glutatona redutase (GR) (Chen et al., 2013, Lu, 2013).

Para reduzir as espécies oxidantes, duas moléculas de GSH se oxidam à glutatona dissulfeto (GSSG). Essa reação é catalisada pela GPx, uma enzima notável pelo fato de conter um átomo de selênio covalentemente ligado na forma de selênio-cisteína, que é essencial para sua atividade. Na forma de GSSG, a glutatona está incapacitada para nova reação. A enzima GR é a responsável por regenerar a GSH, a partir de GSSG, utilizando NADH como doador de elétrons (Cominetti et al., 2011; Lu, 2013). Desta forma, além da síntese de novo, através de aminoácidos precursores, a homeostase da glutatona é mantida também pela regeneração da GSH, permitindo que a mesma molécula seja usada mais de uma vez no combate às espécies reativas de oxigênio (Shoveller et al., 2005).

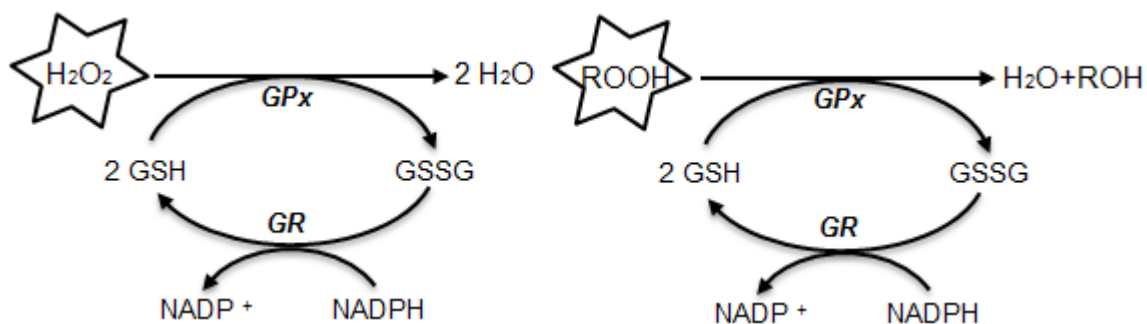


Figura 5. Sistema de defesa antioxidante da GSH contra o H_2O_2 e ROOH. Participação das moléculas de glutatona reduzida (GSH) e oxidada (GSSG) e das enzimas glutatona peroxidase (GPx) e glutatona redutase (GR). Fonte: Adaptado de Lu (2013).

Há uma estimativa de que ao menos metade da cisteína necessária para a síntese de GSH seja fornecida pela via da transulfuração da metionina, e sob condições de estresse oxidativo, na qual é requisitado maior produção de glutatona, ocorra uma maior ativação desta via (Vitvitsky et al., 2003).

A cisteína também desempenha papel fundamental na integridade e manutenção das funções intestinais. Este aminoácido é requerido para a síntese de proteínas da mucosa intestinal, das mucinas e da GSH. A GSH é essencial na manutenção da função intestinal normal e pela proteção das células epiteliais dos danos causados por agentes oxidantes (Bauchart-Thevret et al., 2009a, 2011). As mucinas produzidas pela mucosa intestinal são ricas em cisteína e desempenham importante papel na defesa imunitária inata da mucosa (Faure et al, 2002). Estudo com leitões recém-desmamados mostram que o trato gastrointestinal utiliza 25% da cisteína dietética e que a síntese de mucinas e

GSH são os principais destino metabólico para a cisteína (Bauchart-Thevret et al., 2011).

Alternativamente ao uso para a síntese de proteínas e GSH, a cisteína pode ser oxidada a cisteína sulfinato. Esta reação é catalisada pela cisteína desoxigenase (CD), que apresenta uma alta expressão hepática. A cisteína sulfinato pode ser catabolizada por duas vias. Sob ação da enzima cisteína-sulfinato descarboxilase (CSD) a cisteína sulfinato é descarboxilada para dar origem a hipotaurina que é subsequentemente oxidada a taurina. Alternativamente, a cisteína sulfinato pode ser transaminada pelo α -cetoglutarato sob ação da cisteína-sulfinato aminotransferase (CSAT), formando β -sulfinilpiruvato. Tanto a CSD como a CSAT são dependentes da coenzima PLP, aumentando o número de enzimas envolvidas no metabolismo dos AAS dependentes desta coenzima. Por fim, o β -sulfinilpiruvato é convertido a piruvato e sulfito, que é facilmente oxidado para H_2S (Shibuya et al., 2009; Kabil & Banerjee, 2010; Stipanuk & Ueki, 2011).

Embora o H_2S e a taurina sejam os produtos finais do catabolismo da cisteína, estes compostos desempenham importantes funções no organismo antes de serem excretados na urina. O H_2S é uma substância gasosa que executa várias funções homeostáticas no organismo, dentre elas, cita-se ação anti-inflamatório, antioxidante e neuroprotetora (Olson & Donald, 2009; Yin et al., 2015). Esta substância pode ainda aumentar a resistência do estômago à injúrias e acelerar a restauração da mucosa, promover a redução na pressão sanguínea e o relaxamento dos músculos lisos (Zhao; Wang, 2002; Stipanuk, 2004).

A taurina, por sua vez, é um dos aminoácidos mais abundante no organismo animal (Brosnan & Brosnan, 2006). Apesar de não ser utilizada na síntese proteica este aminoácido desempenha importantes funções no organismo animal, dentre as quais, agente osmótico intracelular que modula as concentrações de cálcio livre, efeito citoprotetor, atividade antioxidante, neurotransmissor e resposta pró-inflamatória (Schuller-Levis & Park, 2004; Ripps & Shen, 2012). Além disso, a taurina está envolvida na formação dos sais biliares, importantes para a digestão de lipídios (Bauchart-Thevret et al., 2009b; Chen et al., 2012).

1.4. Vitamina B₆ e sua relação metabólica com a metionina

A vitamina B₆ (piridoxina) é a descrição genérica para todos os compostos químicos derivados do 3-hidroxi-2-metilpiridina que exibem atividade biológica de piridoxina (3-hidroxi-4,5-di-hidroximetil-2-metilpiridina). Eles diferem apenas na natureza do grupo funcional ligado ao anel (Figura 6), podendo se apresentar na forma de álcool (piridoxina ou piridoxol), aldeído (piridoxal) e amina (piridoxamina). A piridoxina é a forma predominante nas plantas, enquanto que o piridoxal e a piridoxamina são encontrados em produtos animais. Todos os três compostos podem servir como precursores da coenzima biologicamente ativa, o PLP (Combs Jr., 2008).

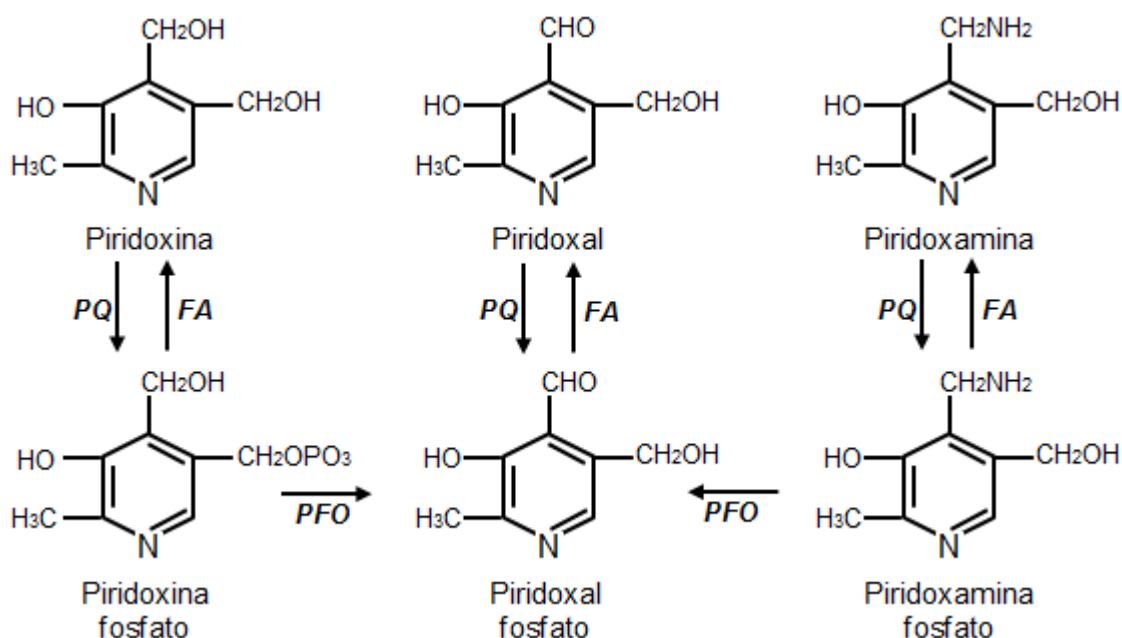


Figura 6. Estrutura química e interconversões metabólicas da vitamina B₆. Fonte: Adaptado de Combs Jr. (2008).

As várias formas da vitamina B₆, presentes nos alimentos, são absorvidas por difusão passiva, principalmente no jejuno e íleo. Inicialmente ocorre a separação da vitamina, uma vez que se encontra ligada à proteína dos alimentos. Em seguida, as formas fosforiladas (PLP e piridoxamina fosfato) sofrem desfosforilação catalisada pela fosfatase alcalina (FA) ligada à membrana do intestino. Os produtos da desfosforilação, assim como as formas vitamínicas não fosforiladas (piridoxina, piridoxal e piridoxamina), são absorvidos por difusão através da ação de fosforilação da piridoxal quinase (PQ) na mucosa do intestino (McDowell, 2000).

Com relação aos processos pós-absortivos, Combs Jr. (2008) relatam que o fígado é o órgão central do metabolismo da vitamina B₆. Segundo o autor, os compostos B₆ são transportados para o fígado e são convertidos principalmente em PLP. Inicialmente, a enzima PQ catalisa a fosforilação da piridoxina, piridoxal e piridoxamina, obtendo-se os fosfatos correspondentes (Figura 6). Esta reação pode ser revertida pela ação da enzima FA. Finalmente, a enzima piridoxamina fosfato oxidase (PFO) catalisa a conversão da piridoxina fosfato e piridoxamina fosfato em PLP, que é considerado a forma mais ativa da vitamina.

A vitamina B₆, na forma de coenzima PLP, participa em reações enzimáticas relacionadas ao metabolismo de carboidratos e ácidos graxos, mas principalmente nas reações envolvendo o metabolismo de aminoácidos (transaminação, descarboxilação, transulfuração, entre outras). A característica marcante da reatividade química do PLP é a capacidade de seu grupo aldeído reagir com o grupo ε-amino de um resíduo de lisina (no sítio ativo da enzima) para formar bases de Schiff. O efeito de remoção de elétrons da base de Schiff resultante torna livre outras ligações do carbono, sendo essa a base das funções catalíticas do PLP (Nelson & Cox, 2014).

A vitamina B₆ desempenha importantes papéis no organismo para manter o metabolismo energético, especialmente em uma situação de baixa glicemia (jejum, por exemplo). O PLP é cofator enzimático da enzima glicogênio fosforilase, responsável pela clivagem do glicogênio para liberar glicose (glicogenólise) (Combs Jr., 2008). O autor supracitado ainda explica que, ao contrário das outras enzimas piridoxal-fosfato dependentes, as fosforilases constituem um grupo de coenzimas cataliticamente importante, que participam da transferência de fosfato inorgânico para as unidades de glicose do glicogênio, produzindo glicose-1-fosfato, que será prontamente disponibilizada para manter a glicemia. Este papel da vitamina B₆ no organismo animal responde pela utilização de mais da metade de sua concentração total disponível, devido à abundância da enzima glicogênio fosforilase nos músculos (cerca de 5% de proteína solúvel do músculo).

A vitamina B₆ também é importante para a produção de energia a partir dos aminoácidos (gliconeogênese). Na forma PLP ela serve de coenzima para inúmeras transaminases, responsáveis pela desaminação dos aminoácidos, permitindo que o esqueleto carbônico seja utilizado na via gliconeolítica. Convencionalmente, nas reações de transaminação, o PLP age como um carreador intermediário de grupos amino, no sítio ativo das transaminases. Assim, o PLP é convertido à sua forma

aminada, qual seja a piridoxamina-fosfato, mas em seguida já doa um radical amina (NH_3) para um α -cetoácido específico (Nelson & Cox, 2014).

Alterações no metabolismo de lipídios, tais como, hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia, também têm sido relatadas em resposta à privação de vitamina B₆. A base metabólica destes efeitos ainda permanece incerta. Evidências sugerem que tais efeitos sobre o metabolismo dos lipídios são devido ao envolvimento desta vitamina na biossíntese de carnitina (Cho & Leklem, 1990; Ramsay et al., 2001; Apple et al., 2008), molécula responsável pelo transporte de ácidos graxos de cadeia longa do citosol para a matriz mitocondrial, para serem oxidados.

A segunda enzima envolvida na síntese da carnitina, a HTMLA é uma enzima PLP-dependente, que é responsável pela clivagem aldólica do HTML para formar TMABA, que posteriormente será convertido em carnitina (ver metabolismo da metionina). A identidade do gene que codifica a HTMLA ainda não foi totalmente elucidada. Alguns autores consideram-na idêntica à SHMT, por observarem a capacidade desta enzima em converter HTML para TMABA e glicina (Henderson et al., 1980, Cho & Leklem, 1990).

No que tange ao metabolismo da metionina, o PLP é um cofator bem estabelecido para três enzimas: CBS e CGL da via da transulfuração e SHMT do ciclo do folato (Figura 7). A atividade destas enzimas é fundamental no controle das concentrações de homocisteína no organismo.

A SHMT está envolvida na transferência de unidades de carbono da serina para o tetraidrofolato, possibilitando assim a regeneração do N⁵-metilenotetraidrofolato, importante cofator utilizado na metilação da homocisteína, convertendo-a em metionina. Neste sentido, a regeneração constante do N⁵-metilenotetraidrofolato é importante não apenas para a resíntese de metionina, mas também na remoção da homocisteína. Contudo, a conversão da homocisteína em metionina não tem efeito significativo no controle da concentração de homocisteína no organismo, uma vez que a homocisteína poderá ser novamente produzida no ciclo da metionina. Neste sentido, a transulfuração representa a principal via de eliminação do excesso de homocisteína (Stipanuk, 2004; Brosnan & Brosnan, 2006). As enzimas CBS e CGL (PLP-dependente) catalisam as reações desta via, sendo assim responsáveis pela conversão irreversível da homocisteína em cisteína, evitando seu acúmulo no organismo.

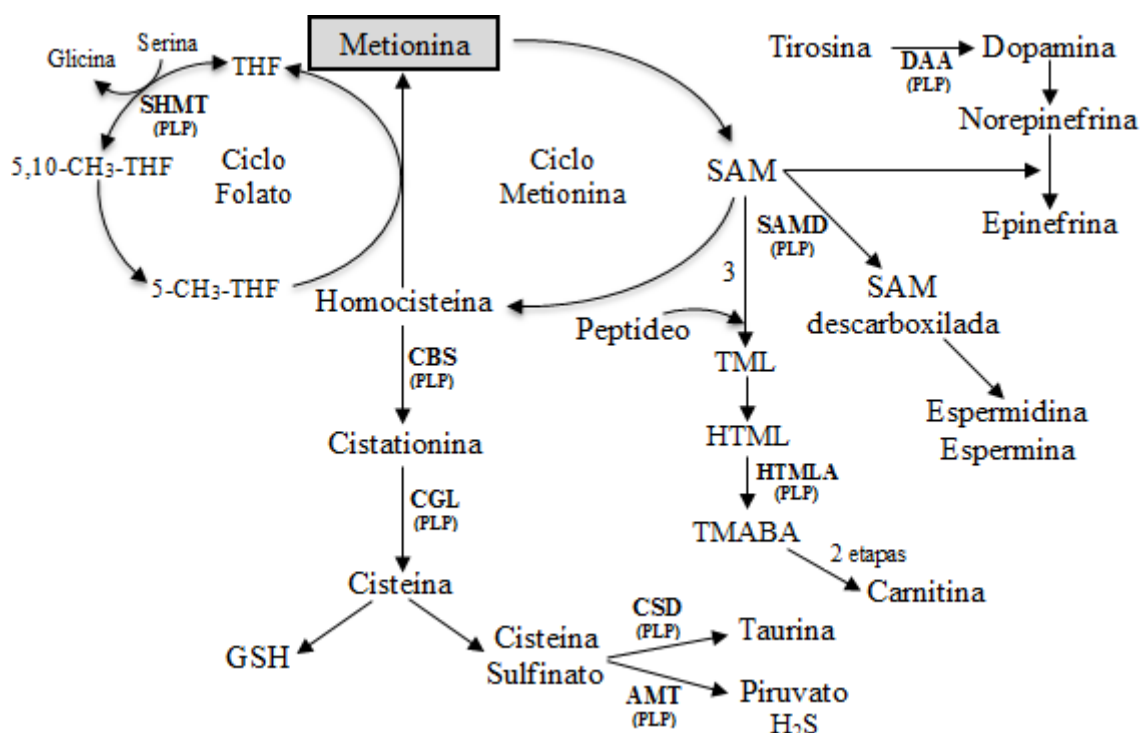


Figura 7. Interações metabólicas entre a metionina e a vitamina B₆. Fonte: Adaptado e expandido de Brosnan & Brosnan (2006), Stipanuk & Ueki (2011) e Nelson & Cox (2014).

Desta forma, a deficiência de vitamina B₆ pode resultar em atividade reduzida das enzimas SHMT, CBS e CGL, prejudicando o controle das concentrações de homocisteína.

Em estudos com ratos e suínos foram observados níveis sanguíneos mais elevados de homocisteína nos animais deficientes em vitamina B₆ (Miller et al., 1994; Martinez et al., 2000; Lima et al., 2006; Zhang et al., 2009). No estudo de Miller et al. (1994), os autores observaram que ratos deficientes em vitamina B₆ apresentavam concentrações de homocisteína semelhante aos não deficientes, porém, quando foi fornecido um excesso de metionina, a homocisteína aumentou em 30 vezes nos ratos deficientes, mas não nos animais do grupo controle. Desta forma, o excesso de metionina pode agravar o quadro de hiper-homocisteinemia em animais deficientes em vitamina B₆.

Alguns autores apontam ainda para um possível efeito da vitamina B₆ na regulação da expressão gênica das enzimas CBS e CGL. Em estudos com roedores, Sato et al. (1996) observaram aumento na expressão gênica da enzima CGL à medida que os animais foram submetidos a dietas deficientes em vitamina B₆. No entanto, ao avaliarem o efeito de dois níveis de vitamina B₆ (0 e 3 mg/kg de ração) para leitões recém-desmamados, Zhang et al. (2009) não observaram alterações na expressão gênica

das enzimas CBS e CGL no fígado. Entretanto, a deficiência desta vitamina apresentou efeito rápido (já na terceira semana) sob a atividade das enzimas MTHFR, CBS e CGL, juntamente com um quadro de homocisteinemia grave. Segundo os autores, o aumento nas concentrações de homocisteína está relacionado, principalmente, à menor atividade das enzimas CBS e CGL (PLP-dependente), responsáveis pela eliminação do excesso de homocisteína pela via da transulfuração.

A coenzima PLP ainda está envolvida em importantes vias de síntese de biomoléculas derivadas da metionina (Figura 7). Na via da transulfuração, possibilita a conversão da homocisteína em cisteína, garantindo o fornecimento deste aminoácido para a síntese de GSH. Também é fundamental para ativação das enzimas responsáveis pela síntese de carnitina, de neurotransmissores (dopamina, norepinefrina e epinefrina), das poliaminas (putrescina, espermidina e espermina), e nas vias catabólicas da cisteína, permitindo a síntese de taurina e H₂S sendo, portanto, fundamental para a manutenção das funções desempenhadas por essas biomoléculas.

Em termos de exigências nutricionais de vitamina B₆, as principais referências na atualidade são as Tabela Brasileira de Aves e Suínos (Rostagno et al., 2011) e as tabelas do NRC (2012). No entanto, a estimativa da exigência de vitamina B₆, assim como para a maioria das vitaminas, são estabelecidas com base em poucos estudos, realizados há muito tempo. Assim, as exigências nutricionais dos animais modernos podem ser diferentes.

Os suínos modernos são caracterizados por apresentarem alta produtividade, implicando em intenso anabolismo. Para suportar esta elevada taxa metabólica, os requerimentos de certos nutrientes, como os aminoácidos, têm sido constantemente atualizados, contudo as exigências de algumas vitaminas envolvidas no metabolismo destes nutrientes nem sempre são ajustadas para atender ao aumento do nível de produção (Matte & Lauridsen, 2013).

Essa imprecisão pode ser conferida em muitos trabalhos realizados atualmente, em que as exigências para algumas vitaminas do complexo B (riboflavina, niacina, ácido pantotênico, vitamina B₆ e B₁₂) são bem maiores do que as atuais recomendações (Lindemann et al., 1999; Giguère et al., 2005; Stahly et al., 2007; Zhang et al., 2009). Na maioria destes estudos, a adição de vitaminas em quantidades de 2 a 10 vezes acima daqueles sugeridos pelo NRC (1988, 1998 e 2012) tem apresentado resultados satisfatórios sobre o ganho de peso e a conversão alimentar, além de enriquecimento da carne dos suínos com estas vitaminas.

Rostagno et al. (2011) propuseram níveis de suplementação de vitamina B₆ de 1,2 mg/kg de ração para suínos machos castrados e fêmeas dos 70 aos 100 kg. O NRC, nas suas últimas três edições (1988, 1998 e 2012), apresentou requerimento de vitamina B₆ de 1 mg/kg de ração, para suínos machos castrados e fêmeas dos 75 aos 100 kg. Essa divergência, assim como a falta de atualização, evidencia a necessidade de novas pesquisas. Além disso, suínos de diferentes sexos podem apresentar respostas diferentes quando submetidos a dietas com níveis suplementares mais elevados de vitamina B₆ do que o atualmente recomendado.

1.5. Hiper-homocisteinemia

A homocisteína foi descoberta por Vincent Du Vigneaud em 1932. Trata-se de um aminoácido sulfurado, não essencial e não proteínogênico, formado a partir da desmetilação da metionina (Amorin et al., 2011). Em níveis normais, a homocisteína desempenha funções essenciais no organismo animal, incluindo sua remetilação a metionina ou transulfuração a cisteína, disponibilizando estes aminoácidos para a síntese proteica. A homocisteína está envolvida na reciclagem do tetraidrofolato, no metabolismo da colina (via betaína) e na geração da SAM que, por sua vez, pode ser utilizada para a biossíntese de poliaminas ou como cofator metilante para a síntese de outras biomoléculas (ver metabolismo da metionina).

Apesar disso, estudos publicados a partir da década de 60 têm relacionado níveis sanguíneos elevados de homocisteína (hiper-homocisteinemia) com o desenvolvimento de algumas doenças em humanos, como doenças cardiovasculares (aterosclerose e trombose) doença de Alzheimer, diabetes, osteoporose e doenças renais (Gerristen & Waisman, 1964; Malinow, 1995; Guimarães, 2006; Huang et al., 2008; Coussirat et al., 2012; Thaler et al., 2013), aumentando o interesse pelo estudo do metabolismo deste aminoácido.

Segundo Andreotti et al. (1999), o risco associado à hiper-homocisteinemia, no desenvolvimento de doenças cardiovasculares, é dependente da sua concentração sanguínea e não da associação com outros fatores de risco, como hipertensão arterial, diabete melito, tabagismo, sedentarismo, colesterol, HDL, LDL e triglicérides. Segundo os autores, há um aumento de 1,4 vezes no risco de aterosclerose em humanos para cada 5 μmol/litro de aumento do total da homocisteína no sangue. A homocisteína elevada

(acima de 95%) está associada com o risco relativo de trombose venosa e embolismo pulmonar (Wuillemin & Solenthaler, 1999).

Nas últimas décadas, a relação da hiper-homocisteinemia com o desenvolvimento de doenças cardiovasculares também tem sido investigada em animais de experimentação, havendo relatos de doença aterosclerótica e trombótica em roedores, macacos, coelhos e suínos (Smolin et al., 1983; Rolland et al. 1995; Lentz et al., 1996; Ambrosi et al., 1999; Stead et al., 2000; Stahlk et al., 2004; França et al., 2008). Segundo Ambrosi et al. (1999), a morfologia das lesões vasculares causadas pelos altos níveis sanguíneos de homocisteína em suínos são as que mais se assemelham as dos humanos, em relação a ratos e coelhos.

Ao avaliarem o efeito da hiper-homocisteinemia causada pelo excesso de metionina na dieta, Rolland et al. (1995) observaram alterações patológicas na lâmina elástica das artérias de suínos. Além disso, foram diagnosticados dois casos de trombose, dos dezesseis animais estudados. Em estudo mais recente, França et al. (2008) também avaliaram o efeito da hiper-homocisteinemia sobre a integridade vascular em suínos, e observaram uma ruptura da lâmina elástica e hiperplasia das células do músculo liso, que são características das lesões induzidas pelo nível elevado de homocisteína no sangue.

Os mecanismos envolvendo a ação da hiper-homocisteinemia no desenvolvimento destas doenças ainda não são totalmente compreendidos. No entanto, evidências experimentais sugerem que o aumento na concentração sanguínea de homocisteína leva à disfunção endotelial e que as lesões resultantes diminuiriam a vasodilatação, podendo também ocorrer dano oxidativo, proliferação de células do músculo liso endotelial, oxidação de lipoproteínas de baixa densidade e redução da produção de óxido nítrico. Todos estes efeitos suportam o desenvolvimento ou progressão de lesões ateroscleróticas e formação de trombos (Woo et al., 1997; Vannucchi & Melo, 2009; Huang et al., 2015).

Acredita-se que as alterações no endotélio vascular, causadas pela hiper-homocisteinemia, são mediadas principalmente pelo efeito tóxico das formas oxidadas deste aminoácido (Nishinaga, 1993; Amorim et al., 2011). Quando liberada para o sangue, a homocisteína é rapidamente auto-oxidada, originando a homocistina e homocisteína-tiolactona, bem como formas ativas de oxigênio consideradas citotóxicas, tais como superóxido, H_2O_2 e radical hidroxila (Weiss et al., 2002; Stefanello et al., 2005). Além disto, altos níveis de homocisteína reduzem a atividade da GPx, agravando

ainda mais o stress oxidativo das células (Sharma et al., 2006; Venâncio et al., 2010). Essa enzima serve de combate ao stress oxidativo, pois possui a capacidade de reduzir o H_2O_2 e o peróxido de lipídio em seus respectivos alcoóis.

Sharma et al. (2006) reiteram ainda que aproximadamente 135 genes são afetados, direta ou indiretamente pelos níveis sanguíneos elevados de homocisteína. Segundo os autores, a maioria destes genes está associada com o metabolismo da glicose, insulina, lactato, cálcio, cloreto, dos lipídios, do sistema imune (citocinas e atividade antioxidante), sistema circulatório (coagulação sanguínea, pressão arterial e vasodilatação), sistema nervoso e do ciclo celular.

Assim, o excesso de homocisteína pode ser prejudicial aos humanos e animais e pode causar doenças vasculares, mas sem que haja consenso sobre os valores sanguíneos que mostram o potencial citotóxico para o desenvolvimento dessas doenças. A classificação mais comumente encontrada para humanos está apresentada na Tabela 2.

Tabela 2. Classificação da hiper-homocisteinemia em humanos

Forma	Concentração sanguínea ($\mu\text{mol/L}$)
Normal	5 - 15
Moderada	16 - 30
Intermediária	31 - 100
Severa	>100

Fonte: Adaptado de Venâncio et al. (2009) e Beard & Bearden (2011).

Contudo, para suínos, ainda não existe um nível sanguíneo considerado normal de homocisteína e, não é raro os relatos de concentrações que excedem os 15 $\mu\text{mol/L}$, a exemplo de 40 $\mu\text{mol/L}$ (Smolin et al., 1983), 20 $\mu\text{mol/L}$ (Stangle et al., 2000), 170 $\mu\text{mol/L}$ (Skomial et al., 2004), 59 $\mu\text{mol/L}$ (França et al., 2006) e 490 $\mu\text{mol/L}$ (Zhang et al., 2009). Embora possam haver diferenças entre as espécies, os níveis elevados de homocisteína em suínos podem ser indicativo de um desequilíbrio no ciclo da metionina.

O metabolismo, em geral, mantém as concentrações de homocisteína em níveis baixos, mas a sua elevação no sangue possui causas multifatoriais. Segundo Amorin et al. (2011), a elevação dos níveis de homocisteína pode ser causada por fatores patológicos e fisiológicos, mas principalmente por fatores nutricionais e genéticos. Dentre os fatores fisiológicos encontram-se o sexo e a idade, sendo observados maiores

valores de homocisteína em indivíduos mais velhos e do sexo masculino (Mayer, 1996; Leal et al., 2013; Kakimoto et al., 2014).

A hiper-homocisteinemia genética é frequentemente resultado do polimorfismo ou mutação em genes que codificam enzimas do ciclo da metionina, sendo mais comumente observados para as enzimas CBS, MTHFR e a MS (Lewis et al., 2005; Tanaka et al., 2009; Beard & Bearden, 2011; Jiang et al., 2014). Dentre as bases nutricionais encontram-se a deficiência de vitaminas que estão envolvidas no metabolismo da homocisteína, como as vitaminas B₆, B₁₂ e folato, ou um excesso de metionina na dieta (Stangle et al., 2000; Shoveller et al., 2004; Giguère et al., 2005; Lima et al., 2006; Tanaka et al., 2009; Xie et al., 2014; Martinez-Vega et al., 2015).

Em estudos com suínos, França et al. (2006) avaliaram o efeito de uma dieta rica em metionina, por um período de 30 dias, sobre os níveis sanguíneos de homocisteína. Os animais do grupo controle (sem excesso de metionina), não apresentaram alterações nos níveis de homocisteína, com valores médios de 14,40 µmol/l no início do experimento e 16,73 µmol/l após 30 dias. Entretanto, os animais que receberam a dieta com excesso de metionina apresentaram um aumento de 3,4 vezes (59,80 µmol/l) na homocisteína quando comparado aos níveis apresentados no início (17,47 µmol/l) do período experimental. Os autores também observaram aterogênese na artéria ilíaca de animais submetidos a dietas ricas em metionina, que está relacionado a hiper-homocisteinemia induzida pela excesso de metionina.

Em outro estudo, Zhang et al. (2009) avaliaram o efeito da deficiência de vitamina B₆ por um período de 6 semanas sobre o metabolismo da homocisteína em suínos na fase inicial. Embora os autores não tenham observado alterações na expressão gênica hepática das enzimas CBS e CGL, houve uma redução na atividade das enzimas PLP-dependente, CBS, CGL e MTHFR, assim como as concentrações hepáticas de cisteína e PLP foram evidentemente reduzidas após 6 semanas de deficiência da vitamina B₆. Também foi observado um aumento de 13,0 vezes (336,5 µmol/l) na homocisteína sanguínea na terceira semana, e de até 18,9 vezes (490,2 µmol/l) na sexta semana, quando comparado a concentração no início do período experimental (25,9 µmol/l).

Desta forma, o excesso de metionina ou a deficiência de vitamina B₆ na dieta podem levar os suínos a apresentarem aumento nos níveis sanguíneos de homocisteína, caracterizando um quadro de hiper-homocisteinemia.

1.6. Efeito dos AAS sobre as características de carcaça e qualidade de carne

A crescente demanda dos consumidores por carne suína mais magra tem despertado o interesse de nutricionistas por nutrientes que possam aumentar a quantidade de carne magra e reduzir o teor de gordura das carcaças (Pena et al., 2008; Chen et al., 2008). No metabolismo animal, a metionina é utilizada para síntese de carnitina. Esta biomolécula desempenha papel fundamental no transporte de ácidos graxos de cadeia longa através da membrana mitocondrial, facilitando assim a β -oxidação. Desta forma, a suplementação com metionina na dieta de suínos em terminação pode proporcionar redução na espessura de toucinho e aumento na porcentagem de carne magra das carcaças.

Santos et al. (2007) avaliaram o efeito de níveis crescentes de Met+Cis digestíveis (0,440 a 0,536%) sobre as características de carcaça de suínos machos castrados em terminação (60 aos 95 kg), e observaram aumento na quantidade de carne magra na carcaça. Ao avaliarem relações crescentes de Met+Cis:Lis (0,35 a 0,65%) para fêmeas suínas, dos 74 aos 110 kg, Knowles et al. (1998) verificaram redução linear na deposição de gordura na carcaça. Efeito positivo dos níveis de Met+Cis digestíveis sobre características de carcaça também foi reportado por outros autores na literatura, a exemplo de Vaz et al. (2005) e Moura et al. (2006) (menor deposição de gordura na carcaça), para suínos na fase de crescimento e Pena et al. (2008) (menores níveis de colesterol no lombo e no toucinho) para animais em terminação.

Contudo, Loughmiller et al. (1998) não observaram alteração nas características de carcaça, espessura de toucinho e área de olho de lombo, de fêmeas suínas em terminação (74-104 kg) alimentadas com rações contendo níveis crescentes (0,225 a 0,325%) de Met+Cis digestíveis. Em estudo com suínos machos castrados (95-125 kg), Santos et al. (2011) também não observaram efeito de níveis de Met+Cis (0,427 a 0,525%) na ração sobre as características de carcaça dos animais. Entre os fatores que podem ter contribuído para as diferenças de resultados destacam-se a genética dos animais e os níveis de aminoácidos avaliados em cada estudo.

Do ponto de vista tecnológico e sensorial, a qualidade de carne é influenciada por diversos fatores, incluindo a alimentação, genética e sexo do animal, manejos pré-abate, tempo de jejum e condições de armazenamento das carcaças (Rosenvold & Andersen, 2003b; Bridi & Silva, 2009).

Uma das principais causas da perda de qualidade da carne suína é o rápido e extenso declínio do pH *post-mortem*, devido ao acúmulo de ácido láctico proveniente da glicólise anaeróbica, antes que a carcaça tenha se resfriado com eficiência (Adzitey & Nurul, 2011). Esta combinação de baixo pH e alta temperatura leva à desnaturação de proteínas musculares, especialmente a miosina e a mioglobina (principal pigmento da carne), o que resulta em carnes de cor clara, textura mole e baixa capacidade de retenção de água (Soares et al., 2003; Scheffler e Gerrard, 2007; Barbut et al., 2008), que são características da carne PSE (do inglês *pale in color, soft in texture and exudative*). Essas carnes geralmente apresentam um baixo rendimento tecnológico em função das perdas por exsudação durante o processamento. Sua aceitação pelos consumidores também é menor devido a aparência pálida (Norman et al., 2003).

Geralmente a carne PSE é resultado de situações de estresse de curta duração a qual os suínos são submetidos antes do sacrifício. Em uma condição de curto estresse pré-abate, as concentrações de glicogênio muscular no momento do abate são elevadas, o que determina alta taxa glicolítica *post-mortem*. Por outro lado, animais que sofrem estresse de longa duração apresentam um baixo potencial glicolítico no momento do abate, uma vez que não há tempo hábil para o glicogênio ser recuperado (Rosenvold & Andersen, 2003a). Nessa situação, ocorre uma reduzida queda do pH muscular no período *post-mortem*. A carne desses animais apresentará cor escura, textura firme e com grande capacidade de retenção de água (Apple et al., 2005; Adzitey & Nurul, 2011), características da carne DFD (do inglês *dark in color, firm in texture and dry or non exudative*).

Desta forma, estratégias nutricionais para aumentar a disponibilidade de ATP de outras fontes que não envolva a via glicolítica pode ser uma importante ferramenta para amenizar o declínio do pH *post-mortem*, preservando a qualidade das carnes (Berg et al., 2003). No metabolismo animal a metionina, na forma de SAM, atua como doador de grupos metil para a biossíntese de várias substâncias, entre elas, a creatina.

Na sua forma fosforilada (fosfocreatina) a creatina constitui uma importante reserva energética para o músculo, sendo prontamente utilizada na resíntese de ATP ($ADP + \text{fosfocreatina} = ATP + \text{creatina}$), à medida que este vai sendo utilizado no metabolismo muscular. A produção de ATP a partir da fosfocreatina é particularmente importante, uma vez que não envolve a via glicolítica e a formação de ácido láctico, amenizando a queda de pH durante a conversão do músculo em carne (Berg e Allee, 2001; Janicki e Buzala, 2013).

O efeito da creatina em reduzir a velocidade e intensidade de queda do pH *post-mortem* foi investigado por alguns autores na literatura. Trabalhando com nível de suplementação diário de 25g de creatina monohidratada (CMH), durante cinco dias antes do abate, Maddock et al. (2002) observaram maiores valores de pH inicial (medido 45 minutos após o abate) para os animais suplementados (pH = 6,2), quando comparado ao grupo não suplementado (pH = 5,9). Berg & Allee (2001); Young et al. (2005) e Machado et al. (2008) também relataram maiores valores de pH inicial do músculo de suínos suplementados com CMH. Além do pH inicial, os autores observaram efeito da suplementação com CMH em outras variáveis de qualidade da carne, como menor queda do pH final (medido 24 horas após o abate) (Berg & Allee, 2001) e maiores valores de a^* , ou seja, carnes mais vermelhas (Machado et al., 2008). Desta forma, o fornecimento adequado de metionina para a síntese de creatina pode reduzir a velocidade e intensidade de queda do pH *post-mortem*, melhorando atributos de qualidade da carne.

A oxidação lipídica que ocorre no músculo, no período *post-mortem*, representa outra causa de perda de qualidade das carnes (Soares et al., 2009). Os principais substratos envolvidos na oxidação são os ácidos graxos poliinsaturados que compõem os fosfolipídios das membranas celulares (Mitchothai et al., 2007; Devatkal e Naveena, 2010). Assim, o controle dos processos oxidativos torna-se importante na carne de suínos por sua composição ser rica em ácidos graxos poliinsaturados.

De acordo com Chan e Decker (1994), a carne é bastante susceptível às reações de oxidação lipídica, especialmente quando exposta a condições como trituração, onde oxigênio é incorporado ao músculo; e cozimento, onde o ferro é liberado das heme-proteínas. A combinação de catalisadores da oxidação lipídica, sistemas de membranas altamente insaturadas e períodos de alta oxigenação propiciam as reações oxidativas no músculo esquelético, que inicialmente ocorreram em nível de membrana.

No metabolismo animal, a metionina pode ser convertida no aminoácido cisteína que, por sua vez, é utilizada para a síntese de GSH, importante agente antioxidante das células. A cisteína formada é requerida ainda para síntese de selenocisteína, que faz parte do centro ativo da GPx, enzima do sistema antioxidante da GSH (Boler et al., 2009; Lu, 2013). Este sistema é responsável pela redução de hidroperóxidos orgânicos (ex.: lipoperóxido) e H_2O_2 em álcool e água, respectivamente, evitando a peroxidação dos lipídios de membrana, mantendo sua integridade (Barber; Harris, 1994; Wang et al., 2009). A ação antioxidante da GSH previne ainda a oxidação de proteínas como a

mioglobina e proteínas miofibrilares, preservando a cor e a capacidade de retenção de água da carne (Mancini e Hunt, 2005; Elisabeth e Steven, 2005; Wang et al., 2009). A metionina também é requerida para a biossíntese de fosfatidilcolina, fosfolípido mais abundante nas membranas celulares de mamíferos (Zeisel et al., 2006), sendo fundamental na manutenção da integridade da membrana e na taxa de fluidos das células. Esta característica é particularmente importante quando se deseja evitar a perda excessiva de água das carnes.

Contudo, apesar do fornecimento adequado de metionina ser necessário para a síntese de substâncias importantes para manter a estabilidade oxidativa da carne, seu excesso pode apresentar efeito adverso e afetar negativamente a qualidade da carne. Níveis elevados de metionina na dieta podem provocar aumento nas concentrações de homocisteína. Segundo Toborek et al (1996), em níveis elevados a homocisteína pode induzir a peroxidação de lipídios por aumentar a quantidade de radicais livres durante a auto-oxidação do seu grupo tiol. Altos níveis de homocisteína reduzem ainda a atividade da GPx, como apresentado nesta revisão. Nestas condições, pode ocorrer um aumento na peroxidação dos lipídios de membrana, na oxidação de proteínas miofibrilares e da mioglobina, afetando a capacidade de retenção de água e a cor da carne.

Giguère et al. (2005) avaliaram o efeito de dois níveis (0,500 e 0,698%) de metionina + cisteína sobre a qualidade de carne de suínos, dos 67 aos 112 kg. Embora os autores não tenham observado efeito dos tratamentos nos componentes L* (luminosidade) e b* (amarelo-azul) da cor, o componente a* (vermelho-verde) foi menor (carne menos vermelha) nos animais que receberam o maior nível de metionina nas rações. Desta forma, justifica-se a realização de pesquisas para avaliar o efeito de diferentes níveis de Met+Cis digestíveis sobre a qualidade da carne em suínos, assim como os cofatores envolvidos no metabolismo dos AAS, à exemplo da vitamina B₆.

REFERÊNCIAS

- Abreu, M.L.T., Fontes, D.O., Nogueira, E.T., 2014. Exigências de aminoácidos para suínos. In: Sakomura, N.K., Silva, J.H.V., Costa, F.G.P., Fernandes, J.B.K., Hauschild, L (Ed.), *Nutrição de não ruminantes*. Funep, Jaboticabal, SP, Brasil, pp. 262–284.
- Adzitey, F., Nurul, H., 2011. Pale soft exudative (PSE) and dark firm dry (DFD) meats: causes and measures to reduce these incidences – a mini review. *Int. Food Res. J.* 18, 11–20.
- Ambrosi, P., Rolland, P.H., Bodard, H., Barlatier, A., Charpiot, P., Guisgrand, G., Friggi, A., Ghiringhelli, O., Habib, G., Boovenor, G., Garçon, D., Luccioni, R., 1999. Effects of folate supplementation in hyperhomocysteinemic pigs. *J. Am. Coll. Cardiol.* 54, 274–279.
- Amorim, K.S., Lopes, A.S., Pereira, I.A., 2011. Impacto do exercício físico nos níveis de homocisteína, um fator de risco para aterosclerose: revisão sistemática. *Rev. Bras. Ativ. Fis. Saude* 16, 70–75.
- Amorim, F.G., Rezende, L.C.D., Coitinho, L.B., Freitas, J.V., Scher, J.A., Dettogni, R.S., 2011. Bioquímica clínica da aterosclerose provocada por hiperhomocisteinemia. *Revista Eletrônica de Farmácia* 8, 36–59.
- Andreotti, F., Burzotta, F., Mazza, A., Manzoli, A., Robinson, K., Mazeri, A., 1999. Homocysteine and arterial occlusive disease: a concise review. *Cardiological* 44, 341–346.
- Apple, J.K., Kegley, E.B., Maxwell Junior, C.V., Rakes, L.K., Alloway, D., Wistuba, T.J., 2005. Effects of dietary magnesium and short-duration transportation on stress response, postmortem muscle metabolism, and meat quality of finishing swine. *J. Anim. Sci.* 83, 1633–1645.
- Apple, J.K., Sawyer, J.T., Maxwell, C.V., Woodworth, J.C., Yancey, J.W.S., Musser, R.E., 2008. Effect of L-carnitine supplementation on the fatty acid composition of subcutaneous fat and LM from swine fed three levels of corn oil. *J. Anim. Sci.* 86(Abstr.), 38.
- Araújo, W.A.G., Sobreira G.F., 2008. Proteína ideal como estratégia nutricional na alimentação de suínos. *Revista Eletrônica Nutritime* 5, 537–545.
- Armstrong, T.A., Ivers, D.J., Wagner, J.R., Anderson, D.B., Weldon, W.C., Berg, E.P., 2004. The effect of dietary ractopamine concentration and duration of feeding on growth performance, carcass characteristics, and meat quality of finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 82, 3245–3253.
- Artis D., 2008. Epithelial-cell recognition of commensal bacteria and maintenance of immune homeostasis in the gut. *Nat. Ver. Immunol.* 8, 411–420.

- Banerjee, R., Evande, R., Kabil, O., Ojha, S., Taoka, S., 2003. Reaction mechanism and regulation of cystathionine β -synthase. *Biochim. Biophys. Acta* 1647, 30–35.
- Barber, A.D., Harris, S.R., 1994. Oxygen free radicals and oxidants: a review. *Am. Pharm.* 34, 26–35.
- Barbut, S., Sosnicki, A.A., Lonergan, S.M., Knapp, T., Ciobanu, D.C., Gatcliffe, L.J., Huff-Lonergan, E., Wilson, E.W., 2008. Progress in reducing the pale, soft and exudative (PSE) problem in pork and poultry meat. *Meat Sci.* 79, 46–63.
- Bauchart-Thevret, C., Stoll, B., Chacko, S., Burrin, D.G., 2009a. Sulfur amino acid deficiency up regulates intestinal methionine cycle activity and suppresses epithelial growth in neonatal pigs. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metabol.* 296, E1239–E1250.
- Bauchart-Thevret C., Stoll, B., Burrin, D.G., 2009b. Intestinal metabolism of sulfur amino acids. *Nutr. Res. Rev.* 22, 175–187.
- Bauchart-Thevret, C., Cottrell, J., Stoll, B., Burrin, D.G., 2011. First-pass splanchnic metabolism of dietary cysteine in weanling pigs. *J. Anim. Sci.* 89, 4093–4099.
- Beard Jr., R.S., Bearden, S.E., 2011. Vascular complications of cystathionine-synthase deficiency: future directions for homocysteine-to-hydrogen sulfide research. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 300, 13–26.
- Berg, E.P., Allee, G.L., 2001. Creatine monohydrate supplemented in swine finishing diets and fresh pork quality: I. A controlled laboratory experiment. *J. Anim. Sci.* 79, 3075–3080.
- Berg, E.P., Maddock, K.R., Linville, M.L., 2003. Creatine monohydrate supplemented in swine finishing diets and fresh pork quality: III. Evaluating the accumulative effect of creatine monohydrate and alpha-lipoic acid. *J. Anim. Sci.* 81, 2469–2474.
- Bertechini, A.G., 2012, *Nutrição de Monogástricos*. 2 Ed., UFLA, Lavras, MG, 373p.
- Boccard, R., Buchter, L., Casteels, E., Cosentino, E., Dransfield, E., Hood, D. E., Joseph, R. L., Macdougall, D. B., Rhodes, D. N., Schön, I., Tinbergen, B. J., Touraille, C., 1981. Procedures for measuring meat quality characteristics in beef production experiments. Report of a working group in the Commission of the European Communities' (CEC) beef production research programme. *Livest. Prod. Sci.* 8, 385–397.
- Boler, D.D., Gabriel, S.R., Yang, H., Balsbaugh, R., Mahan, D.C., Brewer, M.S., Mckeith, F.K., Killefer, J., 2009. Effect of different dietary levels of natural-source vitamin E in grow-finish pigs on pork quality and shelf life. *Meat Sci.* 83, 723–730.
- Bridi, A.M., Silva, C.A., 2009. *Avaliação da Carne Suína*. Midiograft, Londrina, PR, Brazil.
- Brosnan, J.T., Brosnan, M.E., 2006. The sulfur-containing amino acids: an overview. *J. Nutr.* 136, 1636S–1640S.
- Brosnan, J.T., Brosnan, M.E., Bertolo, R.F.P. And Brunton, J.A., 2007a. Methionine: a metabolically unique amino acid. *Livest. Sci.* 112, 2–7.
- Brosnan, M.E., Edison, E.E., Silva, R., Brosnan, J.T., 2007b. New insights into creatine function and synthesis. *Adv. Enzyme Regul.* 47, 252–260.
- Brosnan, J.T., da Silva R.P., Brosnan M.E., 2011. The metabolic burden of creatine synthesis. *Amino Acids*, 40: 1325–1331.
- Brumano, G., 2008. Fatores que influenciam as exigências de metionina+cistina para aves e suínos. *Revista Eletrônica Nutritime.* 5, 749-761.
- Capozzalo, M.M., Resink, J.W., Htoo, J.K., Kim, J.C., De Lange, C.F.M., Hansen, C.F., Bruce, M., John, P., 2014. Optimum sulfur amino acid to lysine ratio for weaner pigs infected with enterotoxigenic *E. coli*. *J. Anim. Sci.* 92, (Abstrac) page 40.
- Chan, K.M., Decker, E.A., 1994. Endogenous skeletal muscle antioxidants. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 34, 403–426.

- Chen, Y.J., Kim, I.H., Cho, J.H., Yoo, J.S., Wang, Q., Wang, Y., Huang, Y., 2008. Evaluation of dietary L-carnitine or garlic powder on growth performance, dry matter and nitrogen digestibilities, blood profiles and meat quality in finishing pigs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 141, 141–152.
- Chen, Y., Dong, H., Thompson, D.C., Shertzer, H.G., Nebert, D. W., Vasiliou, V., 2013. Glutathione defense mechanism in liver injury: insights from animal models. *Food Chem. Toxicol.* 60, 38–44.
- Chen, W., Guo, J. X., Chang, P., 2012. The effect of taurine on cholesterol metabolism. *Mol. Nutr. Food Res.* 56, 681–690.
- Cheng, W-L., Holmes-McNary, M.Q., Mar, M-H., Lien, E.L., Zeisel, S.H., 1996. Bioavailability of choline and choline esters from milk in rat pups. *J. Nutr. Biochem.* 7, 457–464.
- Cho, Y.O., Leklem, J.E., 1990. In vivo evidence for a vitamin B6 requirement in carnitine synthesis. *J. Nutr.* 120, 258–265.
- Chung, T.K., Baker, D.H., 1992. Ideal amino acid pattern for 10-kilogram pigs. *J. Anim. Sci.* 70, 3102–3111.
- Clapper, J.A., Clark, T.M., Rempel, L.A., 2000. Serum concentrations of IGF-I, estradiol-17 β , testosterone, and relative amounts of IGF binding proteins (IGFBP) in growing boars, barrows, and gilts. *J. Anim. Sci.* 78, 2581–2588.
- Cominetti, C., Bortoli, M.C., Abdalla, D.S., Cozzolino, S.M., 2011. Estresse oxidativo, selênio e nutriênética. *Nutrire* 36, 131–153.
- Combs Jr., G.F., 2008. *The Vitamins – Fundamental aspects in nutrition and health.* 3rd Edition, Elsevier Academic Press. 583 p.
- Conrad, M., Sato, H., 2012. The oxidative stress-inducible cystine/glutamate antiporter, system x (c) (-): cystine supplier and beyond. *Amino Acids* 42, 231–246.
- Coussirat, C., Batista, C., Schneider, R.H., Resende, T.L., Schwanke, C.H.A., 2012. Vitaminas B12, B6, B9 e homocisteína e sua relação com a massa óssea em idosos. *Rev. Bras. Geriatr. Gerontol.* 15, 577–585.
- Devatkal, S.K., Naveena, B.M., 2010. Effect of dalt, kinnow and pome granate fruit bayproduct powders on color and oxidative stability os raw goat meat during refrigerated storage. *Meat Sci.* 85, 306–311.
- Dunshie, F.R., 2010. Castration in the swine industry and the impact on growth performance – physical versus vaccination. In: LONDON SWINE CONFERENCE, 10., 2010, Ontario. Proceedings... Ontario: London Swine Conference, p.85–97.
- Elisabeth, H.L., Steven. M.L., 2005. Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat Sci.* 71, 194–204.
- Faure, M., Moennoz, D., Montigon, F., Fay, L.B., Breuille, D., Finot, P.A., Balleve, O., Boza, J., 2002. Development of a rapid and convenient method to purify mucins and determine their in vivo synthesis rate in rats. *Anal. Biochem.* 307, 244–251.
- Ferreira, R.A., 2005. *Maior produção com melhor ambiente para aves, suínos e bovinos.* Aprenda Fácil, Viçosa, MG, Brasil.
- Finkelstein, J.D., 2000. Pathways and regulation of homocysteine metabolism in mammals. *Semin. Thromb. Hemost.* 26, 219–225.
- Fraga, A.L., Moreira, I., Furlan, A.C., Bastos, A.O., Oliveira, R.P., Murakami, A.E., 2008. Lysine requirement of starting barrows from two genetic groups fed on low crude protein diets. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 51, 49–56.
- França, L.H.G., Pereira, A.H., Perini, S.C., Aveline, C.C., Argenta, R., Mollerke, R.O., Soares, M.E., Nóbrega, F., Ferreira, M.P., 2006. Aterogênese em artéria ilíaca comum de suínos submetidos à homocisteinemia induzida pela ingestão de metionina. *J. Vasc. Bras.* 5, 11–16.

- França, L.H.G., Pereira, A.H., Perini, S.C., 2008. Self-expandable nitinol stent placement in homocysteinemic porcine aorta. *Clinics*. 63, 229–36.
- Frantz, N. Z., Tokach, M.D., Goodband, R.D., Pas, Dritz, S.S., Derouchey, J.M., Nelssen, J.L., Jones, C.L., 2009. The optimal standardized heal digestible lysine and total sulfur amino acid requirement for finishing pigs fed ractopamine hydrochloride. *Professional Animal Scientist* 25, 161–168.
- Fukagawa, N.K., 2006. Sparing of methionine requirements: evaluation of human data takes sulfur amino acids beyond protein. *J. Nutr.* 136, 1676S–1681S.
- Gerristen, T., Waisman, A., 1964. Homocystinuria, an error in the metabolism of methionine. *Pediatrics* 33, 413–420.
- Giguère, A., Girard, C. Matte, J.J., 2005. Interaction between folic acid (vitamin B9), vitamin B12 and methionine in growing–finishing pigs: impact on growth performance and meat quality. *Journ. Rech. Porc.* 37, 275–282.
- Gonçalves, F.M., Corrêa, M.N., Ancuti, M.A., Gentilini, F.P., Zanusso, J.T., Rutz, F., 2009. Nutrigenômica: situação e perspectivas na alimentação animal. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias* 104, 5–11.
- Grandhi, R.R., Nyachoti, C.M., 2002. Effect of true ileal digestible dietary methionine to lysine ratios on growth performance and carcass merit of boars, gilts and barrows selected for low backfat. *Canadian J. Anim. Sci.* 82, 399–407.
- Grimble, R.F., Grimble, G.K., 1998. Immunonutrition: role of sulfur amino acids, related amino acids, and polyamines. *Nutrition* 14, 605–10.
- Guimarães, A.C., 2006. Hiper-Homocisteinemia como fator de risco para doença aterosclerótica coronariana em idosos. *Arq. Bras. Cardiol.* 85, 83–84.
- Guyton, A.C., Hall, J.E., 2012. *Tratado de Fisiologia Médica*. 12Ed, Elsevier, Rio de Janeiro.
- Hahn, J.D., Baker, D.H., 1995. Optimum ratio of threonine, tryptophan, and sulfur amino acids for finishing swine. *J. Anim. Sci.* 73, 482–489.
- Henderson, L. M., Hulse, J. D. and Henderson, L. L. (1980) Purification of the enzymes involved in the conversion of trimethyl-lysine to trimethylaminobutyrate. In *Carnitine Biosynthesis, Metabolism, and Functions* (Frenkel, R. A. and McGarry, J. D., eds.), pp. 35±43, Academic Press, Inc., New York
- Huber, P.C., Almeida, W.P., Fátima, A., 2008. Glutathione e enzimas relacionadas: papel biológico e importância em processos patológicos. *Quim. nova* 31, 1170–1179.
- Huang, T., Yuan, G., Zhang, Z., Zou, Z., Li, D., 2008. Cardiovascular pathogenesis in hyperhomocysteinemia. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 17, 8–16.
- Huang, A., Pinto, J.T., Froogh, G., Kandhi, S., Qin, J., Wolin, M.S., Hintze, T.H., Sun, D., 2015. Role of homocysteinylated ACE in endothelial dysfunction of arteries. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 308, 92–100.
- Janicki, B., M. Buzala., 2013. The role of creatine in the organism of pigs and its effect on the quality of pork: a review. *Ann. Anim. Sci.* 13, 207–215.
- Jhee, K.H., McPhie, P., Miles, E.W., 2000. Domain architecture of the heme-independent yeast cystathionine beta-synthase provides insights into mechanisms of catalysis and regulation. *Biochemistry* 39, 10548–10556.
- Jiang, H., Stabler, S.P., Allen, R.H., Abman, S.H., Maclean, K.N., 2014. Altered hepatic sulfur metabolism in cystathionine-synthase-deficient homocystinuria: regulatory role of taurine on competing cysteine oxidation pathways. *FASEB J.* 28, 4044–4054.
- Kabil, O., Banerjee, R., 2010. Redox biochemistry of hydrogen sulfide. *J. Biol. Chem.* 285, 21903–21907.

- Kakimoto, T., Otsuka, A., Kawaguchi, H., Ogata, K., Tanimoto, A., Kanouchi, H., 2014. Plasma Homocysteine Concentrations in Novel Microminipigs. *In Vivo* 28, 579–582.
- Kiefer, C., Ferreira, A.S., Oliveira, R.F.M., Donzele, J.L., Brustolini, P.C., Silva, F.C.O., 2005a. Exigência de metionina mais cistina digestíveis para suínos machos castrados mantidos em ambiente de alta temperatura dos 30 aos 60 kg. *Rev. Bras. Zootec.* 34, 104–111.
- Kiefer, C., Ferreira, A.S., Donzele, J.L., Oliveira, R.F.M., Silva, F.C.O., Brustolini, P.C., 2005b. Exigência de metionina + cistina digestíveis para suínos machos castrados mantidos em ambiente termoneutro dos 30 aos 60 kg. *Rev. Bras. Zootec.* 34, 847–854.
- Koohmaraie, M., Geesink, G.H., 2006. Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. *Meat Sci.* 74, 34–43.
- Knowles, T.A., Southern, L.L., Binder, T.D., 1998. Ratio of total sulfur amino acids to lysine for finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 76, 1081–1090.
- Leala, A.A.F., Palmeira, Á.C., Castro, G.M.A., Simões, M.O.S., Ramos, A.T., Medeiros, C.C.M., 2013. Homocysteine: cardiovascular risk factor in children and adolescents? *Ver. Assoc. Med. Bras.* 59, 622–628.
- Le Bellego, L., Noblet, J., 2002. Performance and utilization of dietary energy and amino acids in piglets fed low protein diets. *Livest. Prod. Sci.* 76, 45–58.
- Lenis, N.P., Van Diepen, H.T.M., Bikker, P., Jongbloed, A.G., Van Der Meulen, J., 1999. Effect of the ratio between essential and nonessential amino acids in the diet on the utilization of nitrogen and amino acids by growing pigs. *J. Anim. Sci.* 77, 1777–1787.
- Lentz, S.R., Sobey, C.G., Piegors, D.J., Bhopatkar, M.Y., Faraci, F.M., Malinow, M.R., Heistad, D.D., 1996. Vascular dysfunction in monkeys with diet-induced Hyperhomocyst(e)inemia. *J. Clin. Invest.* 98, 24–29.
- Lewis, A.J., 2003. Methionine–Cystine relationships in pig nutrition. In: D` Mello J.P.F. (ed). *Amino acids in farm animal nutrition*. CABI Publishing, Wallingford UK, p.143–155.
- Lewis S.J., Ebrahim S., Davey Smith G., 2005. Meta-analysis of MTHFR 677C->T polymorphism and coronary heart disease: does totality of evidence support causal role for homocysteine and preventive potential of folate? *BMJ.* 331, 1053–1059.
- Lima, C.P., Davis, S.R., Mackey, A.D., Scheer, J.B., Williamson, J.J., Gregory, F., 2006. Vitamin B-6 deficiency suppresses the hepatic transsulfuration pathway but increases glutathione concentration in rats fed AIN-76A or AIN-93G diets. *J. Nutr.* 136, 2141–2147.
- Lindemann, M.D., Cromwell, G.L., van de Lingt, J.L.G., Monegue, H.J., 1999. Higher levels of selected B-vitamins improve performance and lean deposition in growing/finishing swine. *J. Anim. Sci.* 77(Suppl. 1):58.
- Loughmiller, J.A., Nelssen, J.L., Goodband, R.D., Tokach, M.D., Titgemeyer, E.C., Kim, I.H., 1998. Influence of dietary total sulfur amino acid and methionine on growth performance and carcass characteristics in finishing gilts. *J. Anim. Sci.* 76, 2129–2137.
- Lu, S.C., 2009. Regulation of glutathione synthesis. *Mol. Aspects Med.* 30, 42–59.
- Lu, S.C., 2013. Glutathione synthesis. *Biochim. Biophys. Acta* 1830, 3143–3153.
- Machado, G., Fontes, D.O., 2006. *Relação entre as exigências nutricionais e o sistema imune em suínos*. 2. Ed. CBNA-AMENA, São Paulo: SP.

- Machado, O.D., Fontes, D.O., Ferreira, J.M., Corrêa, G.S.S., Nelson, D.L., Glória, M.B.A., 2008. Desempenho e qualidade da carne de suínos suplementados com magnésio e creatina no período pré-abate. *Braz. J. Food Technol.* 11, 211–220.
- Mancini, R.A., Hunt, M.C., 2005. Current research in meat color. *Meat Sci.* 71, 100–121.
- Maddock, R.J., Bidner, B.S., Carr, S.N., Mckeith, F.K., Berg, E.P., Savell, J.W., 2002. Creatine monohydrate supplementation and the quality of fresh pork in normal and halothane carrier pigs. *J. Anim. Sci.* 80, 997–1004.
- Malinow, M.R., 1995. Plasma Homocyst(e)ine and Arterial Occlusive Diseases: A Mini-Review. *Clin. Chem.* 40, 173–176.
- Martinez, M., Cuskelly, G.J., Williamson, J., Toth, J.P. Gregory III, J.F., 2000. Vitamin B6 deficiency in rats reduces hepatic serine hydroxymethyltransferase and cystathionine b-synthase activities and rates of in vivo protein turnover, homocysteine remethylation and transsulfuration. *Journal of Nutrition* 130, 1115–1123.
- Martinez-Vega, R., Garrido, F., Partearroyo, T., Cediél, R., Zeisel, S.H., Martínez-Alvarez, C., Varela-Moreiras, G., Varela-Nieto, I., Pajares, M.A., 2015. Folic acid deficiency induces premature hearing loss through mechanisms involving cochlear oxidative stress and impairment of homocysteinemetabolism. *FASEB J.* 29, 418–432.
- Matte, J.J., Lauridsen, C., 2013, Vitamins and Vitamin Utilization in Swine. In: Chiba, L.I. *Sustainable Swine Nutrition*. New Delhi: Wiley-Blackwell, p.139–172.
- Matthews, R.G., Sheppard, C.A., Goulding, C., 1998. Methylenetetrahydrofolate reductase and methionine synthase: Biochemistry and molecular biology. *Eur. J. Pediatr.* 157, S54–S59.
- Mavromichalis, I. D., Cera, K.R., 2001. Update on ideal amino acid profile for finishing pigs. *Feedstuffs.* 73, 11–13.
- Mayer, E.L., Jacobsen, D.W., Robinson, K., 1996. Homocysteine and coronary arteriosclerosis. *J. Am. Coll. Cardiol.* 27, 517–27.
- Mendes, E.L., Brito, C.J., 2007. Carnitina, colina e fosfatidilcolina como nutrientes reguladores do metabolismo de lipídios e determinantes do desempenho esportivo. *Revista Digital.* 12.
- Mcdowell, L.R., 2000. *Vitamins in animal and human nutrition*. 2nd Edition, ©Academic Press.
- Miller J.W., Nadeau M.R., Smith D., Selhub J., 1994. Vitamin B6 deficiency vs. folate deficiency: comparison of responses to methionine loading in rats. *Am. J. Clin. Nutr.* 59, 1033–1039.
- Mitchaonthai, J., Yuangklang, C., Wittayakun, S., Vasupen, K., Wongsutthavas, S., Srenanul, P., Hovenier, R., Everts, H., Beynen, A.C., 2007. Effect of dietary fat type on meat quality and fatty acid composition of various tissues in growing–finishing swine. *Meat Sci.* 76, 95–101.
- Mitchell, H.H., 1964. *Comparative nutrition of man and domestic animals*. Academic Press.
- Moreira, I., Pozza, P.C., 2014. Metabolismo proteico. In: Sakomura, N.K., Silva, J.H.V., Costa, F.G.P., Fernandes, J.B.K., Hauschild, L (ed). *Nutrição de não ruminantes*. Funep, Jaboticabal, SP, p.110–126.
- Moret, S., Prevarin A., Tubaro F., 2011. Levels of creatine, organic contaminants and heavy metals in creatine dietary supplements. *Food Chem.*, 126: 1232–1238.
- Moura, A.M.A., 2004. Conceito da proteína ideal aplicada na nutrição de aves e suínos. *Revista Eletrônica Nutritime* 1, 31–34.

- Moura, J.O., Brustolini, P.C., Silva, F.C.O., Donzele, J.L., Ferreira, A.S., Paula, E., 2006. Exigências de aminoácidos sulfurados digestíveis para suínos machos castrados e fêmeas de 15 a 30 kg. *Rev. Bras. Zootec.* 35, 1085–1090.
- NRC. 1988. Nutrients requirement of swine. 9th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- NRC. 1998. Nutrients requirement of swine. 10th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- NRC. 2012. Nutrients requirement of swine. 11th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- Nelson, D.L., Cox, M.M., 2014. *Princípios de Bioquímica de Lehninger*. 6th ed., Artmed, Porto Alegre.
- Nijhout, H.F., Reed, M.C., Anderson, D.F., Mattingly, J.C., James, J. And Ulrich, C.M., 2006. Long-range allosteric interactions between the folate and methionine cycles stabilize DNA methylation reaction rate. *Epigenetics* 1, 81–87.
- Nishinaga, M, Ozawa, T, Shimada, K., 1993. Homocysteine, a thrombogenic agent, suppresses anticoagulant heparan sulfate expression in cultured porcine aortic endothelial cells. *J. Clin. Invest.* 92, 1381–6.
- Nones, K., Lima, G.J.M.M., Bellaver, C., Rutz, F., 2002. Formulação das dietas, desempenho e qualidade da carcaça, produção e composição de dejetos de suínos. *Sci. Agric.* 59, 635–644.
- Norman, J.L., Berg, E.P., Heymann, H., Lorenzen, C.L., 2003. Pork loin color relative to sensory and instrumental tenderness and consumer acceptance. *Meat Sci.* 65, 927–933.
- Oliveira Neto, A.R. Níveis de aminoácidos sulfurosos para frangos de corte, criados em diferentes ambientes térmicos. 2003. 72f. Tese (doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2003.
- Oliveira Neto, A.R., Metabolismo e exigência de metionina. In: SAKOMURA, N.K., SILVA, J.H.V., COSTA, F.G.P., FERNANDES, J.B.K., HAUSCHILD, L. *Nutrição de não ruminantes*. Jaboticabal, SP: Funep, 2014, p.186–217.
- Olson, K.R., Donald, J.A., 2009. Nervous control of circulation—the role of gasotransmitters, NO, CO, and H₂S. *Acta Histochem.* 111, 244–256.
- Orsenigo, M.N., Faelli A., De Biasi S., Sironi C., Laforenza U., Paulmichl M., Tosco M., 2005. Jejunal creatine absorption: What is the role of the basolateral membrane? *J. Membrane Biol.*, 207: 183–195.
- Park, Y., Ziegler, T.R., Gletsu–Miller, N., Liang, Y.L., Yu, T., Accardi, C.J., Jones, D.P., 2010. Postprandial cysteine/cystine redox potential in human plasma varies with meal content of sulfur amino acids. *J. Nutr.* 140, 760–765.
- Pena, S.M., Lopes, D.C., Rostagno, H.S., Silva, F.C.O., Donzele, J.L., 2008. Relações metionina mais cistina digestível: lisina digestível em dietas suplementadas com ractopamina para suínos em terminação. *Rev. Bras. Zootec.* 37, 1978–1983.
- Prudova A., Bauman Z., Braun A., Vitvitsky V., Lu S.C., Banerjee R., 2006. S-adenosylmethionine stabilizes cystathionine β -synthase and modulates redox capacity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 103, 6489–6494.
- Quere, I., Paul, V., Rouillac, C., Janbon, C., London, J., Demaille, J., Kamoun, P., Dufier, J.L., Abitbol, M., Chassé J.F., 1999. Spatial and temporal expression of the cystathionine β -synthase gene during early human development. *Biochem. Biophys. Res.* 254, 27–37.
- Rakhshandeh, A., Htoo, J.K., Karrow, N., Miller, S.P., Lange, C.F.M., 2014. Impact of immune system stimulation on the ileal nutrient digestibility and utilisation of

- methionine plus cysteine intake for whole-body protein deposition in growing pigs. *Br. J. Nutr.* 111, 101–110.
- Ramsay, R.R., Gandour, R.D., Van Der Leij, F.R., 2001. Molecular enzymology of carnitine transfer and transport. *Biochim. Biophys. Acta* 1546, 21–43.
- Reed, M.C., Nijhout, H.F., Sparks, R., Ulrich, C.M., 2004. A mathematical model of the methionine cycle. *J. Theor. Biol.* 226, 33–43.
- Reed, M.C., Nijhout, H.F., Neuhouser, M.L., Gregory, J.F., Shane, B., James, J., Boynton, A., Ulrich, C.M., 2006. A mathematical model gives insights into nutritional and genetic aspects of folate-mediated one-carbon metabolism. *J. Nutr.* 136, 2653–2661.
- Reifsnyder, D.H., Young, C.T., Jones, E.E., 1984. The use of low protein liquid diets to determine the methionine requirement and the efficacy of methionine hydroxy analogue for the three-old pig. *J. Nutr.* 114, 1705–1715.
- Ren, W., Li, Y., Yin, Y., Blachier, F., 2013. Structure, Metabolism and Functions of Amino Acids: An Overview. In: Blachier, F., Wu, G., Yin, Y. (ed) *Nutritional and Physiological Functions of Amino Acids in Pigs*. Springer, New York, p.91–108.
- Ripps, H., Shen, W., 2012. Review: taurine: a “very essential” amino acid. *Mol. Vis.* 18, 2673–2686.
- Rolland, P.H., Friggi, A., Barlatier, A., Piquet, P., Latrille, V., Faye, M. M., Charpiot, P., Bodard, H., Ghiringhelli, O., Calaf, R., Luccioni, R., Garcon, D. 1995. Hyperhomocysteinemia-Induced Vascular Damage in the Minipig. *Circulation* 91, 1161–74.
- Rosenvold, K., Andersen, H.J., 2003a. The significance of pre-slaughter stress and diet on colour and colour stability of pork. *Meat Sci.* 63, 199–209.
- Rosenvold, K., Andersen, H.J., 2003b. Factors of significance for pork quality – review. *Meat Sci.* 64, 219–237.
- Rostagno, H.S., Albino, L.F.T., Donzele, J.L., Gomes, P.C., Oliveira, R.F., Lopes, D.C., Ferreira, A.S., Barreto, S.L.T., Euclides, R.F., 2011. Tabelas brasileiras para aves e suínos, composição de alimentos e exigências nutricionais. 3th. ed. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil.
- Rowe, L.J., Maddock, K.R., Lonergan, S.M., Huff-Lonergan, E., 2004. Oxidative environments decrease tenderization of beef steaks through inactivation of μ -calpain. *J. Anim. Sci.* 82, 3254–3266.
- Santos, F.A., Donzele, J.L., Oliveira, R.F.M., Silva, F.C.O., Abreu, M.L.T., Saraiva, A., Brustolini, P.C., 2007. Exigência de metionina + cistina digestíveis em suínos machos castrados de alto potencial genético na fase dos 60 aos 95 kg. *Rev. Bras. Zootec.* 36, 2047–2053.
- Santos, F.A., Donzele, J.L., Silva, F.C.O., Oliveira, R.F.M., Abreu, M.L.T., Saraiva, A., Haese, D., Kill, J.L. 2011. Levels of digestible methionine+cystine in diets for high genetic potential barrows from 95 to 125 kg. *Rev. Bras. Zootec.* 40, 581–586.
- Sato, A., Nishioka, M., Awato, S., Nakayama, K., Okada, M., Horiuchi, S., Okabe, N., Sassa, T., Oka, T., Natori, Y., 1996. Vitamin B6 deficiency accelerates metabolic turnover of cystathionase in rat liver. *Arch. Biochem. Biophys.* 330, 409–413.
- Scheffler, T.L., Gerrard, D.E., 2007. Mechanisms controlling pork quality development: The biochemistry controlling postmortem energy metabolism. *Meat Sci.* 77, 7–16.
- Schuller-Levis, G.B., Park, E., 2004. Taurine and its chloramines: modulators of immunity. *Neurochem. Res.* 29, 117–126.
- Sharma, P., Senthilkumar, R.D., Brahmachari, V., Sundaramoorthy, W., Mahajan, A., Sharma, A., Sengupta, S., 2006. Mining literature for a comprehensive pathway

- analysis: A case study for retrieval of homocysteine related genes for genetic and epigenetic studies. *Lipids Health Dis.* 5, 1–19.
- Shibuya, N., Tanaka, M., Yoshida, M., Ogasawara, Y., Togawa, T., Ishii, K., Kimura, H., 2009. 3-Mercaptopyruvate sulfurtransferase produces hydrogen sulfide and bound sulfane sulfur in the brain. *Antioxid. Redox Signal.* 11, 703–714.
- Shoveller, A.K., House, J.D., Brunton, J.A., Pencharz, P.B., Bal, R.O. 2004. The Balance of Dietary Sulfur Amino Acids and the Route of Feeding Affect Plasma Homocysteine Concentrations in Neonatal Piglets. *J. Nutr.* 134, 609–612.
- Shoveller, A.K., Stoll, B., Ball, R.O., Burrin, D.G., 2005. Nutritional and Functional Importance of Intestinal Sulfur Amino Acid Metabolism. *J. Nutr.* 135, 1609–1612.
- Skomial, J., Gagucki, M., Sawosz, E., 2004. Urea and homocysteine in the blood serum of pigs fed diets supplemented with betaine and an enhanced level of B group vitamins. *J. Anim. Feed Sci.* 13, 53–56.
- Smolin, L.A., Crenshaw, T.D., Kurtycz, D. And Benevenga, N.J., 1983. Homocyst(e)ine accumulation in pigs fed diets deficient in vitamin B-6: relationship to atherosclerosis. *J. Nutr.* 113, 2122–2133.
- Soares, A.L., Ida, E.I., Miyamoto, S., Hernández-Blazquez, F.J., Olivo, R., Pinheiro, J., Shimokomaki, M., 2003. Phospholipase A2 activity in poultry PSE, pale, soft, exudative, meat. *J. Food Biochem.* 27, 309–320.
- Soares, A.L., Marchi, D.F., Matsushita, M., Guarnieri, P.D., Droval, A.A., Ida, E.I., Shimokomaki, M., 2009. Lipid oxidation and fatty acid profile related to broiler breast meat color abnormalities. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 52, 1513–1518.
- Stahlke Jr., H.J., França, L.H.G., Stahlke, P.H., Stahlke, P.S., 2004. Hiperhomocisteinemia causando aterogênese na aorta de coelhos – modelo experimental. *J. Vasc. Bras.* 3, 20–30.
- Stahly, T.S., 1998. Impacto f imune system activation on growth and optimal dietary regimens of pigs. *The Pig Jornal* 41, 65–74.
- Stahly, T.S., Williams, N.H., Lutz, T.R., Ewan, R.C., Swenson, S.G., 2007. Dietarv B vitamin needs of strains of pigs with high and moderate lean growth. *J. Anim. Sci.* 85, 188–195.
- Stangle, G.I., Roth-Maier D.A., Kirschgessner, M., 2000. Vitamin B-12 deficiency and hyperhomocysteinemia are partly alleviated by cobalt and nickel supplementation in pigs. *J. Nutr.* 130, 3038–3044.
- Stead, L.M., Brosnan, M.E., Brosnan, J.T., 2000. Characterization of homocysteine metabolism in the rat liver. *Biochem. J.* 15, 685–92.
- Stead, L.M. Brosnan, J.T., Brosnan, M.E., Vance, D.E. and Jacobs, R.L., 2006. Is it time to reevaluate methyl balance in humans? *American Journal of Clinical Nutrition* 83, 5–10.
- Stefanello, F.M., Chiarani, F., Kurek, A.G., Wannmacher, C.M.D., Wajner, M., Wyse, A.T.S., 2005. Methionine alters Na⁺, K⁺ – ATPase activity, lipid peroxidation and nonenzymatic antioxidant defenses in rat hippocampus. *Int. J. Dev. Neurosci.* 23, 651–656.
- Stipanuk, M.H., 1986. Metabolism of sulfur-containing amino acids. *Annu. Rev. Nutr.* 6, 179–209.
- Stipanuk, M.H., 2004. Sulfur amino acid metabolism: pathways for production and removal of homocysteine and cysteine. *Annu. Rev Nutr.* 24, 539–577.
- Stipanuk, M.H., Ueki, I., 2011. Dealing with methionine/homocysteine sulfur: cysteine metabolism to taurine and inorganic sulfur. *J. Inherit. Metab. Dis.* 34, 17–32.
- Strijbis, K., Van Roermund, C.W., Visser, W.F., Mol, E.C., Van Den Burg, J., Maccallum, D.M., Odds, F.C., Paramonova, E., Krom, B.P., Distel, B., 2008.

- Carnitine-dependent transport of acetyl coenzyme A in *Candida albicans* is essential for growth on nonfermentable carbon sources and contributes to biofilm formation. *Eukaryot. Cell.* 7, 610–618.
- Strijbis, K., Van Roermund, C.W., Hardy, G.P., Van Den Burg, J., Bloem, K., De Haan, J., Van Vlies, N., Wanders, R.J., Vaz, F.M., Distel, B., 2009. Identification and characterization of a complete carnitine biosynthesis pathway in *Candida albicans*. *FASEB J.* 23, 2349–2359.
- Strijbis, K., Vaz, F.M., Distel, B., 2010. Enzymology of the Carnitine Biosynthesis Pathway. *IUBMB Life.* 62, 357–362.
- Stephens, F.B., Constanin-Teodosiu, D., Greenhaff, P.L., 2007. New insights concerning the role of carnitine in the regulation of fuel metabolism in skeletal muscle. *J. Physiol.* 581, 431–444.
- Tanaka, T., Scheet, P., Giusti, B., Bandinelli, S., Piras, M.G., Usala, G., Lai, S., Mulas, A., Corsi, A.M., Vestri, A., Sofi, F., Gori, A.M., Abbate, R., Guralnik, J., Singleton, A., Abecasis, G.R., Schlessinger, D., Uda, M., Ferrucci, L., 2009. Genome-wide Association Study of Vitamin B6, Vitamin B12, Folate, and Homocysteine Blood Concentrations. *Am. J. Hum. Genet.* 84, 477–482.
- Taoka, S., Widjaja, L., Banerjee, R., 1999. Assignment of enzymatic functions to specific regions of the PLP-dependent heme protein cystathionine-synthase. *Biochemistry* 38, 13155–13161.
- Thaler, R., Zwerina, J., Rumpler, M., Spitzer, S., Gamsjaeger, S., Paschalis, E. P., Klaushofer, K., Varga, F., 2013. Homocysteine induces serum amyloid A3 in osteoblasts via unlocking RGD motifs in collagen. *FASEB J.* 27, 446–463.
- Toborek, M., Kopiczna-Grzebieniak, E., Drozd, M., Wieczorek, M., 1996. Increased lipid peroxidation and antioxidant activity in methionine-induced hepatitis in rabbits. *Nutrition* 12, 534–537.
- Van Milgen, J., Dourmad, J., 2015. Concept and application of ideal protein for pigs. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 6, 2–11.
- Vannucchi, H., Melo, S.S., 2009. Hiper-homocisteinemia e risco cardiometabólico. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.* 53, 540–549.
- Vaz, R.G.M.V., Oliveira, R.F., Donzele, M.J.L., Ferreira, A.S., Silva, F.C.O., Kiefer, C., Siqueira, J.C., Rezende, W.O., 2005. Exigência de Aminoácidos Sulfurados Digestíveis para Suínos Machos Castrados, Mantidos em Ambiente de Alta Temperatura dos 15 aos 30 kg. *Rev. Bras. Zootec.* 3, 1633–1639.
- Vaz, F.M., Wanders, R.J.A., 2002. Carnitine biosynthesis in mammals: review article. *Biochem. J.* 361, 417–429.
- Venâncio, L.S., Burini, R.C., Yoshida, W.B., 2009. Concentração de homocisteína em pacientes portadores de doença arterial periférica atendidos em um serviço público de saúde. *J. Vasc. Bras.* 8, 318–326.
- Venâncio, L.S., Burini, R.C., Yoshida, W.B., 2010. Tratamento dietético da hiper-homocisteinemia na doença arterial periférica. *J. Vasc. Bras.* 9, 28–41.
- Verhoeven, N.M., Salomons, G.S., Jakobs, C., 2005. Laboratory diagnosis of defects of creatine biosynthesis and transport. *Clin. Chim. Acta*, 361: 1–9.
- Vitvitsky, V., Mosharov, E., Tritt, M., Ataulakhaanov, F., Banerjee, R., 2003. Redox regulation of homocysteine-dependent glutathione synthesis. *Redox Rep.* 8, 57–63.
- Wang, T.C., Fuller, M.F., 1989. The optimal dietary amino acid pattern for growing pigs. 1. Experiments by amino acid deletion. *Brazilian J. Nutr.* 52, 77–89.
- Wang, Z.G., Pan, X.J., Peng, Z.Q., Zhao, R.Q., Zhou, G.H., 2009. Methionine and selenium yeast supplementation of the maternal diets affects color, water-holding

- capacity, and oxidative stability of their male offspring meat at the early stage. *Poult. Sci.* 88, 1096–1101.
- Weiss, N.; Keller, C.; Hoffmann, U.; Loscalzo, J., 2002. Endothelial dysfunction and atherothrombosis in mild hyperhomocysteinemia. *Vascular Medicine*, 7, 227–239.
- Williams, K.T., Schalinske, K.L., 2007. New insights into regulation of methyl group and homocysteine metabolism. *J. Nutr.* 137, 311–314.
- Williams, N.H., Stahly, T.S., Zimmerman, D.R., 1997. Effect of level of chronic immune system activation on the growth and dietary lysine needs of pigs fed from 6 to 112 kg. *J. Anim. Sci.* 75, 2481–2496.
- Wilhelm, A. E., Maganhini, M.B., Hernández–Blazquez, F.J., Ida, E.I., Shimokomaki, M., 2010. Protease activity and the ultrastructure of broiler chicken PSE (Pale, Soft, Exudative) meat. *Food Chem.* 119, 1201–1204.
- Woo, K.S., Chook, P., Lolin, Y.I., Cheung, A.S., Chan, L.T., Sun, Y.Y., Sanderson, J.E., Metreweli, C., Celermajer, D.S., 1997. Hyperhomocyst(e)inemia is a risk factor for arterial endothelial dysfunction in humans. *Circulation* 96, 2542–4.
- Wu, G., Fang, Y.Z., Yang, S., Lupton, J.R., Turner, N.D., 2004. Glutathione metabolism and its implications for health. *J. Nutr.* 134, 489–492.
- Wuillemin, W.A., Solenthaler, M., 1999. Hyperhomocysteinemia: a risk factor for arterial and venous thrombosis. *Vasa* 28, 151–5.
- Xie, M., Tang, J., Wen, Z., Huang, W., Hou, S., 2014. Effects of Pyridoxine on Growth Performance and Plasma Aminotransferases and Homocysteine of White Pekin Ducks. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 27, 1744–1748.
- Yang, C.J., Lee, D.W., Chung, I.B., Cho, Y.M., Shin, I.S., Chae, B.J., Kim, J.H., Han, K., 1997. Developing model equation to subdivide methionine+cystine requirements into requirement for growth and maintenance in pigs. *Asian–Aust. J. Anim. Sci.* 10, 86–97.
- Yin, J., Ren, W., Yang, G., Duan, J., Huang, X., Fang, R., Li, C., Li, T., Yin, Y., Hou, Y., Kim, S.W., Wu, G., 2015. L–Cysteine metabolism and its nutritional implications. *Mol. Nutr. Food Res.* 1–13.
- Young, J.F., Bertram, H.C., Rosenvold, K., Lindahl, G., Oksbjerg, N., 2005. Dietary creatine monohydrate affects quality attributes of Duroc but not Landrace pork. *Meat Sci.* 70, 717–725.
- Zhao, W., Wang, R., 2002. H₂S–induced vasorelaxation and underlying cellular and molecular mechanisms. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 283, H474–80.
- Zaviezo, D., 1998. Proteína ideal – novo conceito nutricional na formulação de rações para aves e suínos. *Avic. Ind.* 10, 16–20.
- Zeisel, S.H., 2006. Choline: Critical role during fetal development and dietary requirements in adults. *Ann. Rev. Nutr.* 26, 229–250.
- Zhang, Z., Kebreab, E., Jing, M., Rodriguez–Lecompte, J.C., Kuehn, R., Flintoft, M., House, J.D., 2009. Impairments in pyridoxine–dependent sulphur amino acid metabolism are highly sensitive to the degree of vitamin B6 deficiency and repletion in the pig. *Animal* 3, 826–837.

II. OBJETIVOS

Objetivos Gerais:

Determinar as exigências de metionina + cistina (Met+Cis) digestíveis e avaliar a suplementação de vitamina B₆ para suínos machos castrados e fêmeas, dos 75 aos 100 kg, com base no desempenho, variáveis sanguíneas, características de carcaça, qualidade de carne e a expressão gênica de enzimas do metabolismo da metionina.

Objetivos Específicos:

- Avaliar o consumo diário de ração e de Met+Cis digestível, ganho de peso diário e a conversão alimentar de suínos machos castrados e fêmeas, dos 75 aos 100 kg, submetidos à dietas com diferentes níveis de Met+Cis digestíveis e suplementação de vitamina B₆;

- Avaliar níveis sanguíneos de glicose, uréia, proteínas totais, creatinina, triglicerídeos e homocisteína de suínos machos castrados e fêmeas, dos 75 aos 100 kg;

- Avaliar o efeito de níveis de Met+Cis digestíveis e suplementação de vitamina B₆ sobre o peso de carcaça quente e resfriada, rendimento de carcaça, perda de peso de carcaça no resfriamento, rendimento de pernil, profundidade do músculo *Longissimus dorsi*, espessura de toucinho, rendimento de carne magra e peso relativo de órgãos (fígado e rins) de suínos machos castrados e fêmeas, dos 75 aos 100 kg;

- Avaliar variáveis de qualidade de carne (pH, cor, perda de água por gotejamento, no descongelamento e na cocção e força de cisalhamento) de suínos machos castrados e fêmeas, dos 75 aos 100 kg, submetidos à dietas com diferentes níveis de Met+Cis digestíveis e suplementação de vitamina B₆;

- Avaliar a expressão de genes envolvidos no metabolismo da metionina (metionina sintase e cistationina- γ -lyase) de suínos machos castrados e fêmeas, dos 75 aos 100 kg.

III. NÍVEIS DE METIONINA + CISTINA DIGESTÍVEIS E SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA B₆ PARA SUÍNOS MACHOS CASTRADOS DOS 75 AOS 100 KG¹

Resumo

O objetivo deste trabalho foi o de avaliar os efeitos de níveis de metionina + cistina (Met+Cis) digestíveis e da suplementação de vitamina B₆ sobre o desempenho, variáveis sanguíneas, características de carcaça, qualidade de carne e a expressão gênica de enzimas envolvidas no metabolismo da metionina de suínos machos castrados, dos 75 aos 100 kg. Foram utilizados 56 suínos, com peso médio inicial de 75,11 ± 1,84 kg; distribuídos em um delineamento experimental de blocos casualizados, num esquema fatorial 2×4, constituído de dois níveis suplementares de vitamina B₆ (1,58 e 3,58 mg/kg) e quatro níveis de Met+Cis digestíveis (0,350; 0,450; 0,550 e 0,650%), com sete repetições e um animal por unidade experimental. Não foram observadas interações (P > 0,05) entre suplementação de vitamina B₆ e os níveis de Met+Cis digestíveis estudados. Foi observado redução (P < 0,01) na espessura de toucinho e aumento (P = 0,01) no rendimento de carne magra a medida que os níveis de Met+Cis digestíveis aumentaram nas rações. A suplementação de 3,58 mg de vitamina B₆/kg de ração proporcionou maior profundidade do músculo *Longissimus dorsi* (P = 0,05) e melhor conversão alimentar (P = 0,05). As concentrações séricas de homocisteína aumentaram linearmente (P = 0,01) com os níveis crescentes de Met+Cis digestíveis. Para as variáveis qualitativas do músculo *Longissimus dorsi*, houve aumento (P = 0,05) na perda de líquido por descongelamento e uma resposta quadrática para a perda de líquido por cocção (P = 0,05) e força de cisalhamento (P = 0,03), em que os maiores valores foram observados para os níveis de 0,520 e 0,490%, respectivamente, de Met+Cis digestível. Conclui-se que a exigência de Met+Cis digestível para suínos machos castrados, dos 75 aos 100 kg, é de no máximo 10,46 g/dia, que corresponde ao nível de 0,350% na ração e a uma relação de 0,51% com a lisina digestível, com base nas variáveis de desempenho e qualidade de carne, e altos níveis destes aminoácidos reduzem a espessura de toucinho e elevam a concentração sanguínea de homocisteína. A suplementação de 3,58 mg de vitamina B₆/kg de ração melhorou a profundidade de músculo e a conversão alimentar mas não foi suficiente para metabolizar a homocisteína pela via da transulfuração.

Palavras-chave: aminoácidos sulfurados, características de carcaça, desempenho, expressão gênica, homocisteína, qualidade de carne

¹Artigo formatado de acordo com as normas da revista *Animal Feed Science and Technology* (ISSN: 0377-8401).

1. Introdução

A metionina, juntamente com a cistina, destaca-se como um dos principais aminoácidos a ser considerado na formulação das rações para suínos. Dentre suas funções a principal é ser substrato para síntese de proteínas, sendo precursora de outros aminoácidos, notadamente da cisteína que, assim como a metionina, também é utilizada para a síntese de proteína corporal (Brosnan e Brosnan, 2006). A S-adenosilmetionina (SAM) é doadora de grupos metil (CH₃) para uma infinidade de substâncias corporais (como creatina), estando ainda envolvida na síntese de poliaminas (Nelson e Cox, 2014). A cisteína, por sua vez, está envolvida na síntese de proteínas do pêlo e de outros componentes corporais importantes, como a glutatona (Stipanuk e Ueki, 2011).

Nas últimas décadas, as pesquisas envolvendo aminoácidos sulfurados (AAS) foram direcionadas ao estudo da homocisteína, que é um metabólito do ciclo da metionina. Em níveis normais, a homocisteína desempenha funções essenciais no organismo dos animais, contudo, seu excesso pode desencadear um quadro de hiper-homocisteinemia com o desenvolvimento de doenças cardiovasculares em humanos e animais (Stahlk et al., 2004; França et al., 2006; Huang et al., 2008; Thaler et al., 2013).

De modo geral, o metabolismo mantém as concentrações de homocisteína em níveis baixos, mas sua elevação no sangue possui causas multifatoriais, como fatores genéticos e nutricionais (Amorim et al., 2011). Dentre as bases nutricionais encontram-se a deficiência de vitaminas que estão envolvidas no metabolismo da homocisteína, como as vitaminas B₆ (piridoxina), B₁₂ e folato, ou um excesso de metionina na dieta (Shoveller et al., 2004; França et al., 2006; Zhang et al., 2009; Xie et al., 2014; Martinez-Vega et al., 2015).

A vitamina B₆, na forma ativa piridoxal-fosfato (PLP), serve de cofator enzimático para três enzimas do metabolismo da metionina: serina-hidroximetil-transferase (SHMT), cistationina β-sintase (CBS) e cistationina-γ-lyase (CGL), sendo as duas últimas relacionadas com a via da transulfuração, considerada a principal via de eliminação do excesso de homocisteína (Brosnan e Brosnan, 2006). No entanto, são escassos os estudos envolvendo metionina e vitamina B₆, o que justifica a realização de pesquisas com esse propósito para suínos.

Além de melhorar o desempenho dos animais, a utilização de aminoácidos industriais pode resultar em melhorias nas características de carcaça e na qualidade da carne suína. A metionina é precursora de substâncias como a carnitina, a creatina, a fosfatidilcolina e a glutatona (GSH), as quais são importantes para melhorar características de carcaça, como

menor espessura de toucinho (ET) e maior rendimento de carne magra (RCM) e atributos de qualidade da carne, como cor, capacidade de retenção de água e maciez.

Neste contexto, este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar os efeitos de níveis de metionina + cistina (Met+Cis) digestíveis e da suplementação de vitamina B₆ sobre o desempenho, variáveis sanguíneas, características de carcaça, qualidade de carne e a expressão gênica de enzimas envolvidas no metabolismo da metionina de suínos machos castrados dos 75 aos 100 kg.

2. Materiais e métodos

O experimento foi realizado no Setor de Suinocultura da Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), pertencente ao Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá (CCA/UEM), localizada no Estado do Paraná (23°21'S, 52°04'W, a altitude de 564 m), no período de junho a agosto de 2014.

Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais em Experimentação (CEUA/UEM), tendo sido aprovados para execução (Parecer nº 162/2014).

2.1. Animais e delineamento experimental

Foram utilizados 56 suínos mestiços (Topigs 20 x Talent), machos castrados, com peso médio inicial de $75,11 \pm 1,84$ kg. Os animais foram alojados em galpão de alvenaria, coberto com telhas de fibrocimento, dividido em duas alas, sendo cada uma composta por 20 baias, separadas por um corredor central. As baias eram dotadas de bebedouros tipo nipple e comedouros semiautomáticos, proporcionando livre acesso à ração e à água, fornecidas à vontade durante todo o período experimental.

Os animais foram distribuídos em um delineamento experimental de blocos casualizados em um esquema fatorial 2×4, composto por dois níveis de suplementação de vitamina B₆ (1,58 e 3,58 mg/kg) e quatro níveis de Met+Cis digestíveis (0,350; 0,450; 0,550 e 0,650%), com sete repetições e um animal por unidade experimental. Na formação dos blocos, que foram repetições no tempo, utilizou-se como critério o peso inicial dos animais.

As rações experimentais foram formuladas à base de milho, farelo de soja, vitaminas, minerais e aditivos (Tabela 1) para atenderem às exigências propostas pelo NRC (2012), para suínos machos castrados na fase de terminação (75-100 kg), exceto para o nível de Met+Cis digestível, que variou de 0,350 a 0,650%.

As composições aminoacídicas do milho e do farelo de soja foram determinadas na Evonik Industries (São Paulo, SP, Brasil), pela técnica de espectrofotometria de refletância

no infravermelho proximal e aplicados os coeficientes de digestibilidade ileal propostos por Rostagno et al. (2011).

Tabela 1. Composição centesimal, química e energética das rações experimentais contendo diferentes níveis de metionina + cistina (Met+Cis) digestíveis

Ingredientes, %	Níveis de Met+Cis digestíveis, %			
	0,350	0,450	0,550	0,650
Milho	87,28	87,28	87,28	87,28
Farelo de soja	8,95	8,95	8,95	8,95
Óleo de soja	0,81	0,80	0,78	0,76
Calcário	0,80	0,80	0,80	0,80
Fosfato bicálcico	0,68	0,68	0,68	0,68
Sal comum	0,20	0,20	0,20	0,20
L-lisina HCl	0,36	0,36	0,36	0,36
DL-metionina	-	0,10	0,20	0,31
L-treonina	0,10	0,10	0,10	0,10
L-triptofano	0,03	0,03	0,03	0,03
L-valina	0,01	0,01	0,01	0,01
Ácido glutâmico	0,30	0,20	0,10	-
Inerte ¹	-	0,01	0,03	0,04
Antioxidante ²	0,01	0,01	0,01	0,01
Promotor de crescimento ³	0,02	0,02	0,02	0,02
Minerais ⁴	0,05	0,05	0,05	0,05
Vitaminas ⁵	0,40	0,40	0,40	0,40
Composição calculada, %				
Energia metabolizável, kcal/kg	3.300	3.300	3.300	3.300
Nitrogênio total	1,86	1,86	1,86	1,86
Cálcio	0,50	0,50	0,50	0,50
Fósforo disponível	0,23	0,23	0,23	0,23
Sódio	0,10	0,10	0,10	0,10
Potássio	0,42	0,42	0,42	0,42
Cloro	0,25	0,25	0,25	0,25
Lisina digestível	0,690	0,690	0,690	0,690
Metionina digestível	0,165	0,265	0,365	0,465
Met+Cis digestível	0,350	0,450	0,550	0,650
Treonina digestível	0,440	0,440	0,440	0,440
Triptofano digestível	0,120	0,120	0,120	0,120
Valina digestível	0,460	0,460	0,460	0,460
Isoleucina digestível	0,372	0,372	0,372	0,372
Leucina digestível	0,993	0,993	0,993	0,993
Histidina digestível	0,277	0,277	0,277	0,277
Fenilalanina digestível	0,480	0,480	0,480	0,480
Arginina digestível	0,600	0,600	0,600	0,600
Met+Cis:Lis digestível	0,51	0,65	0,80	0,94

¹Areia fina lavada. ²BHT. ³Fosfato de tilosina (25%). ⁴Conteúdo/kg de ração: ferro – 50,00 mg; cobre – 5,00 mg; cobalto – 0,50 mg; manganês – 20,00 mg; zinco – 50,00 mg; iodo – 0,75 mg; e selênio – 0,30 mg. ⁵Conteúdo/kg de ração: vit. A – 4400 U.I.; vit D₃ 960 U.I.; vit. E – 25,60 U.I.; vit B₁ – 0,640 mg; vit B₂ – 2,13 mg; vit. B₆ – 1,58 mg; vit B₁₂ – 0,016 mg; ácido nicotínico – 19,34 mg; ácido pantotênico – 12,16 mg; vit. K₃ – 1,92 mg; ácido fólico – 0,192 mg; biotina – 0,064 mg; e colina – 127,31 mg.

Para atender os níveis de 0,450; 0,550 e 0,650% de Met+Cis digestíveis, a DL-metionina foi adicionada na ração basal às custas do ácido glutâmico, para que estas apresentassem o

mesmo nível de nitrogênio. O nível de suplementação de 1,58 mg/kg de vitamina B₆ foi atendido com o uso do premix vitamínico, conforme a recomendação do fabricante, e para o nível de 3,58 mg/kg foi adicionado cloridrato de piridoxina (99% de vitamina B₆).

A temperatura e umidade do ar foram monitoradas com auxílio de um Data Logger (Hobbo U10[®]), instalado no centro do galpão experimental, em que os dados climáticos foram registrados a cada 30 minutos, durante todo o período experimental.

2.2. Desempenho e análises sanguínea

Os animais foram pesados no início e no final do experimento para determinar o ganho de peso diário (GPD). As rações foram pesadas sempre que fornecidas aos animais e as sobras descontadas para determinar o consumo diário de ração (CDR) e consumo diário de Met+Cis digestível. Os dados de GPD e CDR foram utilizados para calcular a conversão alimentar (CA).

Ao término do período experimental os animais ($100,28 \pm 4,04$ kg) foram submetidos a um jejum de 6 horas para realização da coleta de sangue. As amostras de sangue foram colhidas da veia jugular (Cai et al., 1994) e transferidas para tubos contendo EDTA (análises de uréia, proteínas totais, creatinina e triglicerídeos) e fluoreto (análise de glicose), sendo posteriormente centrifugadas (3.000 rpm) por 15 minutos, para separação do plasma (Moreno et al., 1997). Em seguida, 3 mL de plasma foram transferidos para micro tubos de polipropileno e armazenados para realização das análises.

As análises de glicose, uréia, proteínas totais, creatinina e triglicerídeos foram realizadas pelo método colorimétrico, por meio de kits comerciais, seguindo os procedimentos operacionais padrões (POP) descritos nos mesmos. Adicionalmente, foram coletadas amostras de sangue em tubos contendo gel sem propriedades físicas/químicas, para realização das análises de homocisteína. A concentração de homocisteína no soro foi determinada no Laboratório São Camilo (Maringá, Paraná, Brasil), por meio do método de quimioluminescência (Demuth et al., 2004).

2.3. Características de carcaça e qualidade de carne

Após 24 horas de jejum alimentar, os animais foram pesados para obtenção do peso vivo ao abate e encaminhados ao Abatedouro da Fazenda Experimental de Iguatemi-FEI/UEM. Os animais foram previamente submetidos à insensibilização elétrica (200 watts) e abatidos pelo corte da veia jugular, sendo posteriormente escaldados, depilados e eviscerados.

As carcaças evisceradas foram divididas ao meio, no sentido longitudinal, e posteriormente pesadas e resfriadas ($2 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24h). As carcaças foram avaliadas individualmente de acordo com as orientações de Bridi e Silva (2009), onde foram

determinados o peso da carcaça quente (PCQ), peso da carcaça resfriada (PCR), rendimento de carcaça quente (RCQ), perda de peso de carcaça no resfriamento (PPCNR), rendimento de pernil (RP), ET e profundidade do músculo *Longissimus dorsi* (PL). O fígado e rins (direito e esquerdo) foram pesados para obtenção do peso relativo, calculado com base no PCQ.

A ET e a PL foram mensuradas na meia carcaça esquerda, 24 horas *post-mortem*, com auxílio de paquímetro, na região de inserção da última vértebra torácica com a primeira lombar, a seis centímetros da linha média de corte da carcaça (ponto P2). A partir dos valores de ET, PL e PCR foi estimado o RCM, utilizado à equação proposta por Guidoni (2000), conforme segue: $RCM (\%) = 65,92 - ((0,685 \times ET) + (0,094 \times PL) - (0,026 \times PCR))$.

O pH da carne foi medido no músculo *Longissimus dorsi*, com auxílio de um medidor de pH portátil digital HI 99163 (Hanna Instruments), na altura da última costela, 45 minutos após o abate (pH inicial) e 24 horas após o início do resfriamento (pH final), seguindo as recomendações de Bridi e Silva (2009).

Para avaliações qualitativas foram utilizadas três amostras (2,5 cm de espessura) do músculo *Longissimus dorsi*, na região de inserção da última vértebra torácica com a primeira lombar, no sentido caudal-cranial, conforme descrito por Bridi e Silva (2009). A primeira amostra foi utilizada para avaliação da cor, a segunda para a perda de água por gotejamento (PAG) e a terceira para determinação da perda de líquido por descongelamento (PLD) e cocção (PLC) e da força de cisalhamento (FC).

A PAG foi avaliada conforme a técnica descrita por Bocard et al. (1981). A PLD foi obtida pela diferença de peso da amostra congelada e após armazenamento por 24 horas a 4°C. A PLC foi obtida pela diferença de peso da amostra descongelada e após o cozimento em forno pré-aquecido a 170°C, até alcançarem a temperatura interna de 71°C (Bridi e Silva, 2009).

As amostras cozidas do músculo foram utilizadas para determinar a FC. Foram retiradas seis subamostras de formato cilíndrico (1,27 cm de diâmetro), longitudinalmente no sentido das fibras musculares (Ramos e Gomide, 2012). A FC foi tomada perpendicularmente à orientação das fibras musculares com a lâmina Warner-Bratzler adaptada no texturômetro Stable Mycro Systems TA-XT2i.

A mensuração da cor do músculo foi realizada na superfície, em três pontos diferentes de leitura por amostra, com o auxílio de um colorímetro portátil Minolta® CR-400 (iluminante D65 e ângulo de visão de 0°). Os componentes L* (luminosidade), a* (componente vermelho-verde) e b* (componente amarelo-azul) foram expressos no sistema de cor CIELAB.

Em seguida, com valores obtidos de pH inicial, pH final, componente L* da cor e PAG, foi determinado a frequência de carnes PSE (do inglês *pale, soft and exudative*, ou seja, carne de cor clara, de textura mole e com baixa capacidade de retenção de água), segundo metodologia descrita por Warner et al. (1997), adaptada por Bridi e Silva (2009). As carnes foram classificadas como PSE quando apresentavam pH inicial menor que 5,8, pH final menor ou igual a 5,6, valor de L* maior que 50 e PAG maior que 5%.

A incidência de carne PSE foi quantificada em percentagem e os dados foram transformados para $y = \arcsin \sqrt{X/N}$, assumindo distribuição binomial, segundo metodologia descrita por Haddad e Vendramim (2000).

2.4. Expressão gênica

Imediatamente após o abate foram coletadas amostras de fígado (lobo medial esquerdo) e do músculo *Longissimus dorsi* (meia carcaça esquerda, na altura da última vértebra torácica) para análises de expressão gênica. Todos os materiais utilizados na coleta foram previamente tratados com inibidor de RNase (RNase Zap®, Life Technologies, Brasil). As amostras foram acondicionadas em microtubos contendo RNAlater® (Life Technologies, Brasil), refrigeradas por 24 horas em temperatura de 2-4°C e, em seguida, armazenadas em *freezer* a -18°C até o momento da extração de RNA.

O RNA total foi extraído com uso do reagente Trizol® (Invitrogen, Carlsbad CA, USA) de acordo com as normas do fabricante, e quantificado utilizando espectrofotômetro a 260 nm. A integridade do RNA foi avaliada em gel de agarose 1%, corado com brometo de etídio 10% e visualizado em luz ultravioleta. As amostras de RNA foram tratadas com DNase I (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) para remoção de possíveis resíduos de DNA genômico, de acordo com as recomendações do fabricante. A síntese de DNA complementar (cDNA) foi realizada com o kit SuperScript™ III First-Strand Syntesis Super Mix (Invitrogen Corporation, Brasil), conforme as especificações do fabricante, e armazenados a -20°C até o uso.

A expressão gênica das enzimas metionina sintase (MS) e CGL foram mensuradas por reação em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR) em tempo real, utilizado o corante fluorescente SYBR GREEN (Roche, Basel, Switzerland) e o equipamento LightCycler® 96 (Roche, Basel, Switzerland). Todas as análises foram realizadas em um volume de 20 µL e em duplicatas. A ciclagem foi realizada de acordo com as recomendações do fabricante para o Kit utilizado.

Os pares de *primers* (direto e reverso) utilizados nas reações de amplificação dos controles endógenos testados (β -actina, GAPDH e HPRT1) e dos genes alvos (MS e CGL) foram construídos com base nas sequências disponíveis no banco de dados *GenBank* do NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov) para suínos (*Sus scrofa*), com o uso do programa www.idtdna.com (Tabela 2). A β -actina foi utilizada como controle endógeno por ter apresentado melhor eficiência e maior especificidade na reação.

Tabela 2. Sequência dos *primers* da metionina sintase (MS), cistationina- γ -lyase (CGL) e β -actina, utilizados na reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real

Gene	Gene ID ¹	Sequências dos primers (5'-3')	Amplicom (bp)	T _a (°C)
MS	XM_001927058.2	D: CACGGATGGCTTGGTCAATATC R: AGGTGGAACCTCTGGGCTTATAG	106	60
CGL	NM_001044585	D: CTCTGCAATCGAGGTCTGAAG R: GAGGGCAACCCAGGATAAATAA	128	60
β -actina	XM_003124280.3	D: CTTCTAGGCGGACTGTTAGTTG R: AGCCATGCCAATCTCATCTC	86	60

T_a: Temperatura de anelamento

¹Número de acesso no *GenBank* do NCBI.

Os resultados de expressão gênica foram gerados e registrados como valores de *threshold cycle* (Ct), e ajustados pela equação proposta por Coble et al. (2011), como segue:

$$\text{Ct ajustado} = 40 - [(\text{Ct médio do gene alvo}) + (\text{Ct mediano do controle endógeno} - \text{Ct médio do controle endógeno}) \times (\text{coeficiente de regressão do gene alvo} / \text{coeficiente de regressão do controle endógeno})].$$

2.5. Análises estatísticas

O procedimento UNIVARIATE foi aplicado para avaliar a presença de *outliers*. Em seguida, os dados referentes ao desempenho, variáveis sanguíneas, expressão gênica, características de carcaça e qualidade de carne foram submetidos à ANOVA, sendo os efeitos de bloco, dos níveis de Met+Cis digestíveis, da suplementação de vitamina B₆ e da interação Met+Cis e vitamina B₆ incluídos no modelo matemático, como segue:

$$Y_{ijk} = \mu + M_i + V_j + MV_{ij} + B_k + E_{ijk}$$

Onde: Y_{ijk} = variável de resposta; μ = média geral comum a todas as observações; M_i = efeito do i-ésimo nível de Met+Cis digestível (i = 1 a 4); V_j = efeito do j-ésimo nível de suplementação de vitamina B₆ (j = 1 e 2); MV_{ij} = efeito da interação do i-ésimo nível de

Met+Cis digestível com o j-ésimo nível de suplementação de vitamina B₆; B_k = efeito do k-ésimo bloco (i = 1 a 7); E_{ijk} = erro aleatório inerente a todas as observações.

Para as variáveis de desempenho, o peso inicial dos suínos foi utilizado como covariável, enquanto para avaliação das características de carcaça, foi utilizado o peso de abate como covariável. Quando não houve efeito significativo da covariável a mesma foi retirada do modelo. Foi aplicado o Teste F sobre as médias obtidas para os níveis suplementares de vitamina B₆. Os graus de liberdade referentes aos níveis de Met+Cis digestíveis foram desdobrados em polinômios ortogonais, para obtenção das equações de regressão. Todos os testes de hipóteses foram realizados por intermédio do procedimento GLM (SAS Inst. Inc., Cary, NC, EUA), adotando o nível de significância de 5% ($P \leq 0,05$).

Para testar o efeito dos níveis de Met+Cis digestíveis sobre a incidência de carne PSE foi utilizado o teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

3. Resultados

Não foram observadas interações ($P > 0,05$) entre suplementação de vitamina B₆ e os níveis de Met+Cis digestíveis para todas as variáveis avaliadas (Tabelas 3 a 7). A suplementação de 3,58 mg de vitamina B₆/kg de ração proporcionou melhor CA ($P = 0,05$). O consumo de Met+Cis digestível aumentou linearmente ($P < 0,01$) à medida que os níveis destes aminoácidos aumentaram nas rações (Tabela 3).

Dentre as variáveis sanguíneas (Tabela 4), a glicose foi influenciada ($P = 0,05$) pela suplementação de vitamina B₆, em que a maior suplementação (3,58 mg/kg) proporcionou os maiores níveis plasmáticos. Os triglicerídeos apresentaram uma resposta quadrática ($P = 0,01$) aos níveis de Met+Cis digestíveis, onde a menor concentração plasmática (29,42 mg/dL) foi obtida para o nível de 0,496% destes aminoácidos.

Tabela 3. Desempenho de suínos machos castrados, dos 75 aos 100 kg, alimentados com rações contendo diferentes níveis de metionina + cistina digestíveis e suplementação de vitamina B₆

Itens	Níveis de metionina + cistina digestíveis (%)										Erro padrão	Valor de P			
	0,350 0,450 0,550 0,650				Média	0,350 0,450 0,550 0,650				Média		Met+Cis x B ₆	B ₆	Regressão	
	1,58 mg B ₆ / kg de ração					3,58 mg B ₆ / kg de ração								L	Q
CDR, kg	2,97	3,04	2,95	2,96	2,98	3,01	2,86	2,85	2,82	2,89	0,039	0,68	0,25	0,42	0,71
CD Met+Cis dig, g ¹	10,39	13,69	16,22	19,25	14,89	10,54	12,88	15,66	18,54	14,40	0,211	0,76	0,24	<0,01	0,89
GPD, kg	0,98	0,96	0,96	1,03	0,98	1,10	0,98	0,93	0,93	0,99	0,019	0,20	0,84	0,22	0,18
CA ²	3,09	3,20	3,08	2,91	3,07 ^a	2,74	2,91	3,08	3,08	2,95 ^b	0,033	0,08	0,05	0,49	0,09

CDR = Consumo diário de ração; CD Met+Cis dig = Consumo diário de metionina + cistina digestível; GPD = Ganho de peso diário e CA = Conversão alimentar. ¹Efeito linear ($Y = 0,6587 + 27,9946X$ ($R^2 = 0,99$)). ²Médias seguidas por letras diferentes, na linha, diferem entre si pelo teste F ($P \leq 0,05$).

Tabela 4. Níveis plasmáticos de glicose, uréia, creatinina, triglicerídeos e proteínas totais de suínos machos castrados, dos 75 aos 100 kg, alimentados com rações contendo diferentes níveis de metionina + cistina digestíveis e suplementação de vitamina B₆

Itens	Níveis de metionina + cistina digestíveis (%)										Erro padrão	Valor de P			
	0,350 0,450 0,550 0,650				Média	0,350 0,450 0,550 0,650				Média		Met+Cis x B ₆	B ₆	Regressão	
	1,58 mg B ₆ / kg de ração					3,58 mg B ₆ / kg de ração								L	Q
Glicose, mg/dL ¹	51,57	54,00	53,57	50,64	52,45 ^b	58,43	60,57	55,36	53,71	57,02 ^a	1,216	0,85	0,05	0,31	0,40
Uréia, mg/dL	23,10	24,57	27,06	23,48	24,55	24,47	22,26	24,29	20,67	22,92	0,578	0,50	0,10	0,57	0,10
Creatinina, mg/dL	1,56	1,41	1,69	1,77	1,61	1,60	1,46	1,45	1,64	1,54	0,044	0,61	0,41	0,19	0,10
Triglicerídeos, mg/dL ²	39,50	30,00	33,04	37,93	35,12	35,57	28,17	29,86	37,43	32,76	1,254	0,97	0,39	0,86	0,01
Proteínas totais, g/dL	6,61	6,44	6,55	6,75	6,59	6,58	6,41	6,49	6,04	6,38	0,054	0,09	0,11	0,35	0,63

¹Médias seguidas por letras diferentes, na linha, diferem entre si pelo teste F ($P \leq 0,05$). ²Efeito quadrático ($Y = 118,9741 - 360,8264X + 363,4725X^2$ ($R^2 = 0,95$)).

Em relação às características de carcaça (Tabela 5), observou-se que a maior suplementação de vitamina B₆ proporcionou uma maior PL (P = 0,05). Os níveis crescentes de Met+Cis proporcionaram uma redução na ET (P = 0,01) e um aumento no RCM (P = 0,01). As demais variáveis de carcaça (PCQ, PCR, RCQ, PPCNR e RP) não foram influenciadas pelos tratamentos. O peso relativo do fígado e dos rins apresentaram uma resposta quadrática (P ≤ 0,04) aos níveis de Met+Cis digestíveis, em que os menores pesos relativos destes órgãos (1,703 e 0,444%, respectivamente) foram obtidos para o nível estimado de 0,515% de Met+Cis digestível.

Não houve efeito da suplementação de vitamina B₆ e dos níveis de Met+Cis digestíveis sobre a expressão gênica, hepática e muscular, das enzimas MS e CGL (Tabela 6). Também não houve efeito (P = 0,15) da suplementação de vitamina B₆ sobre os níveis séricos de homocisteína. Entretanto, os níveis crescentes de Met+Cis proporcionaram um aumento (P = 0,01) nas concentrações de homocisteína.

As características qualitativas do *Longissimus dorsi* são apresentadas na Tabela 7. De modo geral, não houve efeito dos níveis de Met+Cis sobre o pH (inicial e final), PAG e nos componentes L*, a* e b* da cor. No entanto, foi observado um aumento linear (P = 0,05) na PLD e uma resposta quadrática para a PLC (P = 0,05) e FC (P = 0,03) em função dos níveis de Met+Cis digestíveis, em que os maiores valores de PLC (24,25%) e FC (2,42 Kgf) foram observados para os níveis de 0,520 e 0,490%, respectivamente. A PAG foi maior (P = 0,05) no músculo dos suínos que receberam a maior suplementação de vitamina B₆ (3,58 mg/kg).

Tabela 5. Características de carcaça e peso dos órgãos de suínos machos castrados, dos 75 aos 100 kg, alimentados com rações contendo diferentes níveis de metionina + cistina digestíveis e suplementação de vitamina B₆

Itens	Níveis de metionina + cistina digestíveis (%)										Valor de P				
	0,350					0,450					Erro padrão	Met+Cis		Regressão	
	1,58 mg B ₆ / kg de ração		Média			3,58 mg B ₆ / kg de ração		Média				x B ₆	B ₆	L	Q
PCQ, kg	79,93	80,68	80,04	80,16	80,20	79,58	79,93	80,00	79,97	79,87	0,126	0,38	0,54	0,89	0,80
PCR, kg	77,52	78,39	78,01	78,06	77,99	77,36	77,78	77,59	77,58	77,58	0,123	0,74	0,31	0,84	0,75
RCQ, %	83,04	83,29	82,87	82,96	83,04	82,10	83,15	82,93	83,27	82,86	0,132	0,35	0,54	0,20	0,46
PPCNR, %	3,00	2,84	2,53	2,60	2,74	2,77	2,69	3,00	3,00	2,87	0,085	0,33	0,45	0,78	0,69
RP, %	29,12	29,40	29,03	29,83	29,34	28,91	29,57	29,82	28,76	29,26	0,139	0,14	0,69	0,55	0,34
PL, mm ¹	57,80	56,11	58,03	58,31	57,56 ^b	57,03	60,23	60,27	60,11	59,41 ^a	0,495	0,53	0,05	0,20	0,43
ET, mm ²	15,87	14,94	12,49	12,71	14,00	16,46	15,09	14,36	14,10	15,00	0,395	0,87	0,21	0,01	0,47
RCM, % ³	51,83	52,45	53,94	53,76	53,00	51,30	51,95	52,62	52,63	52,12	0,256	0,92	0,10	0,01	0,49
Peso dos órgãos, %															
Fígado ⁴	1,78	1,70	1,70	1,85	1,76	1,88	1,75	1,72	1,81	1,79	0,020	0,67	0,49	0,91	0,04
Rins ⁵	0,47	0,45	0,46	0,47	0,46	0,51	0,44	0,44	0,46	0,46	0,006	0,31	0,91	0,22	0,04

PCQ= Peso de carcaça quente; PCR= Peso de carcaça resfriada; RCQ= Rendimento de carcaça quente; PPCNR= Perda de peso de carcaça no resfriamento; RP= Rendimento de pernil; PL= Profundidade do músculo *Longissimus dorsi*; ET= Espessura de toucinho; RCM= Rendimento de carne magra. ¹Médias seguidas por letras diferentes, na linha, diferem entre si, pelo teste F (P ≤ 0,05). ²Efeito linear (Y= 19,4339 - 9,8643X (R²= 0,91)). ³Efeito linear (Y= 49,5770 + 5,9633X (R²= 0,87)). ⁴Efeito quadrático (Y= 3,1228 - 5,6492X + 5,6212X² (R²= 0,99)). ⁵Efeito quadrático (Y= 0,8406 - 1,5043X + 1,4261X² (R²= 0,87)).

Tabela 6. Expressão gênica¹ da metionina sintase (MS) e cistationina-γ-lyase (CGL), no fígado (f) e no músculo (m), e níveis séricos de homocisteína de suínos machos castrados, dos 75 aos 100 kg, alimentados com rações contendo diferentes níveis de metionina + cistina digestíveis e suplementação de vitamina B₆

Itens	Níveis de metionina + cistina digestíveis (%)										Valor de P				
	0,350					0,450					Erro padrão	Met+Cis		Regressão	
	1,58 mg B ₆ / kg de ração		Média			3,58 mg B ₆ / kg de ração		Média				x B ₆	B ₆	L	Q
MSm	7,81	7,56	8,74	7,47	7,89	8,30	9,03	8,30	8,24	8,47	0,181	0,35	0,14	0,82	0,23
CGLm	7,70	7,80	8,76	7,36	7,90	8,29	9,09	8,11	7,84	8,33	0,183	0,35	0,26	0,48	0,09
MSf	9,73	9,88	9,78	10,19	9,90	10,35	10,71	9,31	9,79	10,04	0,174	0,45	0,69	0,57	0,79
CGLf	13,30	12,90	14,00	14,18	13,59	13,15	14,70	12,54	13,71	13,53	0,305	0,33	0,91	0,22	0,82
Homocisteína, μmol/L ²	23,77	23,20	31,93	30,27	27,29	29,53	24,01	31,29	35,33	30,04	0,912	0,54	0,15	0,01	0,32

¹Expressado como unidade arbitrária (UA).

²Efeito linear (Y= 15,4391 + 26,4567X (R²= 0,63)).

Tabela 7. Características qualitativas do *Longissimus dorsi* de suínos machos castrados, dos 75 aos 100 kg, alimentados com rações contendo diferentes níveis de metionina + cistina digestíveis e suplementação de vitamina B₆

Itens	Níveis de metionina + cistina digestíveis (%)								Valor de P							
	0,350				0,450				0,550				Met+Cis		Regressão	
	1,58 mg B ₆ / kg de ração				3,58 mg B ₆ / kg de ração				Erro padrão		x B ₆		B ₆			
pH inicial	6,24	6,18	6,21	6,48	6,28	6,32	6,27	6,09	6,08	6,19	0,036	0,07	0,22	0,71	0,54	
pH final	5,55	5,62	5,65	5,60	5,60	5,60	5,59	5,63	5,50	5,58	0,022	0,71	0,57	0,85	0,37	
PAG, % ¹	3,24	2,47	3,34	2,71	2,94 ^b	3,84	4,15	3,37	3,66	3,76 ^a	0,176	0,43	0,05	0,49	0,79	
PLD, % ²	6,36	7,37	6,37	7,56	6,92	6,90	7,28	6,98	9,35	7,63	0,267	0,69	0,19	0,05	0,10	
PLC, % ³	19,62	22,78	24,85	22,34	22,40	21,63	24,82	23,12	22,09	22,92	0,356	0,19	0,47	0,55	0,05	
Cor L*	54,17	54,27	55,33	54,21	54,50	55,80	54,98	54,57	56,78	55,53	0,293	0,34	0,07	0,51	0,65	
Cor a*	7,60	6,71	7,22	6,87	7,10	7,33	6,84	7,08	6,70	6,99	0,148	0,97	0,77	0,21	0,39	
Cor b*	5,26	4,41	5,20	4,61	4,87	5,25	4,79	4,80	5,51	5,09	0,112	0,22	0,33	0,88	0,40	
FC, Kgf ⁴	2,16	2,39	2,25	2,22	2,25	2,07	2,56	2,31	1,96	2,23	0,045	0,34	0,81	0,54	0,03	

PAG= Perda de água por gotejamento; PLD= perda de líquido por descongelamento; PLC= perda de líquido por cocção; FC= Força de cisalhamento. ¹Médias seguidas por letras diferentes, na linha, diferem entre si pelo teste F (P ≤ 0,05). ²Efeito linear (Y= 4,8355 + 4,8583X (R²= 0,54)); ³Efeito quadrático (Y= -9,2071 + 128,6918X - 123,7446X² (R²= 0,99)); ⁴Efeito quadrático (Y= -0,8798 + 13,4544X - 13,7366X² (R²= 0,92)).

4. Discussões

Considerando a temperatura ambiente ($20,95 \pm 3,37^{\circ}\text{C}$) e a umidade relativa do ar ($69,2 \pm 13,13\%$), registrada durante o período experimental, pode-se inferir que os animais não foram submetidos a condições ambientais extremas, pois Ferreira (2005) considera as temperaturas de 5 e 27°C como sendo a crítica mínima e máxima, respectivamente, e umidade relativa do ar ideal entre 50 e 70% para suínos na fase de terminação.

O efeito da suplementação de metionina sobre o CDR de suínos na fase de terminação é pouco consistente na literatura. Hahn e Baker (1995), Santos et al. (2007) e Santos et al. (2011) não observaram alterações no CDR ao avaliarem diferentes níveis de Met+Cis digestíveis na ração. No entanto, Loughmiller et al. (1998) e Knowles et al. (1998) observaram uma variação positiva no consumo voluntário dos animais com o aumento dos níveis dos AAS. Estas diferenças no consumo de ração podem estar relacionadas, entre outros fatores, aos diferentes níveis de Met+Cis avaliados, uma vez que o possível desequilíbrio de aminoácidos da ração, causado pela deficiência ou pelo excesso de Met+Cis digestível, influencia negativamente o consumo voluntário dos animais (Le Bellego e Noblet, 2002; Moura et al., 2006).

Apesar da grande variação nos níveis de Met+Cis digestíveis (0,350-0,650%) avaliados neste trabalho, o CDR dos animais não foi influenciado, e pode-se inferir que o maior nível estudado (0,650%) não representou um excesso, pois dentre os aminoácidos, o excesso de metionina é o que causa maior queda no consumo (Edmonds et al., 1987).

O consumo de Met+Cis digestível aumentou linearmente à medida que se elevou o nível desses aminoácidos na ração, pois está diretamente relacionado aos níveis crescentes de Met+Cis digestíveis, uma vez que o CDR não alterou.

A metionina é considerada um aminoácido essencial para suínos na fase de terminação, pois está envolvida em várias vias metabólicas. Dentre as funções conferidas à ela, a principal é ser substrato para a síntese de proteínas (primer no processo de tradução), sendo precursora de outros aminoácidos, notadamente da cisteína que, assim como a metionina, também é utilizada para a síntese de proteína corporal. Na forma de SAM, a metionina é o mais importante doador de grupos CH_3 no organismo, estando envolvida na biossíntese de muitos componentes importantes para o crescimento e desenvolvimento dos suínos, como a creatina, a carnitina e as poliaminas (Brosnan e Brosnan, 2006; Nelson e Cox, 2014). Desta forma, a deficiência de metionina pode limitar o máximo desempenho dos animais.

No entanto, os níveis de Met+Cis digestíveis avaliados não influenciaram o GPD e a CA dos animais, evidenciando que o nível de 0,350%, correspondente ao consumo de 10,46 g/dia

e uma relação de 0,51% com a lisina digestível, foi suficiente para atender às exigências para máximo desempenho dos animais.

Avaliando níveis de Met+Cis digestíveis de 0,440 a 0,536% para suínos machos castrados, dos 60 aos 95 kg, Santos et al. (2007) concluíram que a exigência dos animais foi de 0,507% (14,60 g/dia) para máximo GPD e melhor CA, correspondente a uma relação de 0,63% com a lisina. Entretanto, Santos et al. (2011) avaliaram níveis de Met+Cis digestíveis variando de 0,427 a 0,545% para suínos machos castrados dos 95 aos 125 kg e não verificaram melhora no GPD e CA dos animais. Segundo esses autores, o nível de 0,427% (14,20 g/dia) de Met+Cis foi suficiente para atender às exigências para máximo crescimento dos animais, e corresponde a uma relação de 0,57% com a lisina digestível.

As maiores relações de Met+Cis:Lis observados por Santos et al. (2007) e Santos et al. (2011), em relação ao presente estudo, podem ser justificadas, em parte, às diferentes faixas de peso dos animais e as diferentes condições ambientais dos experimentos. No estudo de Santos et al. (2007) a temperatura máxima média registrada ($30,05 \pm 2,5^{\circ}\text{C}$) ficou acima da temperatura crítica superior (27°C) preconizada por Ferreira (2005) para suínos na fase de terminação. Segundo o mesmo autor, quando a temperatura do meio ambiente se encontra acima do limite superior da Zona de Conforto, o sistema termorregulador é ativado para manter o equilíbrio térmico entre o animal e o meio, alterando o metabolismo. A mudança no metabolismo ocasiona um desvio de nutrientes disponíveis para produção, reduzindo a deposição de proteína corporal, modificando a exigência nutricional dos animais (Brumano, 2008). Nestas condições, espera-se uma redução mais acentuada nas exigências de aminoácidos com maior envolvimento na deposição proteica, como é o caso da lisina (Yang et al., 1997; Machado e Fontes, 2006), aumentando a relação Met+Cis:Lis. Já no estudo de Santos et al. (2011), foram utilizados animais dos 95 aos 125 kg, enquanto no presente estudo a faixa de peso estudada foi de 75 aos 100 kg. De acordo com Chung e Baker (1992), a exigência de manutenção dos animais aumenta com a idade ou peso corporal, uma vez que o aumento da exigência de alguns aminoácidos relacionados à manutenção dos animais, como a metionina, é ocasionado pela associação desses aminoácidos com as perdas endógenas e a renovação celular da mucosa intestinal. Loughmiller et al. (1998) relataram que o aumento da relações Met+Cis:Lis é mais expressivo a partir dos 50 kg, quando as exigências para manutenção aumentam, mas a taxa proporcional de deposição de proteína diminui.

Uma vez que não foram observados prejuízos no desempenho, para os níveis acima de 0,350% de Met+Cis, pode-se inferir que acima deste nível a metionina consumida pode ter

sido utilizada para outras funções fisiológicas, em detrimento da deposição de proteína, conforme sugerido por Chung e Baker (1992) e Vaz et al. (2005).

Esta hipótese é reforçada pelos níveis plasmáticos de glicose e uréia observados no presente estudo, que não se elevaram com o aumento do nível de Met+Cis digestível nas rações. Segundo Stipanuk (2004) e Nelson e Cox (2014), quando os aminoácidos são fornecidos em excesso eles precisam ser catabolizados no organismo. Após a deaminação da metionina é produzido o α -cetoácido succinil-CoA, o qual será convertido a piruvato. Em seguida, o piruvato pode ser empregado no ciclo do ácido cítrico, gerando energia, ou poderá ser empregado na via da gliconeogênese, gerando moléculas de glicose. Já o nitrogênio resultante pode ser utilizado para a síntese de outros compostos nitrogenados ou simplesmente excretado na forma de uréia, representando um gasto de energia para o organismo.

Um dos possíveis destinos metabólicos da metionina tem sido a doação de grupamentos metílicos para a síntese de biomoléculas como a carnitina, que é essencial para o metabolismo de lipídios. A carnitina está envolvida no transporte de ácidos graxos de cadeia longa na membrana mitocondrial. O Acil-graxo, sintetizado na reação entre ácido graxo, CoA e ATP, liga-se a carnitina para compor a Acil graxo-carnitina, possibilitando o seu transporte do citosol para a matriz mitocondrial, para ser oxidado e gerar energia (Ramsay et al., 2001; Stephens et al., 2007; Strijbis et al., 2008; Apple et al., 2011). Isto pode estar relacionado a redução observada na ET, em função dos níveis de Met+Cis digestíveis, assim como os triglicerídeos que responderam de forma quadrática, apresentando a menor concentração plasmática ao nível de 0,496% de Met+Cis digestível.

O efeito dos níveis de Met+Cis digestíveis sobre o metabolismo dos lipídios em suínos foi reportado por outros autores, à exemplo de Vaz et al. (2005) e Moura et al. (2006), que observaram menor deposição de gordura na carcaça de suínos na fase de crescimento e Pena et al. (2008), que obtiveram menores níveis de colesterol no lombo e no toucinho de animais em terminação.

Os níveis crescentes de Met+Cis digestíveis estudados também apresentaram efeito sobre o RCM, que aumentou de forma linear. Segundo Krick et al (1992) e Kyriazakis et al. (1994), a CA é altamente correlacionada com variáveis que representam o ganho de tecido magro, pois a deposição de 1 g de proteína na carcaça agrega 3,1 a 4 g de água. Desta forma, a melhora no RCM, obtida com maiores níveis de Met+Cis digestíveis acima do necessário para máximo desempenho, pode estar relacionado à menor ET do que um possível aumento na deposição de proteína na carcaça.

Segundo Bikker et al. (1994) e Kerr (2003), os pesos do fígado e dos rins aumentam com o desequilíbrio de aminoácidos na ração, pois são alguns dos principais locais de degradação de aminoácidos e eliminação do excesso de nitrogênio. Apesar da concentração plasmática de uréia não ter apresentado variações, observou-se que o nível de 0,515% de Met+Cis na ração proporcionou menor atividade catabólica uma vez que estes órgãos apresentaram menor peso relativo.

As concentrações séricas de homocisteína aumentaram linearmente com o aumento da suplementação de Met+Cis nas rações e, de acordo com Brosnan e Brosnan (2006) o excesso de metionina é inicialmente convertido em SAM que, após doar seu grupo CH_3 , é convertida em homocisteína.

Ao avaliarem duas rações, para suínos dos 15 aos 25 kg (0,46 e 3,46% de Met+Cis), França et al. (2006) também observaram maiores valores séricos de homocisteína (59,80 $\mu\text{mol/L}$) nos animais que receberam a maior suplementação de metionina, em comparação com os animais alimentados com a dieta basal (16,73 $\mu\text{mol/L}$). A concentração de homocisteína (32,80 $\mu\text{mol/L}$), obtida para o maior nível de Met+Cis digestível, no presente estudo, foi inferior ao observado pelos autores supracitados, que por sua vez, trabalharam com níveis maiores de Met+Cis, e ainda observaram aterogênese na artéria ilíaca dos animais submetidos a dietas ricas em metionina, o que possivelmente está relacionado a hiper-homocisteinemia induzida pelo excesso de metionina.

O valor de homocisteína (26,65 $\mu\text{mol/L}$) obtido, mesmo para os animais suplementados com o menor nível de Met+Cis digestível (0,350%), é relativamente elevado em relação aos verificados para seres humanos, já que Venâncio et al. (2009) e Beard e Bearden (2011) classificam os níveis compreendidos entre 5-15, 16-30, 31-100 e >100 $\mu\text{mol/L}$ como quadro clínico normal, hiper-homocisteinemia moderado, intermediária e severa, respectivamente. Contudo, para suínos ainda não existe um nível sanguíneo considerado normal de homocisteína e, apesar de alguns autores (França et al., 2006; Zhang et al., 2009) apontarem para uma possível diferença entre as espécies, os valores elevados de homocisteína observados no presente estudo podem ser indicativo de um desequilíbrio nas vias metabólicas que eliminam o excesso de homocisteína.

Há duas vias pelas quais o acúmulo de homocisteína pode ser prevenido: remetilização e transulfuração. Na remetilização a homocisteína é reconvertida em metionina pela ação da MS e/ou *betaína-homocisteína metil-transferase* (BHMT), já na via da transulfuração a homocisteína é convertida irreversivelmente em cisteína pela ação das enzimas CBS e CGL. A regulação destas duas vias ocorre devido ao controle alostérico da SAM na atividade de

algumas enzimas. Quando a metionina aumenta, uma elevada concentração de SAM reduz a quantidade de grupos CH₃ no ciclo, por inibir as atividades das enzimas envolvidas na remetilação da homocisteína, tais como a BHMT e a *metileno-tetrahidrofolato-redutase* (MTHFR) e estimular a atividade da CBS, responsável pela perda irreversível de homocisteína. Por outro lado, quando a concentração de metionina é baixa, as concentrações de SAM diminuem e a atividade da CBS retorna ao normal, conservando homocisteína para remetilação (Prudova et al., 2006; Nijhout et al., 2006). Contudo, a deficiência de algumas vitaminas (B₆, B₁₂ e folato) utilizadas como cofatores enzimáticos também podem alterar a atividade das enzimas envolvidas no metabolismo da metionina, prejudicando o controle das concentrações de homocisteína (Lima et al., 2006; Zhang et al., 2009).

A vitamina B₆ na sua forma ativa (PLP) é cofator enzimático para três enzimas do metabolismo da metionina: SHMT, CBS e CGL, sendo as duas últimas relacionadas à via da transulfuração, considerada a principal via de eliminação do excesso de homocisteína (Brosnan e Brosnan, 2006; Stipanuk e Ueki, 2011). Apesar disso, não foram encontrados registros na literatura em que foi avaliada a interação de diferentes níveis de Met+Cis digestíveis e de vitamina B₆ sobre o metabolismo da metionina em suínos.

De acordo com os dados de expressão gênica, não houve interação entre os níveis suplementares de vitamina B₆ e os níveis de Met+Cis digestíveis sobre a expressão gênica, das enzimas MS e CGL, tanto no fígado quanto no músculo. Também não houve efeito dos níveis suplementares de vitamina B₆ e dos níveis de Met+Cis sobre a expressão destas enzimas. Estes resultados diferem dos encontrados por Sato et al. (1996), que observaram aumento na taxa de renovação da enzima CGL em roedores submetidos a dietas deficientes em vitamina B₆. No entanto, Zhang et al. (2009) não observaram alterações na expressão gênica das enzimas CBS e CGL no fígado, mesmo avaliando níveis extremos (0 e 3 mg/kg de ração) de vitamina B₆ para leitões recém-desmamados. Desta forma, os resultados obtidos no presente estudo, em conjunto com observados por Zhang et al. (2009), fornecem indícios de que a expressão gênica das enzimas MS e CGL em suínos é pouco influenciada pelos níveis de vitamina B₆ e de Met+Cis digestíveis avaliados.

Apesar da vitamina B₆ não ter influenciado a expressão gênica das enzimas CBS e CGL no fígado, Zhang et al. (2009) observaram que a deficiência desta vitamina reduziu a atividade das enzimas CBS, CGL e SHMT (PLP-dependentes), juntamente com um quadro de homocisteinemia grave, que foi atribuído, principalmente, à menor atividade das enzimas CBS e CGL, responsáveis pela eliminação do excesso de homocisteína pela via da

transulfuração. Segundo os autores, os níveis sanguíneos de homocisteína podem ser utilizados como índice para indicar o estado de fornecimento de vitamina B₆ em suínos.

Desta forma, apesar da suplementação de vitamina B₆ não ter influenciado o nível sérico de homocisteína, os elevados valores (26,65 µmol/L), mesmo em animais que receberam o menor nível de Met+Cis digestível (0,350%), pode indicar que os níveis suplementares de vitamina B₆ (1,58 e 3,58 mg/kg de ração) não foram suficientes para que a homocisteína fosse metabolizada pela via da transulfuração, o que foi agravado com o aumento dos níveis Met+Cis nas rações. Esta observação é consistente com o estudo de Miller et al. (1994), onde os autores observaram que ratos deficientes em vitamina B₆ apresentavam níveis sanguíneos de homocisteína semelhante aos não deficientes, contudo, quando fornecido um excesso de metionina, foi observado um aumento de 30 vezes na concentração de homocisteína em relação aos animais que receberam o tratamento controle.

Apesar das interações entre a suplementação de vitamina B₆ e os níveis de Met+Cis digestíveis não apresentarem efeito significativo, a suplementação de 3,58 mg de vitamina B₆/kg de ração promoveu aumento na PL e melhora na CA, em relação aos animais suplementados com 1,58 mg/kg. Além da sua atuação no metabolismo da metionina, a vitamina B₆, na forma de coenzima PLP, participa em reações enzimáticas relacionadas ao metabolismo de carboidratos, ácidos graxos e de outros aminoácidos (Nelson e Cox, 2014).

Desta forma, o aumento na deposição muscular e a melhora na CA obtidos com o maior nível de suplementação de vitamina B₆ fornecem subsídios adicionais sobre a necessidade de adequar as recomendações dietéticas de vitamina B₆ para suínos machos castrados na fase de terminação. Rostagno et al. (2011) propõem níveis de suplementação de vitamina B₆ de 1,2 mg/kg de ração para suínos machos castrados, dos 70 aos 100 kg e o NRC (2012) recomenda 1 mg/kg de ração para suínos machos castrados, dos 75 aos 100 kg.

A exemplo deste trabalho, outros autores (Lindemann et al., 1999; Giguère et al., 2005; Stahly et al., 2007; Zhang et al., 2009) também observaram melhor desempenho dos animais que receberam rações com níveis mais elevados em relação às atuais recomendações de algumas vitaminas do complexo B (riboflavina, niacina, ácido pantoténico, vitamina B₆ e B₁₂), além de enriquecimento da carne dos suínos com estas vitaminas.

Além de garantir máximo desempenho e melhorar as características de carcaça dos suínos, o fornecimento adequado de Met+Cis também pode melhorar atributos de qualidade da carne, como cor, capacidade de retenção de água e maciez. Uma das principais causas na perda de qualidade da carne suína é o rápido e extenso declínio do pH *post-mortem*, devido ao acúmulo de ácido láctico proveniente da glicólise anaeróbica, antes que a carcaça tenha se

resfriado com eficiência (Adzitey e Nurul, 2011). Esta combinação de baixo pH e alta temperatura leva à desnaturação de proteínas musculares, especialmente a miosina e a mioglobina (principal pigmento da carne) o que resulta em carnes de cor clara e baixa capacidade de retenção de água (Soares et al., 2003; Scheffler e Gerrard, 2007; Barbut et al., 2008), que são características da carne PSE.

A metionina, na forma de SAM, atua como doador de grupos CH_3 para a biossíntese de várias substâncias, entre elas, a creatina. Na sua forma fosforilada (fosfocreatina) a creatina constitui uma importante reserva energética para o músculo, sendo prontamente utilizada na resíntese de ATP ($\text{ADP} + \text{fosfocreatina} = \text{ATP} + \text{creatina}$), à medida que este vai sendo utilizado no metabolismo muscular. A produção de ATP, a partir da fosfocreatina, é particularmente importante uma vez que não envolve a via glicolítica e a produção de ácido láctico (Berg e Allee, 2001; Janicki e Buzala, 2013). Desta forma o fornecimento adequado de metionina para a síntese de creatina pode reduzir a velocidade e intensidade de queda do pH *post-mortem*.

Não houve efeito dos níveis de Met+Cis digestíveis sobre os valores de pH muscular (inicial e final), evidenciado que o fornecimento de Met+Cis digestível acima de 0,350% não alterou a taxa glicolítica das células no período *post-mortem*. Os níveis plasmáticos de creatinina, mensurados 18 horas antes do abate, também não variaram em função dos níveis de Met+Cis digestíveis. A creatinina é o produto final da degradação da creatina e fosfocreatina no músculo esquelético, sendo difundida do músculo para a corrente sanguínea e, posteriormente, excretada na urina (Brosnan et al., 2007; Nelson e Cox, 2014).

As carnes dos animais que receberam 3,58 mg de vitamina B_6 /kg de ração apresentaram maiores valores (3,76%) de PAG, no entanto, estas carnes não foram consideradas exudativas, já que Bridi e Silva (2009) consideram normais valores abaixo de 5%. Embora os valores de pH muscular não terem sido influenciados pela suplementação de vitamina B_6 , a maior PAG observada nos animais que receberam o nível mais elevado da vitamina pode estar relacionado ao seu envolvimento no metabolismo energético das células musculares. A vitamina B_6 , na forma de PLP, é cofator enzimático da enzima *glicogênio fosforilase*, responsável pela clivagem do glicogênio para liberar glicose, sendo que mais da metade da sua concentração total disponível é destinada para esta função (Combs Jr., 2008). Esta hipótese é reforçada pelos níveis plasmáticos de glicose, mensurados 18 horas antes do abate, que aumentaram com o incremento da suplementação de vitamina B_6 .

A oxidação lipídica que ocorre no músculo, no período *post-mortem*, representa outra causa de perda de qualidade das carnes (Soares et al., 2009). Os principais substratos

envolvidos na oxidação são os ácidos graxos poliinsaturados que compõem os fosfolipídios das membranas celulares (Mitchoathai et al., 2007; Devatkal e Naveena, 2010). Assim, o controle dos processos oxidativos torna-se importante na carne de suínos por sua composição ser rica em ácidos graxos poliinsaturados.

No metabolismo a metionina pode ser convertida no aminoácido cisteína que, por sua vez, é utilizada para a síntese de GSH, importante agente antioxidante das células. A cisteína formada é requerida ainda para síntese de selenocisteína, que faz parte do centro ativo da *glutathione peroxidase* (GPx), enzima do sistema antioxidante da GSH (Boler et al., 2009; Lu, 2013). Este sistema é responsável pela redução de hidroperóxidos orgânicos (ex.: lipoperóxido) e peróxidos de hidrogênio em álcool e água, respectivamente, evitando a peroxidação dos lipídios de membrana, mantendo sua integridade (Barber; Harris, 1994; Wang et al., 2009). A ação antioxidante da GSH previne ainda a oxidação de proteínas como a mioglobina e proteínas miofibrilares, preservando a cor e a capacidade de retenção de água da carne (Mancini e Hunt, 2005; Elisabeth e Steven, 2005; Wang et al., 2009). A metionina também é requerida para a biossíntese de fosfatidilcolina, fosfolipídio mais abundante nas membranas celulares de mamíferos (Zeisel et al., 2006), sendo fundamental na manutenção da integridade membranar e na taxa de fluidos das células.

Os componentes L*, a* e b* da cor, assim como a PAG da carne não foram influenciados pelos níveis de Met+Cis digestíveis nas rações, indicando que o fornecimento acima de 0,350% não melhorou a estabilidade oxidativa e a integridade das membranas celulares. Estes resultados corroboram com os de pH (inicial e final), que também não variaram, já que estas variáveis são relacionadas (Scheffler e Gerrard, 2007).

De acordo com a classificação descrita por Warner et al. (1997), adaptada por Bridi e Silva (2009), nenhum tratamento apresentou carcaças PSE. Apesar do componente L* da cor ter sido maior que 50 em todos os tratamentos, a maioria das outras variáveis estão dentro da normalidade.

Embora os níveis de Met+Cis digestíveis não terem influenciado a PAG, observou-se um aumento linear na PLD e uma resposta quadrática para a PLC em função do aumento dos níveis de Met+Cis digestíveis nas rações. Estes resultados podem estar relacionados aos níveis mais elevados de homocisteína, pois quando encontra-se elevada ela sofre auto-oxidação, formando homocisteína-tiolactona e espécies reativas de oxigênio, tais como peróxido de hidrogênio e peróxidos lipídicos, os quais podem danificar qualquer classe de estrutura celular e promover um stress oxidativo (Heydrick et al., 2004; Stefanello et al., 2005). Além disso, altos níveis de homocisteína reduzem a atividade da GPx, agravando

ainda mais o estresse oxidativo das células (Sharma et al., 2006; Venâncio et al., 2010). O resultado é um aumento na peroxidação dos lipídios das membranas celulares, prejudicando a sua capacidade em reter líquidos, o que justifica os resultados do presente estudo.

A FC também foi influenciada pelo aumento dos níveis de Met+Cis digestíveis nas rações, que proporcionou uma resposta quadrática que, em partes pode ser devido ao aumento na PLC, já que estas variáveis são relacionadas (Ramos e Gomide, 2012). Os valores obtidos para FC estão numa faixa de maciez extrema, uma vez que Lyon e Lyon (1991) classificaram valores inferiores a 3,62 Kgf como sendo de maciez extrema para o *Longissimus dorsi* no suíno.

De acordo com os dados de desempenho e qualidade de carne, a exigência de Met+Cis digestível foi de no máximo 0,350%, que corresponde ao consumo de 10,46 g/dia. Este consumo é inferior a 14,56 g/dia sugerido por Rostagno et al. (2011) para suínos machos castrados, dos 70 aos 100 kg, mas é superior às 10,43 g de metionina + cisteína/dia apresentado pelo NRC (2012) para suínos machos castrados, dos 75 aos 100 kg. Considerando a relação metionina:cisteína de 0,50% apresentada pelo NRC (2012) e o princípio de que duas moléculas de cisteína são necessárias para formar uma cistina (Lewis, 2003), recomenda-se expressar as exigências de AAS como metionina + cisteína, uma vez que uma molécula de metionina pode ser transulfurada em uma molécula de cisteína, ou seja, apresenta uma relação 1:1, pois se as exigências forem expressas em Met+Cis deve-se conhecer o déficit de cistina para se proceder com a suplementação de metionina para atender uma relação 2:1, uma vez que são necessárias duas moléculas de metionina para que haja a síntese de uma molécula de cistina. Além disso, a literatura estrangeira (NRC, 2012) já apresenta as exigências dos AAS como metionina + cisteína.

5. Conclusões

A exigência de metionina + cistina digestível para suínos machos castrados, dos 75 aos 100 kg, é de no máximo 10,46 g/dia, que corresponde ao nível de 0,350% na ração e a uma relação de 0,51% com a lisina digestível, com base nas variáveis de desempenho e qualidade de carne, e altos níveis destes aminoácidos reduzem a espessura de toucinho e elevam a concentração sanguínea de homocisteína.

A suplementação de 3,58 mg de vitamina B₆/kg de ração melhorou a profundidade de músculo e a conversão alimentar, mas não foi suficiente para metabolizar a homocisteína pela via da transulfuração.

Referências

- Adzitey, F., Nurul, H., 2011. Pale soft exudative (PSE) and dark firm dry (DFD) meats: causes and measures to reduce these incidences – a mini review. *Int. Food Res. J.* 18, 11–20.
- Amorin, F.G., Rezende, L.C.D., Coitinho, L.B., Freitas, J.V., Scher, J.A., Dettogni, R.S., 2011. Bioquímica clínica da aterosclerose provocada por hiperhomocisteinemia. *Revista Eletrônica de Farmácia* 8, 36–59.
- Apple, J.K., Sawyer, J.T., Maxwell, C.V., Yancey, J.W.S., Frank, J.W., Woodworth, J.C., Musser, R.E., 2011. Effects of l-carnitine supplementation on quality characteristics of fresh pork bellies from pigs fed 3 levels of corn oil. *J. Anim. Sci.* 89, 2878–2891.
- Armstrong, T.A., Ivers, D.J., Wagner, J.R., Anderson, D.B., Weldon, W.C., Berg, E.P., 2004. The effect of dietary ractopamine concentration and duration of feeding on growth performance, carcass characteristics, and meat quality of finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 82, 3245–3253.
- Barber, A.D., Harris, S.R., 1994. Oxygen free radicals and oxidants: a review. *Am. Pharm.* 34, 26–35.
- Barbut, S., Sosnicki, A.A., Lonergan, S.M., Knapp, T., Ciobanu, D.C., Gatcliffe, L.J., Huff-Lonergan, E., Wilson, E.W., 2008. Progress in reducing the pale, soft and exudative (PSE) problem in pork and poultry meat. *Meat Sci.* 79, 46–63.
- Beard Jr., R.S., Bearden, S.E., 2011. Vascular complications of cystathionine-synthase deficiency: future directions for homocysteine-to-hydrogen sulfide research. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 300, 13–26.
- Berg, E.P., Allee, G.L., 2001. Creatine monohydrate supplemented in swine finishing diets and fresh pork quality: I. A controlled laboratory experiment. *J. Anim. Sci.* 79, 3075–3080.
- Boccard, R., Buchter, L., Casteels, E., Cosentino, E., Dransfield, E., Hood, D. E., Joseph, R. L., Macdougall, D. B., Rhodes, D. N., Schön, I., Tinbergen, B. J., Touraille, C., 1981. Procedures for measuring meat quality characteristics in beef production experiments. Report of a working group in the Commission of the European Communities' (CEC) beef production research programme. *Livest. Prod. Sci.* 8, 385–397.
- Boler, D.D., Gabriel, S.R., Yang, H., Balsbaugh, R., Mahan, D.C., Brewer, M.S., Mckeith, F.K., Killefer, J., 2009. Effect of different dietary levels of natural-source vitamin E in grow-finish pigs on pork quality and shelf life. *Meat Sci.* 83, 723–730.
- Bridi, A.M., Silva, C.A., 2009. Avaliação da Carne Suína. *Midiograft, Londrina, PR, Brazil.*
- Bikker, P., Verstegen, M.W.A., Bosch, M.W., 1994. Amino acid composition of growing pigs is affected by protein and energy intake. *J. Nutr.* 124, 1961–1969.
- Brosnan, J.T., Brosnan, M.E., 2006. The sulfur-containing amino acids: an overview. *J. Nutr.* 136, 1636S–1640S.
- Brosnan, M.E., Edison, E.E., Silva, R., Brosnan, J.T., 2007. New insights into creatine function and synthesis. *Adv. Enzyme Regul.* 47, 252–260.
- Cai, Y., Zimmerman, D.R., Ewan, R.C., 1994. Diurnal variation in concentrations of plasma urea nitrogen and amino acids in pigs given free access to feed or fed twice daily. *J. Nutr.* 124, 1088–1093.
- Chung, T.K., Baker, D.H., 1992. Ideal amino acid pattern for 10-kilogram pigs. *J. Anim. Sci.* 70, 3102–3111.
- Coble, D.J., Redmond, S.B., Hale, B., Lamont, S.J., 2011. Distinct lines of chickens express different splenic cytokine profiles in response to *Salmonella* Enteritidis challenge. *Poult. Sci.* 90, 1659–1663.

- Demuth, K., Ducros, V., Michelsohn, S., Paul, J., 2004. Evaluation of advia centaur automated chemiluminescence immunoassay for determining total homocysteine in plasma. *Clin. Chim. Acta* 349, 113–20.
- Devatkal, S.K., Naveena, B.M., 2010. Effect of dalt, kinnow and pome granate fruit bayproduct powders on color and oxidative stability os raw goat meat during refrigerated storage. *Meat Sci.* 85, 306–311.
- Edmonds, M.S., Gonyou, H.W., Baker, D.H., 1987. Effect of excess levels of excess methionine, tryptofhan, arginine, lysine or threonine on growth and dietary choice in the pig. *J. Anim. Sci.* 65, 179–185.
- Elisabeth, H.L., Steven. M.L., 2005. Mechanisms of water–holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat Sci.* 71, 194–204.
- Ferreira, R.A., 2005. Maior produção com melhor ambiente para aves, suínos e bovinos. *Aprenda Fácil*, Viçosa, MG, Brasil.
- França, L.H.G., Pereira, A.H., Perini, S.C., Aveline, C.C., Argenta, R., Mollerke, R.O., Soares, M.E., Nóbrega, F., Ferreira, M.P., 2006. Aterogênese em artéria ilíaca comum de suínos submetidos à homocisteinemia induzida pela ingestão de metionina. *J. Vasc. Bras.* 5, 11–16.
- Giguère, A., Girard, C. Matte, J.J., 2005. Interaction between folic acid (vitamin B9), vitamin B12 and methionine in growing–finishing pigs: impact on growth performance and meat quality. *Journ. Rech. Porc.* 37, 275–282.
- Guidoni, A. L. Melhorias de processos para a tipificação e valorização de carcaças suínas no Brasil. In: *CONFERÊNCIA INTERNACIONAL VIRTUAL SOBRE A QUALIDADE DE CARNE SUÍNA*, 1., 2000, Concórdia. Anais...Concórdia: EMBRAPA/CNPSA, 2000. p. 221–234.
- Haddad, M., Vendramim, J.D., 2000. Comparação de Porcentagens Observadas com Casos Extremos de 0 e 100%. *An. Soc. Entomol. Brasil.* 29, 835–837.
- Hahn, J.D., Baker, D.H., 1995. Optimum ratio of threonine, tryptophan, and sulfur amino acids for finishing swine. *J. Anim. Sci.* 73, 482–489.
- Heydrick, S. J., Weiss, N., Thomas, S.R., Cap, A.P., Pimentel, D.R., Loscalzo, J., Keaneyjr, J.F., 2004. L–homocysteine and l–homocystine stereospecifically induce endothelial nitric oxide synthase–dependent lipid peroxidation in endothelial cells. *Free Radic. Biol. Med.* 36, 632–640.
- Huang, T., Yuan, G., Zhang, Z., Zou, Z., Li, D., 2008. Cardiovascular pathogenesis in hyperhomocysteinemia. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 17, 8–16.
- Janicki, B., M. Buzala., 2013. The role of creatine in the organism of pigs and its effect on the quality of pork: a review. *Ann. Anim. Sci.* 13, 207–215.
- Kerr, B.J., Yen, J.T., Nienaber, J.A., Easter, R.A., 2003. Influences of dietary protein level, amino acid supplementation and environment temperature on performance, body composition, organ weights and total heat production of growing pigs. *J. Anim. Sci.* 81, 1998–2007.
- Knowles, T.A, Southern, L.L., Binder, T.D., 1998. Ratio of total sulfur amino acids to lysine for finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 76, 1081–1090.
- Krick, B.J., Boyd, R.D., 1992. Influence of genotype and sex on the response of growing pigs to recombinant porcine sonatotropin. *J. Anim. Sci.* 70, 3024–3034.
- Kyriazakis, I., Dotas, D., Emmans, G.C., 1994. The effects of breed on the relationship between feed composition and the efficiency of protein utilization in pigs. *Br. J. Nutr.* 71, 849–859.
- Latorre, M.A., Pomar, C., Faucitano, L., Gariépy, C., Méthot, S., 2008. The relationship within and between production performance and meat quality characteristics in pigs from three different. *Livest. Sci.* 115, 258–267.

- Le Bellego, L., Noblet, J., 2002. Performance and utilization of dietary energy and amino acids in piglets fed low protein diets. *Livest. Prod. Sci.* 76, 45–58.
- Lewis, A.J., 2003. Methionine–Cystine relationships in pig nutrition. In: D' Mello J.P.F. (ed). *Amino acids in farm animal nutrition*. CABI Publishing, Wallingford UK, p.143–155.
- Lima, C.P., Davis, S.R., Mackey, A.D., Scheer, J.B., Williamson, J.J., Gregory, F., 2006. Vitamin B–6 deficiency suppresses the hepatic transsulfuration pathway but increases glutathione concentration in rats fed AIN–76A or AIN–93G diets. *J. Nutr.* 136, 2141–2147.
- Lindemann, M.D., Cromwell, G.L., van de Lingt, J.L.G., Monegue, H.J., 1999. Higher levels of selected B–vitamins improve performance and lean deposition in growing/finishing swine. *J. Anim. Sci.* 77(Suppl. 1):58.
- Loughmiller, J.A., Nelssen, J.L., Goodband, R.D., Tokach, M.D., Titgemeyer, E.C., Kim, I.H., 1998. Influence of dietary total sulfur amino acid and methionine on growth performance and carcass characteristics in finishing gilts. *J. Anim. Sci.* 76, 2129–2137.
- Lu, S.C., 2013. Glutathione synthesis. *Biochim. Biophys. Acta* 1830, 3143–3153.
- Lyon, B.G., Lyon, C.E., 1991. Research note: shear value ranges by instron warner–bratzler and single–blade allo–kramer devices that correspond to sensory tenderness. *Poult. Sci.* 70, 188–191.
- Machado, G., Fontes, D.O., 2006. *Relação entre as exigências nutricionais e o sistema imune em suínos*. 2. Ed. CBNA–AMENA, São Paulo: SP.
- Mancini, R.A., Hunt, M.C., 2005. Current research in meat color. *Meat Sci.* 71, 100–121.
- Martinez–Vega, R., Garrido, F., Partearroyo, T., Cediell, R., Zeisel, S.H., Martínez–Alvarez, C., Varela–Moreiras, G., Varela–Nieto, I., Pajares, M.A., 2015. Folic acid deficiency induces premature hearing loss through mechanisms involving cochlear oxidative stress and impairment of homocysteinemetabolism. *FASEB J.* 29, 418–432.
- Mavromichalis, I. D., Cera, K.R., 2001. Update on ideal amino acid profile for finishing pigs. *Feedstuffs.* 73, 11–13.
- Miller J.W., Nadeau M.R., Smith D., Selhub J., 1994. Vitamin B6 deficiency vs. folate deficiency: comparison of responses to methionine loading in rats. *Am. J. Clin. Nutr.* 59, 1033–1039.
- Mitchaonthai, J., Yuangklang, C., Wittayakun, S., Vasupen, K., Wongsutthavas, S., Srenanul, P., Hovenier, R., Everts, H., Beynen, A.C., 2007. Effect of dietary fat type on meat quality and fatty acid composition of various tissues in growing–finishing swine. *Meat Sci.* 76, 95–101.
- Moreno, A.M., Sobestyanky, J., Lopez, A.C., Sobestiansky, A.A.B., 1997. Colheita e processamento de amostras de sangue em suínos para fins de diagnóstico. Concórdia: EMBRAPA–CNPSA (EMBRAPA–CNPSA. Documentos, 41), 30p.
- Moura, J.O., Brustolini, P.C., Silva, F.C.O., Donzele, J.L., Ferreira, A.S., Paula, E., 2006. Exigências de aminoácidos sulfurados digestíveis para suínos machos castrados e fêmeas de 15 a 30 kg. *Rev. Bras. Zootec.* 35, 1085–1090.
- NRC. 2012. *Nutrients requirement of swine*. 11th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- Nelson, D.L., Cox, M.M., 2014. *Princípios de Bioquímica de Lehninger*. 6th ed., Artmed, Porto Alegre.
- Nijhout, H.F., Reed, M.C., Anderson, D.F., Mattingly, J.C., James, J. And Ulrich, C.M., 2006. Long–range allosteric interactions between the folate and methionine cycles stabilize DNA methylation reaction rate. *Epigenetics* 1, 81–87.
- Pena, S.M., Lopes, D.C., Rostagno, H.S., Silva, F.C.O., Donzele, J.L., 2008. Relações metionina mais cistina digestível: lisina digestível em dietas suplementadas com ractopamina para suínos em terminação. *Rev. Bras. Zootec.* 37, 1978–1983.

- Prudova A., Bauman Z., Braun A., Vitvitsky V., Lu S.C., Banerjee R., 2006. S-adenosylmethionine stabilizes cystathionine β -synthase and modulates redox capacity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 103, 6489–6494.
- Ramos, E.M., Gomide, L.A.M., 2012. Avaliação da qualidade de carnes: Fundamentos e Metodologias. UFV, Viçosa. MG, Brasil.
- Ramsay, R R., Gandour, R.D., Van Der Leij, F.R., 2001. Molecular enzymology of carnitine transfer and transport. *Biochim. Biophys. Acta* 1546, 21–43.
- Rosenvold, K., Andersen, H.J., 2003. The significance of pre-slaughter stress and diet on colour and colour stability of pork. *Meat Sci.* 63, 199–209.
- Rostagno, H.S., Albino, L.F.T., Donzele, J.L., Gomes, P.C., Oliveira, R.F., Lopes, D.C., Ferreira, A.S., Barreto, S.L.T., Euclides, R.F., 2011. Tabelas brasileiras para aves e suínos, composição de alimentos e exigências nutricionais. 3th. ed. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil.
- Santos, F.A., Donzele, J.L., Oliveira, R.F.M., Silva, F.C.O., Abreu, M.L.T., Saraiva, A., Brustolini, P.C., 2007. Exigência de metionina + cistina digestíveis em suínos machos castrados de alto potencial genético na fase dos 60 aos 95 kg. *Rev. Bras. Zootec.* 36, 2047–2053.
- Santos, F.A., Donzele, J.L., Silva, F.C.O., Oliveira, R.F.M., Abreu, M.L.T., Saraiva, A., Haese, D., Kill, J.L. 2011. Levels of digestible methionine+cystine in diets for high genetic potential barrows from 95 to 125 kg. *Rev. Bras. Zootec.* 40, 581–586.
- Sato, A., Nishioka, M., Awato, S., Nakayama, K., Okada, M., Horiuchi, S., Okabe, N., Sassa, T., Oka, T., Natori, Y., 1996. Vitamin B6 deficiency accelerates metabolic turnover of cystathionase in rat liver. *Arch. Biochem. Biophys.* 330, 409–413.
- Scheffler, T.L., Gerrard, D.E., 2007. Mechanisms controlling pork quality development: The biochemistry controlling postmortem energy metabolism. *Meat Sci.* 77, 7–16.
- Sharma, P., Senthilkumar, R.D., Brahmachari, V., Sundaramoorthy, W., Mahajan, A., Sharma, A., Sengupta, S., 2006. Mining literature for a comprehensive pathway analysis: A case study for retrieval of homocysteine related genes for genetic and epigenetic studies. *Lipids Health Dis.* 5, 1–19.
- Shoveller, A.K., House, J.D., Brunton, J.A., Pencharz, P.B., Bal, R.O. 2004. The Balance of Dietary Sulfur Amino Acids and the Route of Feeding Affect Plasma Homocysteine Concentrations in Neonatal Piglets. *J. Nutr.* 134, 609–612.
- Soares, A.L., Ida, E.I., Miyamoto, S., Hernández-Blazquez, F.J., Olivo, R., Pinheiro, J., Shimokomaki, M., 2003. Phospholipase A2 activity in poultry PSE, pale, soft, exudative, meat. *J. Food Biochem.* 27, 309–320.
- Soares, A.L., Marchi, D.F., Matsushita, M., Guarnieri, P.D., Droval, A.A., Ida, E.I., Shimokomaki, M., 2009. Lipid oxidation and fatty acid profile related to broiler breast meat color abnormalities. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 52, 1513–1518.
- Stahlke Jr., H.J., França, L.H.G., Stahlke, P.H., Stahlke, P.S., 2004. Hiper-homocisteinemia causando aterogênese na aorta de coelhos – modelo experimental. *J. Vasc. Bras.* 3, 20–30.
- Stahly, T.S., Williams, N.H., Lutz, T.R., Ewan, R.C., Swenson, S.G., 2007. Dietary B vitamin needs of strains of pigs with high and moderate lean growth. *J. Anim. Sci.* 85, 188–195.
- Stefanello, F.M., Chiarani, F., Kurek, A.G., Wannmacher, C.M.D., Wajner, M., Wyse, A.T.S., 2005. Methionine alters Na⁺, K⁺ – ATPase activity, lipid peroxidation and nonenzymatic antioxidant defenses in rat hippocampus. *Int. J. Dev. Neurosci.* 23, 651–656.
- Stipanuk, M.H., 2004. Sulfur amino acid metabolism: pathways for production and removal of homocysteine and cysteine. *Annu. Rev Nutr.* 24, 539–577.

- Stipanuk, M.H., Ueki, I., 2011. Dealing with methionine/homocysteine sulfur: cysteine metabolism to taurine and inorganic sulfur. *J. Inherit. Metab. Dis.* 34, 17–32.
- Strijbis, K., Van Roermund, C.W., Visser, W.F., Mol, E.C., Van Den Burg, J., Maccallum, D.M., Odds, F.C., Paramonova, E., Krom, B.P., Distel, B., 2008. Carnitine-dependent transport of acetyl coenzyme A in *Candida albicans* essential for growth on nonfermentable carbon sources and contributes to biofilm formation. *Eukaryot. Cell.* 7, 610–618.
- Stephens, F.B., Constantin–Teodosiu, D., Greenhaff, P.L., 2007. New insights concerning the role of carnitine in the regulation of fuel metabolism in skeletal muscle. *J. Physiol.* 581, 431–444.
- Thaler, R., Zwerina, J., Rumpler, M., Spitzer, S., Gamsjaeger, S., Paschalis, E. P., Klaushofer, K., Varga, F., 2013. Homocysteine induces serum amyloid A3 in osteoblasts via unlocking RGD motifs in collagen. *FASEB J.* 27, 446–463.
- Vaz, R.G.M.V., Oliveira, R.F., Donzele, M.J.L., Ferreira, A.S., Silva, F.C.O., Kiefer, C., Siqueira, J.C., Rezende, W.O., 2005. Exigência de Aminoácidos Sulfurados Digestíveis para Suínos Machos Castrados, Mantidos em Ambiente de Alta Temperatura dos 15 aos 30 kg. *Rev. Bras. Zootec.* 3, 1633–1639.
- Venâncio, L.S., Burini, R.C., Yoshida, W.B., 2009. Concentração de homocisteína em pacientes portadores de doença arterial periférica atendidos em um serviço público de saúde. *J. Vasc. Bras.* 8, 318–326.
- Venâncio, L.S., Burini, R.C., Yoshida, W.B., 2010. Tratamento dietético da hiperhomocisteinemia na doença arterial periférica. *J. Vasc. Bras.* 9, 28–41.
- Wang, Z.G., Pan, X.J., Peng, Z.Q., Zhao, R.Q., Zhou, G.H., 2009. Methionine and selenium yeast supplementation of the maternal diets affects color, water-holding capacity, and oxidative stability of their male offspring meat at the early stage. *Poult. Sci.* 88, 1096–1101.
- Warner, R.D., Kauffman, R.G., Greaser, M.L., 1997. Muscle protein changes post mortem in relation to pork quality traits. *Meat Sci.* 45, 339–352.
- Xie, M., Tang, J., Wen, Z., Huang, W., Hou, S., 2014. Effects of Pyridoxine on Growth Performance and Plasma Aminotransferases and Homocysteine of White Pekin Ducks. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 27, 1744–1748.
- Yang, C.J., Lee, D.W., Chung, I.B., Cho, Y.M., Shin, I.S., Chae, B.J., Kim, J.H., Han, K., 1997. Developing model equation to subdivide methionine+cystine requirements into requirement for growth and maintenance in pigs. *Asian–Aust. J. Anim. Sci.* 10, 86–97.
- Zeisel, S.H., 2006. Choline: Critical role during fetal development and dietary requirements in adults. *Ann. Rev. Nutr.* 26, 229–250.
- Zhang, Z., Kebreab, E., Jing, M., Rodriguez–Lecompte, J.C., Kuehn, R., Flintoft, M., House, J.D., 2009. Impairments in pyridoxine-dependent sulphur amino acid metabolism are highly sensitive to the degree of vitamin B6 deficiency and repletion in the pig. *Animal* 3, 826–837.

IV. NÍVEIS DE METIONINA + CISTINA DIGESTÍVEIS E SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA B₆ PARA FÊMEAS SUÍNAS DOS 75 AOS 100 KG¹

Resumo

O objetivo foi avaliar os efeitos de níveis de metionina + cistina (Met+Cis) digestíveis e da suplementação de vitamina B₆ sobre o desempenho, as variáveis sanguíneas, as características de carcaça, a qualidade de carne e a expressão gênica de enzimas envolvidas no metabolismo da metionina de fêmeas suínas, dos 75 aos 100 kg. Foram utilizados 56 fêmeas suínas, com peso médio inicial de 75,06 ± 1,68 kg; distribuídas em um delineamento experimental de blocos casualizados, num esquema fatorial 2×4, constituído de dois níveis suplementares de vitamina B₆ (1,58 e 3,58 mg/kg) e quatro níveis de Met+Cis digestíveis (0,370; 0,470; 0,570 e 0,670%), com sete repetições e um animal por unidade experimental. Não foram observadas interações (P > 0,05) entre suplementação de vitamina B₆ e os níveis de Met+Cis digestíveis estudados. Os níveis de Met+Cis digestíveis e a suplementação de vitamina B₆ não influenciaram o desempenho e as características de carcaça. Os triglicérides apresentaram uma resposta quadrática (P < 0,01) em função dos níveis de Met+Cis digestíveis, em que a menor concentração plasmática foi estimada para o nível de 0,575%. Os tratamentos não influenciaram a expressão gênica das enzimas metionina sintase e cistationina-γ-lyase, bem como os níveis séricos de homocisteína. Para as variáveis qualitativas do músculo *Longissimus dorsi*, observou-se aumento (P = 0,05) na perda de líquido por descongelamento e uma resposta quadrática para a perda de líquido por cocção (P = 0,01) e força de cisalhamento (P = 0,05), em que os maiores valores foram observados para os níveis de 0,528 e 0,539%, respectivamente, de Met+Cis digestível. Conclui-se que a exigência de Met+Cis digestível para fêmeas suínas, dos 75 aos 100 kg, é de no máximo 10,60 g/dia, que corresponde ao nível de 0,370% na ração e a uma relação de 0,48% com a lisina digestível, com base nas variáveis de desempenho, características de carcaça e qualidade de carne.

Palavras-chave: cistationina-γ-lyase, características de carcaça, desempenho, homocisteína, metionina sintase, qualidade de carne

¹Artigo formatado de acordo com as normas da revista *Animal Feed Science and Technology* (ISSN: 0377-8401).

1. Introdução

A metionina é um aminoácido essencial para suínos, pois está envolvida em várias vias metabólicas. Além da função de deposição proteica, ela é precursora de outros aminoácidos, notadamente da cisteína, que também é utilizada para a síntese de proteína corporal (Brosnan e Brosnan, 2006). Na forma de S-adenosilmetionina (SAM), a metionina é doadora de grupos metil (CH_3) para uma infinidade de substâncias corporais (como creatina), e ainda está envolvida na síntese de poliaminas (Nelson e Cox, 2014). A cisteína, por sua vez, está envolvida na síntese de proteínas do pêlo e de outros componentes corporais importantes, como a glutatona (Stipanuk e Ueki, 2011).

Nas últimas décadas, a relação da hiper-homocisteinemia com o desenvolvimento de doenças cardiovasculares tem despertado o interesse de pesquisadores em estudar a homocisteína, que é um metabólito do ciclo da metionina. De maneira geral, o metabolismo mantém as concentrações sanguíneas de homocisteína em níveis baixos, mas a sua elevação possui causas multifatoriais, sendo que as mais relatadas são as de ordem nutricional, como a deficiência de vitaminas envolvidas no metabolismo da metionina (B_6 , B_{12} e folato), ou excessos de metionina na dieta (Shoveller et al., 2004; França et al., 2006; Zhang et al., 2009).

A vitamina B_6 (piridoxina) desempenha importante função no metabolismo da metionina e no controle dos níveis de homocisteína. Ela serve de cofator enzimático para três enzimas do metabolismo da metionina: serina-hidroximetil-transferase (SHMT), cistationina β -sintase (CBS) e cistationina- γ -lyase (CGL), sendo as duas últimas relacionadas a via da transulfuração, considerada a principal via de eliminação do excesso de homocisteína (Brosnan e Brosnan, 2006).

Contudo, o conhecimento dos mecanismos subjacentes ao metabolismo da metionina requer informações mais detalhadas, como os mecanismos pelos quais nutrientes específicos regulam a expressão de determinados genes relacionados ao metabolismo deste aminoácido. Essas interações são estudadas pela genômica da nutrição, ciência conhecida como nutrigenômica (Gonçalves et al., 2009). Desta maneira, análises da expressão de genes relacionados ao metabolismo da metionina, juntamente com os de concentração de metabólitos, como a homocisteína, podem melhorar a compreensão da fisiologia animal frente a diferentes estratégias nutricionais.

Além de melhorar o desempenho dos animais, a utilização de aminoácidos industriais pode resultar em melhorias nas características de carcaça e na qualidade da carne suína. A metionina é precursora de substâncias como carnitina, creatina, fosfatidilcolina e glutatona

(GSH), importantes para melhorar características de carcaça, como menor espessura de toucinho (ET) e maior rendimento de carne magra (RCM) e atributos de qualidade da carne, como cor, capacidade de retenção de água e maciez.

Neste contexto, este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar os efeitos de níveis de metionina + cistina (Met+Cis) digestíveis e da suplementação de vitamina B₆ sobre o desempenho, variáveis sanguíneas, características de carcaça, qualidade de carne e a expressão gênica de enzimas envolvidas no metabolismo da metionina de fêmeas suínas, dos 75 aos 100 kg.

2. Materiais e métodos

O experimento foi realizado no Setor de Suinocultura da Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), pertencente ao Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá (CCA/UEM), localizada no Estado do Paraná (23°21'S, 52°04'W, a altitude de 564 m), no período de junho a agosto de 2014.

Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais em Experimentação (CEUA/UEM), tendo sido aprovados para execução (Parecer nº 162/2014).

2.1. Animais e delineamento experimental

Foram utilizados 56 fêmeas suínas (Topigs 20 x Talent), com peso médio inicial de 75,06 ± 1,68 kg. Os animais foram alojados em galpão de alvenaria, coberto com telhas de fibrocimento, dividido em duas alas, sendo cada uma composta por 20 baias, separadas por um corredor central. As baias eram dotadas de bebedouros tipo nipple e comedouros semiautomáticos, proporcionando livre acesso à ração e à água, fornecidas à vontade durante todo o período experimental.

Os animais foram distribuídos em um delineamento experimental de blocos casualizados em um esquema fatorial 2×4, composto por dois níveis de suplementação de vitamina B₆ (1,58 e 3,58 mg/kg) e quatro níveis de Met+Cis digestíveis (0,370; 0,470; 0,570 e 0,670%), com sete repetições e um animal por unidade experimental. Na formação dos blocos, que foram repetições no tempo, utilizou-se como critério o peso inicial dos animais.

As rações experimentais foram formuladas à base de milho, farelo de soja, vitaminas, minerais e aditivos (Tabela 1) para atenderem às exigências propostas pelo NRC (2012), para fêmeas suínas na fase de terminação (75-100 kg), exceto para o nível de Met+Cis digestível, que variou de 0,370 a 0,670%.

As composições aminoacídicas do milho e do farelo de soja foram determinadas na Evonik Industries (São Paulo, SP, Brasil), pela técnica de espectrofotometria de refletância no infravermelho proximal e aplicados os coeficientes de digestibilidade ileal propostos por Rostagno et al. (2011).

Tabela 1. Composição centesimal, química e energética das rações experimentais contendo diferentes níveis de metionina + cistina (Met+Cis) digestíveis

Ingredientes, %	Níveis de Met+Cis digestíveis, %			
	0,370	0,470	0,570	0,670
Milho	84,34	84,34	84,34	84,34
Farelo de soja	11,35	11,35	11,35	11,35
Óleo de soja	1,07	1,04	1,03	1,00
Calcário	0,99	0,99	0,99	0,99
Fosfato bicálcico	0,70	0,70	0,70	0,70
Sal comum	0,20	0,20	0,20	0,20
L-lisina HCl	0,39	0,39	0,39	0,39
DL-metionina	-	0,10	0,20	0,30
L-treonina	0,11	0,11	0,11	0,11
L-triptofano	0,03	0,03	0,03	0,03
L-valina	0,03	0,03	0,03	0,03
Ácido glutâmico	0,31	0,21	0,10	-
Inerte ¹	-	0,03	0,05	0,08
Antioxidante ²	0,01	0,01	0,01	0,01
Promotor de crescimento ³	0,02	0,02	0,02	0,02
Minerais ⁴	0,05	0,05	0,05	0,05
Vitaminas ⁵	0,40	0,40	0,40	0,40
Composição calculada, %				
Energia metabolizável, kcal/kg	3.300	3.300	3.300	3.300
Nitrogênio total	2,01	2,01	2,01	2,01
Cálcio	0,56	0,56	0,56	0,56
Fósforo disponível	0,26	0,26	0,26	0,26
Sódio	0,10	0,10	0,10	0,10
Potássio	0,45	0,45	0,45	0,45
Cloro	0,25	0,25	0,25	0,25
Lisina digestível	0,770	0,770	0,770	0,770
Metionina digestível	0,174	0,274	0,374	0,474
Met+Cis digestível	0,370	0,470	0,570	0,670
Treonina digestível	0,480	0,480	0,480	0,480
Triptofano digestível	0,130	0,130	0,130	0,130
Valina digestível	0,510	0,510	0,510	0,510
Isoleucina digestível	0,411	0,411	0,411	0,411
Leucina digestível	1,046	1,046	1,046	1,046
Histidina digestível	0,298	0,298	0,298	0,298
Fenilalanina digestível	0,522	0,522	0,522	0,522
Arginina digestível	0,668	0,668	0,668	0,668
Met+Cis:Lis digestível	0,48	0,61	0,74	0,87

¹Areia fina lavada. ²BHT. ³Fosfato de tilosina (25%). ⁴Conteúdo/kg de ração: ferro – 50,00 mg; cobre – 5,00 mg; cobalto – 0,50 mg; manganês – 20,00 mg; zinco – 50,00 mg; iodo – 0,75 mg; e selênio – 0,30 mg.

⁵Conteúdo/kg de ração: vit. A – 4400 U.I.; vit D₃ 960 U.I.; vit. E – 25,60 U.I.; vit B₁ – 0,640 mg; vit B₂ – 2,13 mg; vit. B₆ – 1,58 mg; vit B₁₂ – 0,016 mg; ácido nicotínico – 19,34 mg; ácido pantotênico – 12,16 mg; vit. K₃ – 1,92 mg; ácido fólico – 0,192 mg; biotina – 0,064 mg; e colina – 127,31 mg.

Para atender os níveis de 0,470; 0,570 e 0,670% de Met+Cis digestíveis, a DL-metionina foi adicionada na ração basal às custas do ácido glutâmico, para que estas apresentassem o mesmo nível de nitrogênio. O nível de suplementação de 1,58 mg/kg de vitamina B₆ foi atendido com o uso do premix vitamínico, conforme a recomendação do fabricante, e para o nível de 3,58 mg/kg foi adicionado cloridrato de piridoxina (99% de vitamina B₆).

A temperatura e a umidade do ar foram monitoradas com auxílio de um Data Logger (Hobbo U10[®]), instalado no centro do galpão experimental, em que os dados climáticos foram registrados a cada 30 minutos, durante todo o período experimental.

2.2. Desempenho e análises sanguínea

Os animais foram pesados no início e no final do experimento para determinar o ganho de peso diário (GPD). As rações foram pesadas sempre que fornecidas aos animais e as sobras descontadas para determinar o consumo diário de ração (CDR) e o consumo diário de Met+Cis digestível. Os dados de GPD e CDR foram utilizados para calcular a conversão alimentar (CA).

Ao término do período experimental os animais ($100,11 \pm 3,52$ kg) foram submetidos a um jejum de 6 horas para realização da coleta de sangue. As amostras foram colhidas através da veia jugular (Cai et al., 1994) e transferidas para tubos contendo EDTA (análises de uréia, proteínas totais, creatinina e triglicerídeos) e fluoreto (análise de glicose), sendo posteriormente centrifugadas (3.000 rpm) por 15 minutos, para separação do plasma (Moreno et al., 1997). Em seguida, 3 mL de plasma foram transferidos para tubos do tipo “eppendorfs” e armazenados para realização das análises.

As análises de glicose, uréia, proteínas totais, creatinina e triglicerídeos foram realizadas pelo método colorimétrico, por meio de kits comerciais, seguindo os procedimentos operacionais padrões (POP) descritos nos mesmos. Adicionalmente, foram coletadas amostras de sangue em tubos contendo gel sem propriedades físicas/químicas, para realização das análises de homocisteína. A concentração de homocisteína no soro foi determinada no Laboratório São Camilo (Maringá, Paraná, Brasil), por meio do método de quimioluminescência (Demuth et al., 2004).

2.3. Características de carcaça e qualidade de carne

Após 24 horas de jejum alimentar, os animais foram pesados para obtenção do peso vivo ao abate e encaminhados ao Abatedouro da Fazenda Experimental de Iguatemi-FEI/UEM. Os animais foram previamente submetidos à insensibilização elétrica (200 watts) e abatidos pelo corte da veia jugular, sendo posteriormente escaldados, depilados e eviscerados.

As carcaças evisceradas foram divididas ao meio, no sentido longitudinal, e posteriormente pesadas e resfriadas ($2 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24h). As carcaças foram avaliadas individualmente de acordo com as orientações de Bridi e Silva (2009), onde foram determinados o peso da carcaça quente (PCQ), peso da carcaça resfriada (PCR), rendimento de carcaça quente (RCQ) perda de peso de carcaça no resfriamento (PPCNR), rendimento de pernil (RP), ET e profundidade do músculo *Longissimus dorsi* (PL). O fígado e rins (direito e esquerdo) foram pesados para obtenção do peso relativo, calculado com base no PCQ.

A ET e a PL foram mensuradas na meia carcaça esquerda, 24 horas *post-mortem*, com auxílio de paquímetro, na região de inserção da última vértebra torácica com a primeira lombar, a seis centímetros da linha média de corte da carcaça (ponto P2). A partir dos valores de ET, PL e PCR foi estimado o RCM, utilizado à equação proposta por Guidoni (2000), conforme segue: $\text{RCM} (\%) = 65,92 - ((0,685 \times \text{ET}) + (0,094 \times \text{PL}) - (0,026 \times \text{PCR}))$.

O pH da carne foi medido no músculo *Longissimus dorsi*, com auxílio de um medidor de pH portátil digital HI 99163 (Hanna Instruments), na altura da última costela, 45 minutos após o abate (pH inicial) e 24 horas após o início do resfriamento (pH final), seguindo as recomendações de Bridi e Silva (2009).

Para avaliações qualitativas foram utilizadas três amostras (2,5 cm de espessura) do músculo *Longissimus dorsi*, na região de inserção da última vértebra torácica com a primeira lombar, no sentido caudal-cranial, conforme descrito por Bridi e Silva (2009). A primeira amostra foi utilizada para avaliação da cor, a segunda para a perda de água por gotejamento (PAG) e a terceira para determinação da perda de líquido por descongelamento (PLD) e cocção (PLC) e da força de cisalhamento (FC).

A PAG foi avaliada conforme a técnica descrita por Boccard et al. (1981). A PLD foi obtida pela diferença de peso da amostra congelada e após armazenamento por 24 horas a 4°C . A PLC foi obtida pela diferença de peso da amostra descongelada e após o cozimento em forno pré-aquecido a 170°C , até alcançarem a temperatura interna de 71°C (Bridi e Silva, 2009).

As amostras cozidas do músculo foram utilizadas para determinar a FC. Foram retiradas seis subamostras de formato cilíndrico (1,27 cm de diâmetro), longitudinalmente no sentido das fibras musculares (Ramos e Gomide, 2012). A FC foi tomada perpendicularmente à orientação das fibras musculares com a lâmina Warner-Bratzler adaptada no texturômetro Stable Mycro Systems TA-XT2i.

A mensuração da cor do músculo foi realizada na superfície, em três pontos diferentes de leitura por amostra, com o auxílio de um colorímetro portátil Minolta® CR-400 (iluminante

D65 e ângulo de visão de 0°). Os componentes L* (luminosidade), a* (componente vermelho-verde) e b* (componente amarelo-azul) foram expressos no sistema de cor CIELAB.

Em seguida, com valores obtidos de pH inicial, pH final, componente L* da cor e PAG, foi determinado a frequência de carnes PSE (do inglês *pale, soft and exudative*, ou seja, carne de cor clara, de textura mole e com baixa capacidade de retenção de água), segundo metodologia descrita por Warner et al. (1997), adaptada por Bridi e Silva (2009). As carnes foram classificadas como PSE quando apresentavam pH inicial menor que 5,8, pH final menor ou igual a 5,6, valor de L* maior que 50 e PAG maior que 5%.

A incidência de carne PSE foi quantificada em percentagem e os dados foram transformados para $y = \arcsin \sqrt{X/N}$, assumindo distribuição binomial, segundo metodologia descrita por Haddad e Vendramim (2000).

2.4. Expressão gênica

Imediatamente após o abate foram coletadas amostras de tecido do fígado (lobo medial esquerdo) e do músculo *Longissimus dorsi* (meia carcaça esquerda, na altura da última vértebra torácica) para análises de expressão gênica. Todos os materiais utilizados na coleta foram previamente tratados com inibidor de RNase (RNase Zap®, Life Technologies, Brasil). As amostras foram acondicionadas em microtubos contendo RNAlater® (Life Technologies, Brasil), refrigeradas por 24 horas em temperatura de 2-4°C e, em seguida, armazenadas em freezer a -18°C até o momento da extração de RNA.

O RNA total foi extraído com uso do reagente Trizol® (Invitrogen, Carlsbad CA, USA) de acordo com as normas do fabricante, e quantificado utilizando espectrofotômetro a 260 nm. A integridade do RNA foi avaliada em gel de agarose 1%, corado com brometo de etídio 10% e visualizado em luz ultravioleta. As amostras de RNA foram tratadas com DNase I (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) para remoção de possíveis resíduos de DNA genômico, de acordo com as recomendações do fabricante. A síntese de DNA complementar (cDNA) foi realizada com o kit SuperScript™ III First-Strand Synthesis Super Mix (Invitrogen Corporation, Brasil), conforme as especificações do fabricante, e armazenados a -20°C até o uso.

A expressão gênica das enzimas metionina sintase (MS) e CGL foram mensuradas por reação em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR) em tempo real, utilizado o corante fluorescente SYBR GREEN (Roche, Basel, Switzerland) e o equipamento LightCycler® 96 (Roche, Basel, Switzerland). Todas as análises foram realizadas em um volume de 20 µL e

em duplicatas. A ciclagem foi realizada de acordo com as recomendações do fabricante para o Kit utilizado.

Os pares de *primers* (direto e reverso) utilizados nas reações de amplificação dos controles endógenos testados (β -actina, GAPDH e HPRT1) e dos genes alvos (MS e CGL) foram construídos com base nas sequências disponíveis no banco de dados *GenBank* do NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov) para suínos (*Sus scrofa*), com o uso do programa www.idtdna.com (Tabela 2). A β -actina foi utilizada como controle endógeno por ter apresentado melhor eficiência e maior especificidade na reação.

Tabela 2. Sequência dos *primers* da metionina sintase (MS), cistationina- γ -lyase (CGL) e β -actina, utilizados na reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real

Gene	Gene ID ¹	Sequências dos primers (5'-3')	Amplicom (bp)	T _a (°C)
MS	XM_001927058.2	D: CACGGATGGCTTGGTCAATATC R: AGGTGGAACCTCTGGGCTTATAG	106	60
CGL	NM_001044585	D: CTCTGCAATCGAGGTCTGAAG R: GAGGGCAACCCAGGATAAATAA	128	60
β -actina	XM_003124280.3	D: CTTCTAGGCGGACTGTTAGTTG R: AGCCATGCCAATCTCATCTC	86	60

T_a: Temperatura de anelamento

¹Número de acesso no *GenBank* do NCBI.

Os resultados de expressão gênica foram gerados e registrados como valores de *threshold cycle* (Ct), e ajustados pela equação proposta por Coble et al. (2011), como segue:

$$\text{Ct ajustado} = 40 - [(\text{Ct médio do gene alvo}) + (\text{Ct mediano do controle endógeno} - \text{Ct médio do controle endógeno}) \times (\text{coeficiente de regressão do gene alvo} / \text{coeficiente de regressão do controle endógeno})].$$

2.5. Análises estatísticas

O procedimento UNIVARIATE foi aplicado para avaliar a presença de *outliers*. Em seguida, os dados referentes ao desempenho, variáveis sanguíneas, expressão gênica, características de carcaça e qualidade de carne foram submetidos à ANOVA, sendo os efeitos de bloco, dos níveis de Met+Cis digestíveis, da suplementação de vitamina B₆ e da interação Met+Cis e vitamina B₆ incluídos no modelo matemático, como segue:

$$Y_{ijk} = \mu + M_i + V_j + MV_{ij} + B_k + E_{ijk}$$

Onde: Y_{ijk} = variável de resposta; μ = média geral comum a todas as observações; M_i = efeito do i-ésimo nível de Met+Cis digestível (i = 1 a 4); V_j = efeito do j-ésimo nível de suplementação de vitamina B₆ (j = 1 e 2); MV_{ij} = efeito da interação do i-ésimo nível de

Met+Cis digestível com o j -ésimo nível de suplementação de vitamina B₆; B_k = efeito do k -ésimo bloco ($i = 1$ a 7); E_{ijk} = erro aleatório inerente a todas as observações.

Para as variáveis de desempenho, o peso inicial dos suínos foi utilizado como covariável, enquanto para avaliação das características de carcaça, foi utilizado o peso de abate como covariável. Quando não houve efeito significativo da covariável, a mesma foi retirada do modelo. Foi aplicado o Teste F sobre as médias obtidas para os níveis suplementares de vitamina B₆. Os graus de liberdade referentes aos níveis de Met+Cis digestíveis foram desdobrados em polinômios ortogonais, para obtenção das equações de regressão. Todos os testes de hipóteses foram realizados por intermédio do procedimento GLM (SAS Inst. Inc., Cary, NC, EUA), adotando o nível de significância de 5% ($P \leq 0,05$).

Para testar o efeito dos níveis de Met+Cis digestíveis sobre a incidência de carne PSE foi utilizado o teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

3. Resultados

Não houve interação ($P > 0,05$) entre os níveis suplementares de vitamina B₆ e os níveis de Met+Cis digestíveis, para todas as variáveis avaliadas (Tabelas 3 a 7). Não foi observado efeito da suplementação de vitamina B₆ e dos níveis de Met+Cis digestíveis sobre o CDR, GPD e a CA (Tabela 3). O consumo de Met+Cis digestível aumentou linearmente ($P < 0,01$) à medida que os níveis destes aminoácidos aumentaram nas rações.

Em relação as variáveis sanguíneas (Tabela 4), observou-se que os níveis de Met+Cis digestíveis proporcionaram efeito quadrático ($P < 0,01$) sobre a concentração plasmática de triglicerídeos, em que o menor valor (33,91 mg/dL) foi obtido para o nível de 0,575%. Os animais suplementados com 3,58 mg/kg de vitamina B₆ apresentaram maior ($P = 0,05$) nível plasmático de proteínas totais (6,36 vs 6,08 g/dL), em relação aos animais suplementados com 1,58 mg/kg.

Tabela 3. Desempenho de fêmeas suínas, dos 75 aos 100 kg, alimentadas com rações contendo diferentes níveis de metionina + cistina digestíveis e suplementação de vitamina B₆

Itens	Níveis de metionina + cistina digestíveis (%)										Erro padrão	Valor de P			
	0,370	0,470	0,570	0,670	Média	0,370	0,470	0,570	0,670	Média		Met+Cis	Regressão		
	1,58 mg B ₆ / kg de ração					3,58 mg B ₆ / kg de ração						x B ₆	B ₆	L	Q
CDR, kg	2,75	2,82	2,64	2,86	2,77	2,97	2,67	2,83	2,82	2,83	0,041	0,37	0,49	0,89	0,42
CD Met+Cis dig, g ¹	10,19	13,27	15,06	19,15	14,42	11,00	12,57	16,13	18,93	14,66	0,215	0,45	0,57	<0,01	0,20
GPD, kg	0,94	0,98	0,97	1,05	0,99	1,07	0,96	1,01	1,01	1,01	0,019	0,42	0,45	0,56	0,33
CA	2,92	2,87	2,74	2,75	2,82	2,79	2,81	2,85	2,80	2,82	0,031	0,45	0,82	0,36	0,66

CDR = Consumo diário de ração; CD Met+Cis dig = Consumo diário de metionina + cistina digestível; GPD = Ganho de peso diário e CA = Conversão alimentar. ¹Efeito linear (Y= -0,1043 + 28,1370X (R²=0,99)).

Tabela 4. Níveis plasmáticos de glicose, uréia, creatinina, triglicerídeos e proteínas totais de fêmeas suínas, dos 75 aos 100 kg, alimentadas com rações contendo diferentes níveis de metionina + cistina digestíveis e suplementação de vitamina B₆

Itens	Níveis de metionina + cistina digestíveis (%)										Erro padrão	Valor de P			
	0,370	0,470	0,570	0,670	Média	0,370	0,470	0,570	0,670	Média		Met+Cis	Regressão		
	1,58 mg B ₆ / kg de ração					3,58 mg B ₆ / kg de ração						x B ₆	B ₆	L	Q
Glicose, mg/dL	52,43	58,93	58,50	58,57	57,11	60,00	61,07	57,57	64,57	60,80	1,073	0,50	0,09	0,16	0,38
Uréia, mg/dL	21,71	23,81	19,57	22,05	21,79	23,76	21,67	22,81	23,86	23,02	0,623	0,46	0,33	0,88	0,80
Creatinina, mg/dL	1,44	1,71	1,65	1,43	1,56	1,84	1,61	1,49	1,69	1,66	0,045	0,10	0,30	0,45	0,76
Triglicerídeos, mg/dL ¹	43,93	41,58	36,29	36,92	39,68	53,43	34,36	31,33	37,21	39,08	1,517	0,24	0,89	0,01	<0,01
Proteínas totais, g/dL ²	6,39	6,24	6,03	5,68	6,08 ^b	6,39	6,35	6,40	6,28	6,36 ^a	0,067	0,41	0,05	0,08	0,16

¹Efeito quadrático (Y= 150,0684 - 404,1946X + 351,6267X² (R²= 0,96)). ²Médias seguidas por letras diferentes, na linha, diferem entre si pelo teste F (P ≤ 0,05).

As características de carcaça (PCQ, PCR, RCQ, PPCNR, RP, PL e RCM) e o peso relativo dos órgãos não foram influenciados ($P > 0,05$) pelos níveis de Met+Cis digestíveis e pela suplementação de vitamina B₆ (Tabela 5).

Não houve efeito da suplementação de vitamina B₆ e dos níveis de Met+Cis digestíveis sobre a expressão gênica, hepática e muscular, das enzimas MS e CGL e dos níveis séricos de homocisteína (Tabela 6).

Os níveis de Met+Cis digestíveis e a suplementação de vitamina B₆ não influenciaram os valores de pH (inicial e final), PAG e os componentes L*, a* e b* da cor do músculo *Longissimus dorsi* (Tabela 7). Também não foi observado efeito dos tratamentos sobre a frequência de carne PSE. Foi observado um aumento linear ($P = 0,05$) na PLD e uma resposta quadrática na PLC ($P = 0,01$) e FC ($P = 0,05$) em função dos níveis de Met+Cis digestíveis, em que os maiores valores de PLC (27,29%) e FC (2,20 Kgf) foram observados para os níveis de 0,528 e 0,539%, respectivamente.

Tabela 5. Características de carcaça e peso dos órgãos de fêmeas suínas, dos 75 aos 100 kg, alimentadas com rações contendo diferentes níveis de metionina + cistina digestíveis e suplementação de vitamina B₆

Itens	Níveis de metionina + cistina digestíveis (%)										Valor de P						
	0,370				0,470				0,570				Erro padrão	Met+Cis		Regressão	
	1,58 mg B ₆ / kg de ração				Média				3,58 mg B ₆ / kg de ração					x B ₆		B ₆	
PCQ, kg	80,79	80,20	79,90	79,69	80,15	79,95	80,83	80,82	80,25	80,46	0,165	0,68	0,13	0,73	0,76		
PCR, kg	78,63	77,98	77,63	77,28	77,88	77,64	78,57	78,57	77,95	78,18	0,175	0,60	0,17	0,65	0,72		
RCQ, %	83,67	83,25	82,69	82,81	83,11	83,91	83,37	83,76	83,66	83,68	0,171	0,71	0,12	0,29	0,46		
PPCNR, %	2,68	2,78	2,83	3,04	2,83	2,88	2,79	2,79	2,88	2,84	0,072	0,85	0,99	0,41	0,63		
RP, %	29,07	29,41	29,40	29,54	29,36	29,22	29,51	29,55	29,16	29,36	0,134	0,87	0,96	0,59	0,39		
PL, mm	57,41	58,50	59,94	60,55	59,10	59,96	59,37	59,67	60,31	59,83	0,582	0,77	0,51	0,23	0,48		
ET, mm	14,96	13,89	11,43	11,63	12,98	12,99	12,26	15,31	11,91	13,12	0,493	0,15	0,87	0,15	0,38		
RCM, %	52,32	52,94	54,48	54,42	53,54	53,41	53,99	51,86	54,12	53,34	0,328	0,17	0,75	0,19	0,42		
Peso dos órgãos, %																	
Fígado	1,84	1,82	1,66	1,84	1,79	1,73	1,70	1,76	1,76	1,74	0,025	0,44	0,40	0,97	0,31		
Rins	0,47	0,49	0,50	0,46	0,48	0,51	0,48	0,47	0,46	0,48	0,007	0,28	0,87	0,15	0,29		

PCQ= Peso de carcaça quente; PCR= Peso de carcaça resfriada; RCQ= Rendimento de carcaça quente; PPCNR= Perda de peso de carcaça no resfriamento; RP= Rendimento de pernil; PL= Profundidade do músculo *Longissimus dorsi*; ET= Espessura de toucinho; RCM= Rendimento de carne magra.

Tabela 6. Expressão gênica¹ da metionina sintase (MS) e cistationina- γ -lyase (CGL), no fígado (f) e no músculo (m), e níveis séricos de homocisteína de fêmeas suínas, dos 75 aos 100 kg, alimentadas com rações contendo diferentes níveis de metionina + cistina digestíveis e suplementação de vitamina B₆

Itens	Níveis de metionina + cistina digestíveis (%)										Valor de P						
	0,370				0,470				0,570				Erro padrão	Met+Cis		Regressão	
	1,58 mg B ₆ / kg de ração				Média				3,58 mg B ₆ / kg de ração					x B ₆		B ₆	
MSm	8,16	7,83	8,24	7,39	7,90	8,28	8,54	7,15	7,60	7,89	0,204	0,47	0,97	0,13	0,32		
CGLm	7,88	7,99	9,01	7,21	8,02	8,08	8,59	7,84	8,64	8,29	0,234	0,30	0,58	0,55	0,10		
MSf	9,20	9,38	9,24	9,88	9,42	10,34	9,80	9,82	9,74	9,93	0,178	0,65	0,18	0,97	0,51		
CGLf	11,24	10,77	11,25	15,24	12,12	14,95	13,60	13,14	11,56	13,31	0,711	0,29	0,42	0,89	0,46		
Homocisteína, μ mol/L	29,00	28,70	27,93	26,40	28,01	19,47	27,63	23,81	27,31	24,55	0,819	0,20	0,08	0,43	0,72		

¹Expressado como unidade arbitrária (UA).

Tabela 7. Características qualitativas do *Longissimus dorsi* de fêmeas suínas, dos 75 aos 100 kg, alimentadas com rações contendo diferentes níveis de metionina + cistina digestíveis e suplementação de vitamina B₆

Itens	Níveis de metionina + cistina digestíveis (%)										Valor de P						
	0,370				0,470				0,570				Erro padrão	Met+Cis		Regressão	
	1,58 mg B ₆ / kg de ração				3,58 mg B ₆ / kg de ração				Média					x B ₆	B ₆	L	Q
pH inicial	6,27	6,18	6,14	6,27	6,22	6,22	6,53	6,12	6,20	6,27	0,032	0,09	0,42	0,49	0,79		
pH final	5,61	5,71	5,55	5,61	5,62	5,65	5,70	5,60	5,60	5,64	0,023	0,95	0,69	0,34	0,56		
PAG, %	4,00	3,54	3,19	3,82	3,63	4,47	3,13	3,02	3,37	3,50	0,214	0,86	0,75	0,28	0,11		
PLD, % ¹	6,29	6,14	7,59	6,71	6,68	6,36	6,56	7,41	7,81	7,03	0,213	0,74	0,45	0,05	0,24		
PLC, % ²	24,68	27,11	27,88	26,30	26,49	24,11	27,36	25,67	23,98	25,28	0,383	0,59	0,13	0,78	0,01		
Cor L*	56,75	54,57	55,18	53,37	54,97	54,00	52,74	52,99	54,45	53,54	0,350	0,25	0,08	0,31	0,37		
Cor a*	7,24	6,53	6,32	7,11	6,80	6,58	6,65	6,69	7,08	6,75	0,153	0,68	0,86	0,73	0,15		
Cor b*	5,54	4,57	4,68	4,38	4,80	4,29	4,08	4,33	4,90	4,40	0,104	0,08	0,09	0,50	0,08		
FC, Kgf ³	1,96	2,02	2,06	2,08	2,03	1,90	2,34	2,25	2,03	2,13	0,044	0,39	0,37	0,45	0,05		
PSE, % ⁴	0,00	14,29	0,00	0,00	3,57	0,00	0,00	0,00	14,29	3,57	2,290	-	-	-	-		

PAG= Perda de água por gotejamento; PLD= perda de líquido por descongelamento; PLC= perda de líquido por cocção; FC= Força de cisalhamento. ¹Efeito linear ($Y= 4,8350 + 3,9095X$ ($R^2= 0,70$)); ²Efeito quadrático ($Y= -3,8410 + 117,9103X - 111,6594X^2$ ($R^2= 0,94$)); ³Efeito quadrático ($Y= -0,4526 + 9,8328X - 9,1141X^2$ ($R^2= 0,87$)). ⁴Não significativo pelo teste Tukey ($P > 0,05$), para dados transformados em $y= \arcsen \sqrt{X/N}$.

4. Discussões

Considerando a temperatura ambiente ($20,95 \pm 3,37^{\circ}\text{C}$) e a umidade relativa do ar ($69,2 \pm 13,13\%$), registrada durante o período experimental, pode-se inferir que os animais não foram submetidos a condições ambientais extremas, pois Ferreira (2005) considera as temperaturas de 5 e 27°C como sendo a crítica mínima e máxima, respectivamente, e umidade relativa do ar ideal entre 50 e 70% para suínos na fase de terminação.

Segundo Le Bellego e Noblet (2002) e Moura et al. (2006), o possível desequilíbrio de aminoácidos da ração, causado pela deficiência ou pelo excesso de Met+Cis digestível, influencia negativamente o consumo voluntário dos animais. Apesar da grande variação dos níveis de Met+Cis digestíveis (0,370-0,670%) avaliados neste trabalho, o CDR dos animais não foi influenciado. Desta forma, pode-se inferir que o maior nível estudado (0,670%) não representou um excesso, pois dentre os aminoácidos, o excesso de metionina é o que causa maior queda no consumo (Edmonds et al., 1987).

O consumo de Met+Cis digestível aumentou linearmente à medida que se elevou o nível desses aminoácidos na ração, pois está diretamente relacionado aos níveis crescentes de Met+Cis digestíveis, uma vez que o CDR não alterou.

A metionina é considerada um aminoácido limitante para suínos na fase de terminação, pois está envolvida em várias vias metabólicas, e dentre as principais funções encontra-se a síntese de proteínas (primer no processo de tradução) e seu papel como precursora de outros aminoácidos, notadamente da cisteína que, assim como a metionina, também é utilizada para a síntese de proteína corporal. A SAM é o mais importante doador de grupos CH_3 no organismo e está envolvida na biossíntese de componentes importantes para o crescimento e desenvolvimento dos suínos, como a creatina, carnitina e as poliaminas (Brosnan e Brosnan, 2006; Nelson e Cox, 2014). Desta forma, a deficiência de metionina pode limitar o máximo desempenho dos animais.

No entanto, os níveis de Met+Cis digestíveis avaliados não influenciaram o GPD e a CA dos animais, evidenciando que o nível de 0,370%, correspondente ao consumo de 10,60 g/dia e uma relação de 0,48% com a lisina digestível, foi suficiente para atender às exigências para máximo desempenho dos animais.

Foram encontradas poucas pesquisas em que os níveis de Met+Cis foram avaliados para fêmeas suínas na fase de terminação. Loughmiller et al. (1998), em estudos com fêmeas suínas dos 72 aos 104 kg, observaram que a exigência de Met+Cis foi de 0,350%, para máximo GPD e melhor CA, correspondente a uma relação de 0,50% com a lisina digestível. Em outro estudo, Knowles et al. (1998) obtiveram relações Met+Cis:Lis variando de 0,40-

0,47%, com base no desempenho e nas características de carcaça de fêmeas suínas dos 74 aos 110 kg. Segundo estes autores, a ótima relação Met+Cis:Lis não é superior a 0,47% para máximo desempenho, que corresponde a 0,306% de Met+Cis na ração. Os resultados encontrados nestas pesquisas sustentam os achados deste estudo, de que a exigência de Met+Cis digestível é de no máximo 0,48% das exigências de lisina digestível.

Uma vez que o aumento do consumo de Met+Cis digestível não influenciou negativamente o desempenho dos animais, pode-se inferir que, a metionina consumida acima do nível de 370% de Met+Cis digestível, pode ter sido utilizada para outras funções fisiológicas em detrimento da deposição de proteína, conforme sugerido por Chung e Baker (1992) e Vaz et al. (2005).

Esta hipótese é reforçada pelos níveis plasmáticos de glicose e uréia, uma vez que não foram influenciados pelo aumento dos níveis de Met+Cis digestível. Segundo Stipanuk (2004) e Nelson e Cox (2014), os aminoácidos fornecidos em excesso precisam ser catabolizados no organismo. Após a deaminação da metionina é produzido o α -cetoácido succinil-CoA, que será convertido a piruvato. Em seguida, o piruvato pode ser empregado no ciclo do ácido cítrico, gerando energia, ou poderá ser empregado na via da gliconeogênese, gerando moléculas de glicose. Já o nitrogênio resultante pode ser utilizado para a síntese de outros compostos nitrogenados ou simplesmente excretado na forma de uréia, representando um gasto de energia para o organismo.

Um dos possíveis destinos metabólicos da metionina pode estar relacionado à doação de grupamentos metílicos para a síntese de biomoléculas como a carnitina, que é essencial para o metabolismo de lipídios, pois está envolvida no transporte de ácidos graxos de cadeia longa na membrana mitocondrial. O Acil-graxo liga-se a carnitina para compor a Acil graxo-carnitina, possibilitando o seu transporte do citosol para a matriz mitocondrial, para ser oxidado e gerar energia (Ramsay et al., 2001; Stephens et al., 2007; Strijbis et al., 2008; Apple et al., 2011). Desta forma, a carnitina pode reduzir os ácidos graxos livres disponíveis para a biossíntese de lipídios, o que, em parte, pode estar relacionado à redução dos triglicerídeos plasmático até o nível de 0,575% de Met+Cis digestível. No entanto, os níveis de Met+Cis digestíveis não influenciaram a ET, assim como o RCM e as demais características de carcaça.

A ausência de respostas significativas para as variáveis de carcaça corrobora os resultados observados em pesquisas anteriores, pois Lenis et al. (1990) e Loughmiller et al. (1998) também não observaram alterações nas características de carcaça em função do aumento da relação Met+Cis:Lis. Por outro lado, Knowles et al. (1998) observaram uma redução na

deposição de gordura de fêmeas suínas (74 a 110 kg) em função do aumento da relação Met+Cis:Lis (0,35 a 0,65%).

As concentrações séricas de homocisteína não foram alteradas em função do aumento dos níveis de Met+Cis digestíveis nas rações, sugerindo que o possível excesso tenha sido metabolizado, pois tanto a remetilação quanto a transulfuração podem prevenir o excesso de homocisteína. Na remetilação a homocisteína é reconvertida em metionina pela ação da MS e/ou *betaína-homocisteína metil-transferase* (BHMT), já na via da transulfuração a homocisteína é convertida irreversivelmente em cisteína, pela ação das enzimas CBS e CGL.

A regulação destas vias deve-se ao controle alostérico da SAM na atividade de algumas enzimas. Quando a concentração de metionina aumenta ocorre uma elevada concentração de SAM que reduz a quantidade de grupos metil no ciclo por inibir as atividades das enzimas envolvidas na remetilação de homocisteína, tais como a BHMT e a *metileno-tetrahydrofolato-redutase* (MTHFR), assim como estimula a atividade da CBS, responsável pela perda irreversível de homocisteína.

Por outro lado, quando a concentração de metionina é baixa, as concentrações de SAM diminuem e a atividade da CBS retorna ao normal, conservando homocisteína para remetilação (Prudova et al., 2006; Nijhout et al., 2006). Contudo, a deficiência de algumas vitaminas (B₆, B₁₂ e folato), utilizadas como cofatores enzimáticos, também podem alterar a atividade das enzimas envolvidas no metabolismo da metionina, prejudicando o controle das concentrações de homocisteína (Lima et al., 2006; Zhang et al., 2009).

A vitamina B₆ na sua forma ativa (PLP) é cofator enzimático para três enzimas do metabolismo da metionina: SHMT, CBS e CGL, sendo as duas últimas relacionadas à via da transulfuração, considerada a principal via de eliminação do excesso de homocisteína (Brosnan e Brosnan, 2006; Stipanuk e Ueki, 2011). Desta forma, pode-se inferir que a menor suplementação de vitamina B₆ (1,58 mg/kg de ração) foi eficiente na metabolização da homocisteína pela via da transulfuração. Esta observação é consistente com o estudo de Miller et al. (1994), onde os autores observaram que ratos deficientes em vitamina B₆ apresentavam níveis sanguíneos de homocisteína semelhante aos não deficientes, contudo, quando fornecido um excesso de metionina, foi observado um aumento de 30 vezes na concentração de homocisteína em relação aos animais que receberam o tratamento controle.

Apesar dos tratamentos não terem influenciado os níveis séricos de homocisteína, o valor médio (26,28 µmol/L) encontrado em nosso estudo está acima do considerado normal para seres humanos, pois Venâncio et al. (2009) e Beard e Bearden (2011) classificaram os níveis compreendidos entre 5-15 e 16-30 µmol/L como quadro clínico normal e de hiper-

homocisteinemia moderado, respectivamente. Estes resultados sustentam os relatos de Giguère et al. (2005); França et al. (2006) e Zhang et al. (2009) que apontam para uma possível diferença entre as espécies.

Não houve interação entre a suplementação de vitamina B₆ e os níveis de Met+Cis digestíveis sobre a expressão gênica, hepática e muscular das enzimas MS e CGL, assim como os níveis suplementares de vitamina B₆ e os níveis de Met+Cis individualmente não influenciaram estas variáveis. Estes resultados diferem dos encontrados por Sato et al. (1996), que observaram aumento na taxa de renovação da enzima CGL em roedores submetidos a dietas deficientes em vitamina B₆. Contudo, Zhang et al. (2009) não observaram alterações na expressão gênica hepática das enzimas CBS e CGL, mesmo avaliando níveis extremos (0 e 3 mg/kg de ração) de vitamina B₆ para leitões recém-desmamados. Desta forma, os resultados obtidos proporcionam indícios de que a expressão gênica das enzimas MS e CGL em suínos é pouco influenciada pelos níveis de vitamina B₆ e de Met+Cis digestíveis avaliados no presente estudo.

No estudo de Zhang et al. (2009), apesar da vitamina B₆ não ter influenciado a expressão gênica hepática das enzimas CBS e CGL, a deficiência desta vitamina reduziu a atividade das enzimas CBS, CGL e SHMT (PLP-dependentes), juntamente com um quadro de homocisteinemia grave, que foi atribuído, principalmente, à menor atividade das enzimas CBS e CGL, responsáveis pela eliminação do excesso de homocisteína pela via da transulfuração. Segundo os autores, os níveis sanguíneos de homocisteína podem ser utilizados como índice para indicar o estado de fornecimento da vitamina B₆ para suínos.

Além de garantir o máximo desempenho dos animais, o fornecimento adequado de Met+Cis também pode melhorar atributos de qualidade de carne, como cor, capacidade de retenção de água e maciez.

Uma das principais causas da perda de qualidade da carne suína é o rápido e extenso declínio do pH *post-mortem*, devido ao acúmulo de ácido lático proveniente da glicólise anaeróbica, antes que a carcaça tenha se resfriado com eficiência (Adzitey e Nurul, 2011). Esta combinação de baixo pH e alta temperatura leva à desnaturação de proteínas musculares, especialmente a miosina e a mioglobina (principal pigmento da carne) resultando em carnes de cor clara e baixa capacidade de retenção de água (Soares et al., 2003; Scheffler e Gerrard, 2007; Barbut et al., 2008), que são características da carne PSE.

A metionina, na forma de SAM, atua como doador de grupos metil para a biossíntese de várias substâncias, entre elas a creatina. Na sua forma fosforilada (fosfocreatina) a creatina constitui uma importante reserva energética para o músculo, sendo prontamente utilizada na

resíntese de ATP ($\text{ADP} + \text{fosfocreatina} = \text{ATP} + \text{creatina}$), à medida é utilizado no metabolismo muscular. A produção de ATP, a partir da fosfocreatina, é particularmente importante uma vez que não envolve a via glicolítica e a produção de ácido láctico (Berg e Allee, 2001; Janicki e Buzala, 2013). Desta forma, o fornecimento adequado de metionina para a síntese de creatina pode reduzir a velocidade e intensidade de queda do pH *post-mortem*.

Não houve efeito dos níveis de Met+Cis digestíveis sobre os valores de pH muscular (inicial e final), evidenciado que o fornecimento de Met+Cis digestível acima de 0,370% não alterou a taxa glicolítica das células no período *post-mortem*. Os níveis plasmáticos de creatinina, mensurados 18 horas antes do abate, também não variaram em função dos níveis de Met+Cis digestíveis. A creatinina é o produto final da degradação da creatina e fosfocreatina no músculo esquelético, sendo difundida do músculo para a corrente sanguínea e, posteriormente, excretada na urina (Brosnan et al., 2007; Nelson e Cox, 2014).

No geral, os valores de pH inicial obtidos apresentaram-se dentro do limite normal ($\geq 5,8$), contudo, os valores de pH final encontraram-se abaixo ou próximos aos níveis do limite mínimo ($\leq 5,6$) sugeridos por Bridi e Silva (2009). De acordo com Latorre et al. (2008) isso, provavelmente, ocorre devido à elevada reserva de glicogênio no músculo no momento do abate, permitindo alta queda do pH.

A oxidação lipídica que ocorre no músculo, no período *post-mortem*, representa outra causa de perda de qualidade das carnes (Soares et al., 2009). Os principais substratos envolvidos na oxidação são os ácidos graxos poliinsaturados que compõem os fosfolipídios das membranas celulares (Mitchothai et al., 2007; Devatkal e Naveena, 2010). Assim, o controle dos processos oxidativos torna-se importante na carne de suínos, uma vez que é rica em ácidos graxos poliinsaturados.

No metabolismo a metionina pode ser convertida em cisteína que, por sua vez, é utilizada para a síntese de GSH, importante agente antioxidante das células. A cisteína formada é ainda requerida para síntese de selenocisteína, que faz parte do centro ativo da *glutathione peroxidase* (GPx), enzima do sistema antioxidante da GSH (Boler et al., 2009; Lu, 2013). Este sistema é responsável pela redução de hidroperóxidos orgânicos (ex.: lipoperóxido) e peróxidos de hidrogênio em álcool e água, respectivamente, evitando a peroxidação dos lipídios de membrana, mantendo sua integridade (Barber; Harris, 1994; Wang et al., 2009). A ação antioxidante da GSH previne ainda a oxidação de proteínas como a mioglobina e proteínas miofibrilares, preservando a cor e a capacidade de retenção de água da carne (Mancini e Hunt, 2005; Elisabeth e Steven, 2005; Wang et al., 2009). A metionina também é

requerida para a biossíntese de fosfatidilcolina, fosfolípido mais abundante nas membranas celulares de mamíferos (Zeisel et al., 2006), sendo fundamental na manutenção da integridade da membrana e na taxa de fluidos das células.

Os componentes L^* , a^* e b^* da cor, assim como a PAG da carne não foram influenciados pelos níveis de Met+Cis digestíveis nas rações, indicando que o fornecimento acima de 0,370% não melhorou a estabilidade oxidativa e a integridade das membranas celulares. Estes resultados corroboram com os de pH (inicial e final), que também não variaram, já que estas variáveis são relacionadas (Scheffler e Gerrard, 2007). No entanto, é importante ressaltar que os animais deste estudo não foram submetidos a grandes condições de estresse pré-abate, tais como jejum prolongado, restrição hídrica ou transporte, fatores que modulam o metabolismo muscular.

Os níveis de Met+Cis digestíveis e a suplementação de vitamina B₆ não influenciaram a incidência de carne PSE, e apesar disso, todos os tratamentos apresentaram carnes muito clara, ou seja, valor de L^* muito alto, já que Bridi e Silva (2009) consideram padrão normal de L^* da carne suína valor inferior a 49. Segundo Latorre et. al (2008), a cor da carne de suínos cruzados tende a ser mais clara (maior valor de L^*), podendo ser uma explicação para os resultados encontrados, uma vez que no presente estudo foram utilizado animais mestiços (Topigs 20 x Talent).

Embora os níveis de Met+Cis digestíveis não tenham influenciado a PAG, observou-se um aumento linear na PLD e uma resposta quadrática para a PLC, em função do aumento dos níveis de Met+Cis digestíveis. A FC também foi influenciada pelos níveis crescentes de Met+Cis digestíveis, observando um efeito quadrático que pode ser explicado em partes pelo aumento na PLC, já que estas variáveis estão relacionadas (Ramos e Gomide, 2012). Os valores obtidos para FC estão numa faixa de maciez extrema, uma vez que Lyon e Lyon (1991) classificaram valores inferiores a 3,62 Kgf como sendo de maciez extrema para o *Longissimus dorsi* no suíno.

De acordo com os dados de desempenho, características de carcaça e qualidade de carne, a exigência de Met+Cis digestível para fêmeas suínas, dos 75 aos 100 kg, foi de no máximo 0,370%, que corresponde ao consumo de 10,60 g/dia. Este consumo é inferior a 14,50 g/dia sugerido por Rostagno et al. (2011) para fêmeas suínas, dos 70 aos 100 kg mas é superior às 10,55 g de metionina + cisteína/dia apresentado pelo NRC (2012) para fêmeas suínas, dos 75 aos 100 kg. Considerando a relação metionina:cisteína de 0,50% apresentada pelo NRC (2012) e o princípio de que duas moléculas de cisteína são necessárias para formar uma cistina (Lewis, 2003), recomenda-se expressar as exigências de AAS como metionina +

cisteína, uma vez que uma molécula de metionina pode ser transulfurada em uma molécula de cisteína, ou seja, apresenta uma relação 1:1, pois se as exigências forem expressas em Met+Cis devera-se conhecer o déficit de cistina para se proceder com a suplementação de metionina para atender uma relação 2:1, uma vez que são necessárias duas moléculas de metionina para que haja a síntese de uma molécula de cistina. Além disso, a literatura estrangeira (NRC, 2012) já apresenta as exigências dos AAS como metionina + cisteína.

5. Conclusões

A exigência de metionina + cistina digestível para fêmeas suínas, dos 75 aos 100 kg, é de no máximo 10,60 g/dia, que corresponde ao nível de 0,370% na ração e a uma relação de 0,48% com a lisina digestível, com base nas variáveis de desempenho, características de carcaça e qualidade de carne.

Referências

- Adzitey, F., Nurul, H., 2011. Pale soft exudative (PSE) and dark firm dry (DFD) meats: causes and measures to reduce these incidences – a mini review. *Int. Food Res. J.* 18, 11–20.
- Apple, J.K., Sawyer, J.T., Maxwell, C.V., Yancey, J.W.S., Frank, J.W., Woodworth, J.C., Musser, R.E., 2011. Effects of l-carnitine supplementation on quality characteristics of fresh pork bellies from pigs fed 3 levels of corn oil. *J. Anim. Sci.* 89, 2878–2891.
- Barber, A.D., Harris, S.R., 1994. Oxygen free radicals and oxidants: a review. *Am. Pharm.* 34, 26–35.
- Barbut, S., Sosnicki, A.A., Lonergan, S.M., Knapp, T., Ciobanu, D.C., Gatcliffe, L.J., Huff-Lonergan, E., Wilson, E.W., 2008. Progress in reducing the pale, soft and exudative (PSE) problem in pork and poultry meat. *Meat Sci.* 79, 46–63.
- Beard Jr., R.S., Bearden, S.E., 2011. Vascular complications of cystathionine-synthase deficiency: future directions for homocysteine-to-hydrogen sulfide research. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 300, 13–26.
- Berg, E.P., Allee, G.L., 2001. Creatine monohydrate supplemented in swine finishing diets and fresh pork quality: I. A controlled laboratory experiment. *J. Anim. Sci.* 79, 3075–3080.
- Boccard, R., Buchter, L., Casteels, E., Cosentino, E., Dransfield, E., Hood, D. E., Joseph, R. L., Macdougall, D. B., Rhodes, D. N., Schön, I., Tinbergen, B. J., Touraille, C., 1981. Procedures for measuring meat quality characteristics in beef production experiments. Report of a working group in the Commission of the European Communities' (CEC) beef production research programme. *Livest. Prod. Sci.* 8, 385–397.
- Boler, D.D., Gabriel, S.R., Yang, H., Balsbaugh, R., Mahan, D.C., Brewer, M.S., Mckeith, F.K., Killefer, J., 2009. Effect of different dietary levels of natural-source vitamin E in grow-finish pigs on pork quality and shelf life. *Meat Sci.* 83, 723–730.
- Bridi, A.M., Silva, C.A., 2009. Avaliação da Carne Suína. Midigrift, Londrina, PR, Brazil.
- Brosnan, J.T., Brosnan, M.E., 2006. The sulfur-containing amino acids: an overview. *J. Nutr.* 136, 1636S–1640S.

- Brosnan, M.E., Edison, E.E., Silva, R., Brosnan, J.T., 2007. New insights into creatine function and synthesis. *Adv. Enzyme Regul.* 47, 252–260.
- Cai, Y., Zimmerman, D.R., Ewan, R.C., 1994. Diurnal variation in concentrations of plasma urea nitrogen and amino acids in pigs given free access to feed or fed twice daily. *J. Nutr.* 124, 1088–1093.
- Chung, T.K., Baker, D.H., 1992. Ideal amino acid pattern for 10-kilogram pigs. *J. Anim. Sci.* 70, 3102–3111.
- Coble, D.J., Redmond, S.B., Hale, B., Lamont, S.J., 2011. Distinct lines of chickens express different splenic cytokine profiles in response to *Salmonella Enteritidis* challenge. *Poult. Sci.* 90, 1659–1663.
- Demuth, K., Ducros, V., Michelsohn, S., Paul, J., 2004. Evaluation of a sensitive automated chemiluminescence immunoassay for determining total homocysteine in plasma. *Clin. Chim. Acta* 349, 113–20.
- Devatkal, S.K., Naveena, B.M., 2010. Effect of salt, kinnow and pomegranate fruit byproduct powders on color and oxidative stability of raw goat meat during refrigerated storage. *Meat Sci.* 85, 306–311.
- Edmonds, M.S., Gonyou, H.W., Baker, D.H., 1987. Effect of excess levels of excess methionine, tryptophan, arginine, lysine or threonine on growth and dietary choice in the pig. *J. Anim. Sci.* 65, 179–185.
- Elisabeth, H.L., Steven, M.L., 2005. Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat Sci.* 71, 194–204.
- Ferreira, R.A., 2005. *Maior produção com melhor ambiente para aves, suínos e bovinos. Aprenda Fácil, Viçosa, MG, Brasil.*
- França, L.H.G., Pereira, A.H., Perini, S.C., Aveline, C.C., Argenta, R., Mollerke, R.O., Soares, M.E., Nóbrega, F., Ferreira, M.P., 2006. Aterogênese em artéria ilíaca comum de suínos submetidos à homocisteinemia induzida pela ingestão de metionina. *J. Vasc. Bras.* 5, 11–16.
- Giguère, A., Girard, C., Matte, J.J., 2005. Interaction between folic acid (vitamin B9), vitamin B12 and methionine in growing-finishing pigs: impact on growth performance and meat quality. *Journ. Rech. Porc.* 37, 275–282.
- Gonçalves, F.M., Corrêa, M.N., Anciuti, M.A., Gentilini, F.P., Zanusso, J.T., Rutz, F., 2009. Nutrigenômica: situação e perspectivas na alimentação animal. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias* 104, 5–11.
- Guidoni, A. L. Melhorias de processos para a tipificação e valorização de carcaças suínas no Brasil. In: *Conferência Internacional Virtual Sobre a Qualidade de Carne Suína, 1., 2000, Concórdia. Anais...Concórdia: EMBRAPA/CNPISA, 2000. p. 221–234.*
- Haddad, M., Vendramim, J.D., 2000. Comparação de Porcentagens Observadas com Casos Extremos de 0 e 100%. *An. Soc. Entomol. Brasil.* 29, 835–837.
- Janicki, B., M. Buzala., 2013. The role of creatine in the organism of pigs and its effect on the quality of pork: a review. *Ann. Anim. Sci.* 13, 207–215.
- Knowles, T.A., Southern, L.L., Binder, T.D., 1998. Ratio of total sulfur amino acids to lysine for finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 76, 1081–1090.
- Latorre, M.A., Pomar, C., Faucitano, L., Gariépy, C., Méthot, S., 2008. The relationship within and between production performance and meat quality characteristics in pigs from three different. *Livest. Sci.* 115, 258–267.
- Le Bellego, L., Noblet, J., 2002. Performance and utilization of dietary energy and amino acids in piglets fed low protein diets. *Livest. Prod. Sci.* 76, 45–58.
- Lenis, N.P., Van Diepen, J.T.H.M., Goedhart, P.W., 1990. Amino acid requirements of pigs. 1. Requirements for methionine + cystine, threonine and tryptophan of fast-growing boars and gilts, fed ad libitum. *Neth. J. Agric. Sci.* 38, 577–595.

- Lewis, A.J., 2003. Methionine–Cystine relationships in pig nutrition. In: D` Mello J.P.F. (ed). Amino acids in farm animal nutrition. CABI Publishing, Wallingford UK, p.143–155.
- Lima, C.P., Davis, S.R., Mackey, A.D., Scheer, J.B., Williamson, J.J., Gregory, F., 2006. Vitamin B–6 deficiency suppresses the hepatic transsulfuration pathway but increases glutathione concentration in rats fed AIN–76A or AIN–93G diets. *J. Nutr.* 136, 2141–2147.
- Loughmiller, J.A., Nelssen, J.L., Goodband, R.D., Tokach, M.D., Titgemeyer, E.C., Kim, I.H., 1998. Influence of dietary total sulfur amino acid and methionine on growth performance and carcass characteristics in finishing gilts. *J. Anim. Sci.* 76, 2129–2137.
- Lu, S.C., 2013. Glutathione synthesis. *Biochim. Biophys. Acta* 1830, 3143–3153.
- Lyon, B.G., Lyon, C.E., 1991. Research note: shea r value ranges by instron warner–bratzler and single–blade allo–kramer devices that correspond to sensory tenderness. *Poult. Sci.* 70, 188–191.
- Mancini, R.A., Hunt, M.C., 2005. Current research in meat color. *Meat Sci.* 71, 100–121.
- Miller J.W., Nadeau M.R., Smith D., Selhub J., 1994. Vitamin B6 deficiency vs. folate deficiency: comparison of responses to methionine loading in rats. *Am. J. Clin. Nutr.* 59, 1033–1039.
- Mitchaonthai, J., Yuangklang, C., Wittayakun, S., Vasupen, K., Wongsutthavas, S., Srenanul, P., Hovenier, R., Everts, H., Beynen, A.C., 2007. Effect of dietary fat type on meat quality and fatty acid composition of various tissues in growing–finishing swine. *Meat Sci.* 76, 95–101.
- Moreno, A.M., Sobestyanky, J., Lopez, A.C., Sobestiansky, A.A.B., 1997. Colheita e processamento de amostras de sangue em suínos para fins de diagnóstico. Concórdia: EMBRAPA–CNPSA (EMBRAPA–CNPSA. Documentos, 41), 30p.
- Moura, J.O., Brustolini, P.C., Silva, F.C.O., Donzele, J.L., Ferreira, A.S., Paula, E., 2006. Exigências de aminoácidos sulfurados digestíveis para suínos machos castrados e fêmeas de 15 a 30 kg. *Rev. Bras. Zootec.* 35, 1085–1090.
- NRC. 2012. Nutrients requirement of swine. 11th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- Nelson, D.L., Cox, M.M., 2014. Princípios de Bioquímica de Lehninger. 6th ed., Artmed, Porto Alegre.
- Nijhout, H.F., Reed, M.C., Anderson, D.F., Mattingly, J.C., James, J. And Ulrich, C.M., 2006. Long–range allosteric interactions between the folate and methionine cycles stabilize DNA methylation reaction rate. *Epigenetics* 1, 81–87.
- Prudova A., Bauman Z., Braun A., Vitvitsky V., Lu S.C., Banerjee R., 2006. S–adenosylmethionine stabilizes cystathionine β –synthase and modulates redox capacity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 103, 6489–6494.
- Ramos, E.M., Gomide, L.A.M., 2012. Avaliação da qualidade de carnes: Fundamentos e Metodologias. UFV, Viçosa. MG, Brasil.
- Ramsay, R R., Gandour, R.D., Van Der Leij, F.R., 2001. Molecular enzymology of carnitine transfer and transport. *Biochim. Biophys. Acta* 1546, 21–43.
- Rostagno, H.S., Albino, L.F.T., Donzele, J.L., Gomes, P.C., Oliveira, R.F., Lopes, D.C., Ferreira, A.S., Barreto, S.L.T., Euclides, R.F., 2011. Tabelas brasileiras para aves e suínos, composição de alimentos e exigências nutricionais. 3th. ed. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil.
- Sato, A., Nishioka, M., Awato, S., Nakayama, K., Okada, M., Horiuchi, S., Okabe, N., Sassa, T., Oka, T., Natori, Y., 1996. Vitamin B6 deficiency accelerates metabolic turnover of cystathionase in rat liver. *Arch. Biochem. Biophys.* 330, 409–413.
- Scheffler, T.L., Gerrard, D.E., 2007. Mechanisms controlling pork quality development: The biochemistry controlling postmortem energy metabolism. *Meat Sci.* 77, 7–16.

- Shoveller, A.K., House, J.D., Brunton, J.A., Pencharz, P.B., Bal, R.O. 2004. The Balance of Dietary Sulfur Amino Acids and the Route of Feeding Affect Plasma Homocysteine Concentrations in Neonatal Piglets. *J. Nutr.* 134, 609–612.
- Soares, A.L., Ida, E.I., Miyamoto, S., Hernández–Blazquez, F.J., Olivo, R., Pinheiro, J., Shimokomaki, M., 2003. Phospholipase A2 activity in poultry PSE, pale, soft, exudative, meat. *J. Food Biochem.* 27, 309–320.
- Soares, A.L., Marchi, D.F., Matsushita, M., Guarnieri, P.D., Droval, A.A., Ida, E.I., Shimokomaki, M., 2009. Lipid oxidation and fatty acid profile related to broiler breast meat color abnormalities. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 52, 1513–1518.
- Stipanuk, M.H., 2004. Sulfur amino acid metabolism: pathways for production and removal of homocysteine and cysteine. *Annu. Rev Nutr.* 24, 539–577.
- Stipanuk, M.H., Ueki, I., 2011. Dealing with methionine/homocysteine sulfur: cysteine metabolism to taurine and inorganic sulfur. *J. Inherit. Metab. Dis.* 34, 17–32.
- Strijbis, K., Van Roermund, C.W., Visser, W.F., Mol, E.C., Van Den Burg, J., Maccallum, D.M., Odds, F.C., Paramonova, E., Krom, B.P., Distel, B., 2008. Carnitine–dependent transport of acetyl coenzyme A in *Candida albicans* essential for growth on nonfermentable carbon sources and contributes to biofilm formation. *Eukaryot. Cell.* 7, 610–618.
- Stephens, F.B., Constantin–Teodosiu, D., Greenhaff, P.L., 2007. New insights concerning the role of carnitine in the regulation of fuel metabolism in skeletal muscle. *J. Physiol.* 581, 431–444.
- Vaz, R.G.M.V., Oliveira, R.F., Donzele, M.J.L., Ferreira, A.S., Silva, F.C.O., Kiefer, C., Siqueira, J.C., Rezende, W.O., 2005. Exigência de Aminoácidos Sulfurados Digestíveis para Suínos Machos Castrados, Mantidos em Ambiente de Alta Temperatura dos 15 aos 30 kg. *Rev. Bras. Zootec.* 3, 1633–1639.
- Venâncio, L.S., Burini, R.C., Yoshida, W.B., 2009. Concentração de homocisteína em pacientes portadores de doença arterial periférica atendidos em um serviço público de saúde. *J. Vasc. Bras.* 8, 318–326.
- Wang, Z.G., Pan, X.J., Peng, Z.Q., Zhao, R.Q., Zhou, G.H., 2009. Methionine and selenium yeast supplementation of the maternal diets affects color, water–holding capacity, and oxidative stability of their male offspring meat at the early stage. *Poult. Sci.* 88, 1096–1101.
- Warner, R.D., Kauffman, R.G., Greaser, M.L., 1997. Muscle protein changes post mortem in relation to pork quality traits. *Meat Sci.* 45, 339–352.
- Zeisel, S.H., 2006. Choline: Critical role during fetal development and dietary requirements in adults. *Ann. Rev. Nutr.* 26, 229–250.
- Zhang, Z., Kebreab, E., Jing, M., Rodriguez–Lecompte, J.C., Kuehn, R., Flintoft, M., House, J.D., 2009. Impairments in pyridoxine–dependent sulphur amino acid metabolism are highly sensitive to the degree of vitamin B6 deficiency and repletion in the pig. *Animal* 3, 826–837.

V. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de haver uma relação entre o metabolismo da metionina e da vitamina B₆, a suplementação com vitamina B₆ não demonstrou interação com os níveis de metionina + cistina digestíveis avaliados. No entanto, a suplementação com 3,58 mg de vitamina B₆/kg de ração proporcionou maior profundidade de músculo e melhor conversão alimentar para suínos machos castrados, dos 75 aos 100 kg.

Conclui-se que as exigências de metionina + cistina digestíveis para suínos machos castrados e fêmeas, dos 75 aos 100 kg, são inferiores a 10,46 g/dia (0,350%) e 10,60 g/dia (0,370%), respectivamente, com base em variáveis de desempenho e qualidade de carne, e altos níveis destes aminoácidos reduzem a espessura de toucinho e elevam a concentração sanguínea de homocisteína nos suínos machos castrados.