

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta
tese será disponibilizado
somente a partir de 01/08/2024.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CÂMPUS DE BOTUCATU

ESTUDO PROTEÔMICO DO TECIDO HEPÁTICO E MUSCULAR DE FRANGOS
DE CORTE SUPLEMENTADOS COM ÓLEO DA SEMENTE DE MARACUJÁ

ANDREY SÁVIO DE ALMEIDA ASSUNÇÃO

Tese apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Zootecnia como
parte das exigências para obtenção
do título de Doutor em Zootecnia

BOTUCATU - SP
Agosto – 2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CÂMPUS DE BOTUCATU

ESTUDO PROTEÔMICO DO TECIDO HEPÁTICO E MUSCULAR DE FRANGOS
DE CORTE SUPLEMENTADOS COM ÓLEO DA SEMENTE DE MARACUJÁ

ANDREY SÁVIO DE ALMEIDA ASSUNÇÃO
ZOOTECNISTA

Orientador: Prof. Dr. Pedro de Magalhães Padilha

Tese apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Zootecnia como
parte das exigências para obtenção
do título de Doutor em Zootecnia

BOTUCATU - SP
Agosto – 2022

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Assunção, Andrey Sávio de Almeida.

Estudo proteômico do tecido hepático e muscular de frangos de corte suplementados com óleo da semente de maracujá / Andrey Sávio de Almeida Assunção. - Botucatu, 2022

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Pedro de Magalhães Padilha

Capes: 50403001

1. Frango de corte - Efeito do stress. 2. Estresse oxidativo. 3. Proteínas de choque térmico. 4. Sementes oleaginosas. 5. Maracujá. 6. Transtornos de estresse por calor.

Palavras-chave: 2D-PAGE; Estresse cíclico por calor; Estresse oxidativo; Gel free; Proteínas de choque térmico.

BIOGRAFIA DO AUTOR

Andrey Sávio de Almeida Assunção, filho de Silnea Gonçalina de Almeida Assunção e Manoel Santana Araújo de Assunção, nasceu em 28 de novembro de 1992 na cidade de Várzea Grande - MT. Em fevereiro de 2012 ingressou no curso de Zootecnia da Universidade Federal de Mato Grosso – Campus Cuiabá e graduou-se em setembro de 2016. Durante a graduação foi bolsista do programa de bolsas de extensão (2014) e bolsista de iniciação tecnológica – PIBITI (2015). Em março de 2017 iniciou o curso de Mestrado pelo Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Grande Dourados, sendo bolsista pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), concluindo o curso em fevereiro de 2019. Em março do mesmo ano iniciou o curso de Doutorado pelo Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “*Júlio de Mesquita Filho*” – Câmpus de Botucatu, onde foi bolsista pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento e Tecnológico (CNPq). Em junho de 2021, ingressou na empresa BRF como Técnico de Produção II, atuando na Granja de Avós de Frango, unidade de Brotas/SP.

DEDICATÓRIA

À minha mãe, Silnéia Gonçalina de Almeida, que sempre esteve ao meu lado me apoiando ao longo de toda a minha trajetória, me incentivando, servindo de exemplo, se dedicando, esforçando e cuidando de mim, do meu sobrinho e das minhas irmãs.

Meu eterno agradecimento, carinho e amor. Te amo!

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À minha companheira, amiga e eterna namorada, Renata Aparecida Martins. Por acreditar no meu potencial, me incentivar, me guiar e ajudar em todos os momentos, pelo exemplo de mulher que és, pelo amor, atenção, carinho e por todos os momentos alegres que passamos juntos. Amo você!

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, especialmente a FMVZ (Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia), pela oportunidade de realização deste curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

Deixo um agradecimento especial ao meu orientador, prof. Dr. Pedro de Magalhães Padilha, pela orientação, atenção, amizade, oportunidades, ensinamentos e por sempre contribuir para o meu crescimento profissional.

Ao prof. Dr. José Roberto Sartori pela orientação, oportunidades, confiança, atenção, pelos diálogos, ensinamentos e conhecimentos adquiridos.

Ao Pós-doutorando José Cavalcante Souza Vieira pela ajuda no decorrer das análises, colaboração, pelos momentos divertidos, histórias engraçadas e amizade ao longo deste curso.

Aos demais professores do Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Faculdade de Medicina e Veterinária e Zootecnia (FMVZ) que de alguma forma contribuíram para a conclusão deste curso.

À minha mãe, pelo amor, carinho, cuidados, força, dedicação e ajuda em todos os momentos. Tudo que sou é graças à senhora. Meu eterno carinho, amor e agradecimento. Te amo!

À minha companheira, amiga e eterna namorada, Renata Aparecida Martins. Pelo amor, atenção, carinho e companheirismo em todos os momentos difíceis e alegres que passamos juntos. Amo você!

Às minhas irmãs, Andressa e Andrielly, da nossa união de sempre principalmente nos momentos difíceis, das brincadeiras e recordações alegres. Amo vocês!

Ao meu amigo e padrao Simão, exemplo de pessoa. Sempre disposto a ajudar. Obrigado pelo carinho, momentos divertidos e por cuidar das meninas “superpoderosas” (Andressa, Andrielly e Silnéia).

Aos sobrinhos João Pedro (meu eterno “João bolão”) e Erik Martins, pelos momentos divertidos. Espero que este trabalho seja um exemplo de motivação para que no futuro sejam grandes profissionais. Amo vocês!

Sou grato à minha família pelo apoio que sempre me deram durante toda a minha vida, especialmente, a minha vó (Juraci Curado) e madrinha Pedrosa, pela confiança e

demonstração de fé inabalável, as minhas tias Sebastiana, Benedita e Marinei, aos tios Manoel, Jacó, Nei e Pedro (*in memoriam*), primos e primas pela presença constante.

Aos integrantes do Laboratório de Bioanalítica e Metaloproteômica (LBM): José Cavalcante Souza Vieira, Grasieli de Oliveira, Renata Aparecida Martins, Leone Rocha, Wellington Luiz de Paula Araújo, Otávio Augusto de Freitas Apostólico e Maria Gabriela de Albuquerque Santiago, pelos momentos divertidos, aprendizagem constantes e ajuda durante a realização dos experimentos.

Aos integrantes do Laboratório de Nutrição de Aves - LabAves, Cássio Yutto Oura, Jéssica Moraes Cruvinel, Julianna dos Santos Batistioli, Érica Santos Mello, Fernanda Kaiser de Lima, Priscila Michelin Groff-Urayama e Tatiane Souza dos Santos, pelas reuniões de estudo, dedicação e ajuda durante a realização dos experimentos.

À Granja Avós Califórnia (BRF S.A.), pela oportunidade de experiência profissional durante a realização do doutorado, por todo conhecimento adquirido, pelos desafios propostos a cada dia, especialmente ao Marcelo Antônio, Valdinei Zandonay, Julianna Batistioli, Adriana Camargo, Dirceu Romualdo, Edir Andrade, Jurandir Paixão, Claudio Roberto, Luis Henrique e Natasha Risatto.

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

A todos vocês, muito obrigado!

“Não importa quanto a vida possa ser ruim, sempre existe algo que você pode fazer, e triunfar. Enquanto há vida, há esperança.”

Stephen Hawking

RESUMO GERAL

Entre as alternativas estudadas para substituir o uso de antibióticos na avicultura industrial, destacam-se os produtos compostos por óleos essenciais e/ou extratos vegetais, denominados de aditivos fitogênicos. Esses produtos possuem potencial pois são naturais e livre de resíduos em comparação aos antibióticos. Dentre os aditivos naturais com potencial de serem utilizados na prática industrial, encontra-se o óleo da semente de maracujá (OSM). No entanto, não há relatos na literatura científica sobre a utilização de abordagens proteômicas para elucidar o efeito do OSM sobre o proteoma hepático e muscular de frangos de corte expostos ao estresse cíclico por calor. A proteômica permite avaliar as mudanças na expressão de proteínas de tecidos e fluídos, auxiliando dessa forma, na compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos na saúde, bem-estar, estresse e estados patológicos dos animais. Neste sentido, a tese foi dividida em dois capítulos principais correspondendo aos artigos científicos. **Artigo 1** - O objetivo com o presente estudo foi investigar o efeito da suplementação do OSM sobre o perfil diferencial de proteínas expressas no tecido hepático de frangos de corte submetidos ao estresse cíclico por calor. Para isso, 225 pintainhos machos de 1 dia de idade foram alojados em gaiolas dispostas em câmara climática onde foram mantidos sob estresse cíclico por calor durante oito horas por dia. Foram formuladas cinco dietas experimentais a base de milho e farelo de soja, sendo uma dieta controle (sem adição de OSM) e quatro dietas nas quais foi realizada a inclusão de diferentes níveis de OSM (0,30; 0,50; 0,70 e 0,90%). Aos 36 dias de idade, nove aves de cada tratamento foram abatidas para coleta das amostras de fígado. A partir de *pools* das amostras de fígado, foi realizado o fracionamento do proteoma hepático por eletroforese bidimensional (*2D-PAGE*) e caracterização das proteínas por espectrometria de massas em sequência acoplada com cromatografia líquida (*LC-MS/MS*). A suplementação de 0,90% de OSM aumentou a expressão de sete proteínas de choque térmico, enquanto foi observado menor expressão de seis proteínas antioxidantes. Proteínas envolvidas no metabolismo lipídico e de carboidratos também apresentaram alterações na expressão. Estes resultados sugerem que a suplementação de OSM influencia a ativação de mecanismos de reparação dos danos provocados pela exposição cíclica ao calor por meio do aumento da expressão das chaperonas moleculares no tecido hepático. **Artigo 2** - O objetivo com este estudo foi caracterizar as proteínas diferencialmente expressas no músculo *Pectoralis major* de frangos de corte suplementados com OSM em condições de estresse cíclico por calor. Para isso, 90

pintainhos machos de um dia de idade foram alojados em gaiolas dispostas em câmara climática onde foram mantidos sob estresse cíclico por calor durante oito horas por dia. As aves foram distribuídas em dois grupos experimentais, sendo um grupo suplementado com 0,90% de OSM e um grupo controle (CON) sem a suplementação de OSM. Aos 36 dias de idade, 18 aves foram abatidas para coleta das amostras de músculo. A partir de *pools* das amostras de filé de peito de cada grupo, foi realizado a clivagem proteolítica dos extratos proteicos e posteriormente a análise dos peptídeos por *LC-MS/MS*. A suplementação de 0,90% de OSM revelou a modulação de 57 proteínas no músculo *Pectoralis major* de frangos de corte expostos ao estresse cíclico por calor. Dentre elas, quatro proteínas foram reguladas positivamente e 46 proteínas foram reguladas negativamente. Além disso, sete proteínas foram expressas unicamente no grupo CON. Estes resultados sugerem que a suplementação de OSM demonstrou mecanismo adaptativo para aumentar a tolerância ao calor, reduzindo o estresse oxidativo. Além disso, promoveu ativação de mecanismos de neuroproteção, proteção celular contra ocorrência de apoptose celular, diminuição das respostas inflamatórias e regulação do metabolismo energético.

Palavras-chave: *2D-PAGE*, *Gel free*, estresse cíclico por calor, estresse oxidativo, proteínas de choque térmico

ABSTRACT

Among the alternatives studied to replace the use of antibiotics in industrial poultry, products composed of essential oils and/or plant extracts, called phytogetic additives, stand out. These products have potential because they are natural and residue-free compared to antibiotics. Among the natural additives with the potential to be used in industrial practice, there is passion fruit seed oil (OSM). However, there are no reports in the scientific literature on the use of proteomic approaches to elucidate the effect of OSM on the liver and muscle proteome of broilers exposed to cyclic heat stress. Proteomics allows the evaluation of changes in the expression of proteins in tissues and fluids, thus helping to understand the molecular mechanisms involved in the health, welfare, stress, and pathological states of animals. Thus, the thesis was divided into two main chapters corresponding to the papers. **Paper 1** - The aim of the present study was to investigate the effect of OSM supplementation on the differential profile of proteins expressed in the liver tissue of broilers subjected to cyclic heat stress. For this, 225 1-day-old male chicks were housed in cages in a climatic chamber where they were kept under cyclic heat stress for eight hours a day. Five experimental diets based on corn and soybean meal were formulated, being a control diet (without addition of OSM) and 4 diets in which different levels of OSM were included (0.30; 0.50; 0.70 and 0.90%). At 36 days of age, nine birds from each treatment were slaughtered to collect liver samples. From pools of liver samples from each treatment, fractionation of the liver proteome was performed by two-dimensional electrophoresis (2D-PAGE) and characterization of proteins by sequence mass spectrometry coupled with liquid chromatography (LC-MS/MS). Supplementation of 0.90% OSM increased the expression of seven heat shock proteins, while lower expression of six antioxidant proteins was observed. Proteins involved in lipid and carbohydrate metabolism also showed changes in expression. These results suggest that OSM supplementation influences the activation of damage repair mechanisms caused by cyclic exposure to heat by increasing the expression of molecular chaperones in liver tissue. **Paper 2** - The aim of this study is to characterize the proteins differentially expressed in the Pectoralis major muscle of broilers, supplemented with OSM under cyclic heat stress conditions. For this, 90 one-day-old male chicks were housed in cages in a climatic chamber, where they were kept under cyclic heat stress for eight hours a day. The birds were divided into two experimental groups, one group supplemented with 0.90% OSM and a control group (CON) without OSM supplementation. At 36 days of

age, 18 birds were slaughtered to collect muscle samples. From pools of breast fillet samples (Pectoralis major muscle) of each group, the proteolytic cleavage of the protein extracts was performed and later the analysis of the peptides by LC-MS/MS. Supplementation of 0.90% OSM revealed the modulation of 57 proteins in the Pectoralis major muscle of broilers exposed to cyclic heat stress. Among them, four proteins were upregulated and 46 proteins were down-regulated. In addition, seven proteins were expressed only in the CON group. These results suggest that OSM supplementation demonstrated an adaptive mechanism to increase heat tolerance, reducing oxidative stress. In addition, it promoted activation neuroprotection mechanisms, cellular protection against the occurrence of cellular apoptosis decreased inflammatory responses and regulation of energy metabolism.

Keywords: 2D-PAGE, Gel free, cyclic heat stress, oxidative stress, heat shock proteins

LISTA DE ABREVIATURAS

2D-PAGE – Eletroforese bidimensional em gel de poliacrilamida

BSA – Albumina de soro bovino

Ca – Cálcio

CEUA - Comitê de Ética no Uso de Animais

CON – Controle

CONCEA - Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal

Da - Dalton

DOWN - *Downregulated*

DTT – Ditioneitol

EROS – Espécies reativas de oxigênio

FDR – Taxa de descoberta falsa (*False discovery rate*)

GO – *Gene Ontology*

HSP – Proteínas de choque térmico (*Heat shock protein*)

IEF – Focalização isoelétrica (*Isoelectric focusing*)

KDa - Quilodalton

KEGG - Enciclopédia de Genes e Genomas de Kyoto (*Kyoto encyclopedia of genes and genomes*)

LC-MS/MS - Espectrometria de massas em sequência acoplada com cromatografia líquida (*Liquid chromatography tandem mass spectrometry*)

MW - *Molecular weight*

OSM – Óleo da semente de maracujá

pH - Potencial Hidrogeniônico

pI – Ponto isoelétrico

PLGS - *Protein Lynx Global Server*

SDS - *Sodium Dodecyl Sulfate*

UP – *Upregulated*

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 1

- Figura 1.** Principais tipos de maracujá: (A) *Passiflora edulis sims* e (B) *Passiflora edulis f. flavicarpa*. Fonte: Khuwijtjaru e Klinchongkon (2020)..... 20
- Figura 2.** Principais abordagens proteômicas: baseado em gel e sem gel. Adaptado de Almeida et al. (2015)..... 24
- Figura 3.** Eletroforese bidimensional em gel de poliacrilamida (*2D-PAGE*) do músculo *Pectoralis major* de frango. Fonte: Cai et al. (2018)..... 25
- Figura 4.** Fluxograma representando abordagem proteômica na investigação de biomarcadores de proteínas de estresse. Adaptado de Mouzo et al. (2020)..... 27

CAPÍTULO 2

- Figura 1.** Gel de poliacrilamida 12,5% (m/v) obtido por *2D-PAGE* (faixa de pH 3-10) do tecido hepático de frangos de corte suplementados com OSM sob estresse cíclico por calor. C: controle, OSM: óleo da semente de maracujá 54
- Figura 2.** Classificação das proteínas caracterizadas no proteoma hepático de frangos de corte utilizando o *software* Blast2GO 61
- Figura 3.** Rede de interação proteína-proteína das proteínas diferencialmente expressas do fígado de frangos de corte suplementados com OSM sob estresse cíclico por calor 62

CAPÍTULO 3

- Figura 1.** Classificação das proteínas diferencialmente expressas no tecido muscular de frangos de corte suplementados com OSM submetidos ao estresse cíclico por calor.... 89
- Figura 2.** Rede de interação proteína-proteína das proteínas *upregulated* e *downregulated* no tecido muscular de frangos de corte suplementados com OSM.... 90

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1. Efeitos do estresse térmico por calor no proteoma de aves utilizando diferentes métodos proteômicos.....	32
---	----

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Temperaturas médias registradas na câmara climática sob estresse cíclico por calor durante o período experimental	47
--	----

Tabela 2. Composição percentual e nutricional calculada das dietas experimentais pré-inicial (1 a 7 dias de idade), inicial (8 a 21 dias de idade), crescimento (22 a 33 dias de idade) e final (34 a 42 dias de idade).....	49
---	----

Tabela 3. Proteínas identificadas no fígado de frangos de corte suplementados com OSM sob estresse cíclico por calor por espectrometria de massas em sequência acoplada com cromatografia líquida (<i>LC-MS/MS</i>).....	55
---	----

Tabela 4. Proteínas diferencialmente expressas (teste t, $P < 0,05$) no fígado de frangos de corte suplementados com OSM (0,3; 0,5; 0,7 e 0,9%) sob estresse cíclico por calor em relação ao controle.....	60
--	----

Tabela 5. Vias metabólicas significativamente enriquecidas utilizando <i>Reactome</i>	62
--	----

CAPÍTULO 3

Tabela 1. Temperaturas médias registradas na câmara climática sob estresse cíclico por calor durante o período experimental	80
--	----

Tabela 2. Composição percentual e nutricional calculada das dietas experimentais pré-inicial (1 a 7 dias de idade), inicial (8 a 21 dias de idade), crescimento (22 a 33 dias de idade) e final (34 a 42 dias de idade).....	81
---	----

Tabela 3. Proteínas <i>upregulated</i> (<i>Up</i>) ou <i>downregulated</i> (<i>Down</i>) no grupo suplementado com 0,9% de OSM em comparação com o grupo controle sem suplementação de OSM em condições de estresse cíclico por calor	85
--	----

Tabela 4. Proteínas expressas unicamente no grupo controle (CON)	86
---	----

Tabela 5. Vias <i>KEGG</i> significativamente enriquecidas ($FDR < 0,05$) utilizando o <i>software Cytoscape</i> com o plugin <i>String</i>	87
--	----

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	17
CONSIDERAÇÕES INICIAIS	18
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
1.1. Atividades biológicas e composição do maracujá amarelo	19
1.2. Uso de subprodutos do maracujá na alimentação de frangos de corte	20
1.3. Óleo da semente de maracujá – OSM.....	21
1.4. Proteômica	22
1.5. Diferentes abordagens proteômicas: <i>2D-PAGE</i> e <i>Shotgun</i>	24
1.6. Proteômica na produção animal.....	26
1.7. Abordagem proteômica do estresse térmico em frangos de corte	27
2. JUSTIFICATIVA	33
3. OBJETIVO	33
REFERÊNCIAS	34
CAPÍTULO 2	43
<i>Óleo da semente de maracujá na dieta de frangos de corte altera o proteoma hepático em condições de estresse cíclico por calor</i>	44
RESUMO	44
1. Introdução	45
2. Material e Métodos	46
2.1. Animais, tratamentos, delineamento experimental e coleta das amostras	46
2.2. Preparação da amostra: extração, precipitação e quantificação das proteínas .	47
2.3. Eletroforese em gel bidimensional (<i>2D-PAGE</i>)	48
2.4. Análise de imagem.....	51
2.5. Caracterização das proteínas por espectrometria de massas em sequência acoplada com cromatografia líquida (<i>LC-MS/MS</i>)	51
2.6. Análise estatística.....	51
2.7. Vias metabólicas e interação proteína-proteína	52
3. Resultados	52
4. Discussão	63
4.1. Chaperonas moleculares	63
4.2. Proteínas antioxidantes	64
4.3. Metabolismo de lipídeos	65

4.4. Metabolismo de carboidratos	66
5. Conclusão	67
6. Referências	68
CAPÍTULO 3	76
<i>Proteômica shotgun revela alterações no músculo Pectoralis major de frangos de corte suplementados com óleo da semente de maracujá sob condições de estresse cíclico por calor</i>	<i>77</i>
RESUMO	77
1. Introdução	78
2. Material e métodos	79
2.1. Animais e grupos experimentais	79
2.2. Coleta das amostras	80
2.3. Extração e quantificação das proteínas	80
2.4. Digestão das proteínas em solução	83
2.5. Identificação e análise de expressão das proteínas	83
2.6. Análise de bioinformática	84
3. Resultados	84
4. Discussão	90
4.1. Resposta ao estresse oxidativo	90
4.2. Neurofilamento	91
4.3. Apoptose	91
4.4. Via de ativação do fator de transcrição <i>NF-κB</i>	93
4.5. Metabolismo energético	93
5. Conclusão	94
6. Referências	94
CAPÍTULO 4	102
IMPLICAÇÕES	103

REFERÊNCIAS

- ABDELNOUR, S. A. et al. Stress biomarkers and proteomics alteration to thermal stress in ruminants: A review. **Journal of Thermal Biology**, v. 79, n. September 2018, p. 120–134, 2019.
- ACAMOVIC, T.; BROOKER, J. D. Biochemistry of plant secondary metabolites and their effects in animals. **The Proceedings of the Nutrition Society**, v. 64, n. 3, p. 403–12, 2005.
- ALMEIDA, A. M. et al. Animal board invited review: Advances in proteomics for animal and food sciences. **Animal**, v. 9, p. 1–17, 2015.
- ALTENDORF, S. Minor tropical fruits - Mainstreaming a niche market. In: FAO (Ed.). . **Food Outlook - Biannual Report on Global Food Markets**. July ed. [s.l.] FAO, 2018. p. 67–74.
- AYALA-ZAVALA, J. F. et al. Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. **Food Research International**, v. 44, p. 1866–1874, 2011.
- BALDASSINI, W. A. et al. Proteomic investigation of liver from beef cattle (*Bos indicus*) divergently ranked on residual feed intake. **Molecular Biology Reports**, v. 45, n. 6, p. 2765–2773, 2018.
- BASSOLS, A.; BENDIXEN, E.; MILLER, I. From Farm to Fork: Proteomics in Farm Animal Care and Food Production. In: COLGRAVE, M. L. (Ed.). . **Proteomics in Food Science: From Farm to Fork**. [s.l.] Academic Press, 2017. p. 145–161.
- BELAL, S. et al. Taurine Reduces Heat Stress by Regulating the Expression of Heat Shock Proteins in Broilers Exposed to Chronic Heat. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 20, n. 3, p. 479–486, 2018.
- BERANOVA-GIORGIANNI, S. Proteome analysis by two-dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry: Strengths and limitations. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, n. 5, p. 273–281, 2003.
- BITTARELLO, A. C. et al. Metalloproteomic approach of mercury-binding proteins in liver and kidney tissues of *Plagioscion squamosissimus* (corvina) and *Colossoma macropomum* (tambaqui) from Amazon region: Possible identification of mercury contamination biomarkers. **Science of the Total Environment**, v. 711, p. 134547, 2020.

BOUDON, S. et al. Label free shotgun proteomics for the identification of protein biomarkers for beef tenderness in muscle and plasma of heifers. **Journal of Proteomics**, v. 217, n. January, p. 103685, 2020.

BRENES, A.; ROURA, E. Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. **Animal Feed Science and Technology**, v. 158, n. 1–2, p. 1–14, 2010.

CAI, K. et al. Meat quality traits and proteome profile of woody broiler breast (pectoralis major) meat. **Poultry Science**, v. 97, p. 337–346, 2018.

CAO, C. et al. Application and Research Progress of Proteomics in Chicken Meat Quality and Identification: A Review. **Food Reviews International**, v. 00, n. 00, p. 1–22, 2020.

CEBALLOS-LAITA, L. et al. Effects of manganese toxicity on the protein profile of tomato (*Solanum lycopersicum*) roots as revealed by two complementary proteomic approaches, two-dimensional electrophoresis and shotgun analysis. **Journal of Proteomics**, v. 185, n. May, p. 51–63, 2018.

CLARK, D. L.; VELLEMAN, S. G. Spatial influence on breast muscle morphological structure, myofiber size, and gene expression associated with the wooden breast myopathy in broilers. **Poultry Science**, v. 95, p. 2930–2945, 2017.

COMMISSION, C. A. **Standard for named vegetable oils Codex Alimentarius - International Food Standards**FAO, , 2019.

CORRÊA, R. C. G. et al. The past decade findings related with nutritional composition, bioactive molecules and biotechnological applications of *Passiflora* spp. (passion fruit). **Trends in Food Science and Technology**, v. 58, p. 79–95, 2016.

DAVENPORT, J. et al. High-Throughput Screen of Natural Product Libraries for Hsp90 Inhibitors. **Biology**, v. 3, n. 1, p. 101–138, 2014.

DEMBITSKY, V. M. et al. The multiple nutrition properties of some exotic fruits: Biological activity and active metabolites. **Food Research International**, v. 44, p. 1671–1701, 2011.

DESAI, M. A. et al. Proteome basis of pale, soft, and exudative-like (PSE-like) broiler breast (*Pectoralis major*) meat. **Poultry Science**, v. 95, n. 11, p. 2696–2706, 2016.

EMBRAPA. **Extração do óleo da semente de maracujá**Relatório de Avaliação dos

Impactos das Tecnologias Geradas pela Embrapa. Rio de Janeiro: [s.n.].

FACHINELLO, M. R. et al. Nutritional evaluation of passion fruit seed meal for meat quails. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 17, n. 2, p. 202–213, 2016.

FEDER, M. E.; HOFMANN, G. E. Heat-shock proteins, molecular chaperones, and the stress response: evolutionary and ecological physiology. **Annual review of physiology**, v. 61, p. 243–82, 1999.

FERRARI, R. A.; COLUSSI, F.; AYUB, R. A. Caracterização de subprodutos da industrialização do maracujá-aproveitamento das sementes. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 1, p. 101–102, 2004.

GILMORE, J. M.; WASHBURN, M. P. Advances in shotgun proteomics and the analysis of membrane proteomes. **Journal of Proteomics**, v. 73, n. 11, p. 2078–2091, 2010.

GONG, J. et al. Review: Chinese herbs as alternatives to antibiotics in feed for swine and poultry production: Potential and challenges in application. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 94, p. 223–241, 2014.

GUGLIELMETTI, C. et al. Two-dimensional gel and shotgun proteomics approaches to distinguish fresh and frozen-thawed curled octopus (*Eledone cirrhosa*). **Journal of Proteomics**, v. 186, n. July, p. 1–7, 2018.

HAVENSTEIN, G. B.; FERKET, P. R.; QURESHI, M. A. Growth, Livability, and Feed Conversion of 1957 Versus 2001 Broilers Diets. **Poultry Science**, v. 82, p. 1500–1508, 2003.

HE, J. et al. Proteomic responses to oxidative damage in meat from ducks exposed to heat stress. **Food Chemistry**, v. 295, n. May, p. 129–137, 2019.

HOSSEINI, S. M.; FARHANGFAR, H.; NOURMOHAMMADI, R. Effects of a blend of essential oils and overcrowding stress on the growth performance, meat quality and heat shock protein gene expression of broilers. **British Poultry Science**, v. 59, n. 1, p. 92–99, 2018.

HUANG, C. et al. Proteomics discovery of protein biomarkers linked to meat quality traits in post-mortem muscles: Current trends and future prospects: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 105, n. December 2019, p. 416–432, 2020.

JANZANTTI, N. S.; MONTEIRO, M. Changes in the aroma of organic passion fruit (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) during ripeness. **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, p. 612–620, 2014.

JASTREBSKI, S. F.; LAMONT, S. J.; SCHMIDT, C. J. Chicken hepatic response to chronic heat stress using integrated transcriptome and metabolome analysis. **PLoS ONE**, v. 12, p. 1–15, 2017.

JORRIN-NOVO, J. V. et al. Gel electrophoresis-based plant proteomics: Past, present, and future. Happy 10th anniversary Journal of Proteomics! **Journal of Proteomics**, v. 198, n. June 2018, p. 1–10, 2019.

KANG, D. R.; SHIM, K. S. Proteomic analysis of the protective effect of early heat exposure against chronic heat stress in broilers. **Animals**, v. 10, n. 12, p. 1–11, 2020.

KHUWIJITJARU, P.; KLINCHONGKON, K. Passion fruit. In: GALANAKIS, C. M. (Ed.). **Valorization of Fruit Processing By-products**. Chennai: Academic Press, 2020. p. 183–201.

KIM, Y. I.; CHO, J. Y. Gel-based proteomics in disease research: Is it still valuable? **Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and Proteomics**, v. 1867, n. 1, p. 9–16, 2019.

KOBORI, C. N.; JORGE, N. Caracterização dos óleos de algumas sementes de frutas como aproveitamento de resíduos industriais. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 5, p. 1008–1014, 2005.

KUNIYOSHI, M. L. G. et al. Proteomic analysis of the fast-twitch muscle of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) after prolonged fasting and compensatory growth. **Comparative Biochemistry and Physiology - Part D: Genomics and Proteomics**, v. 30, p. 321–332, 2019.

LARA, L. J.; ROSTAGNO, M. H. Impact of heat stress on poultry production. **Animals**, v. 3, n. 2, p. 356–369, 2013.

LEÃO, K. M. M. et al. Odor potency, aroma profile and volatiles composition of cold pressed oil from industrial passion fruit residues. **Industrial Crops and Products**, v. 58, p. 280–286, 2014.

LIPPOLIS, J. D.; NALLY, J. E. Considerations for Farm Animal Proteomic Experiments: An Introductory View Gel-Based Versus Non-gel-Based Approaches. In: ALMEIDA, A.

M. DE; ECKERSALL, D.; MILLER, I. (Eds.). . **Proteomics in Domestic Animals: from Farm to Systems Biology**. Cham: Springer, 2018. p. 7–16.

LOURITH, N.; KANLAYAVATTANAKUL, M. Passion fruit seed: Its antioxidative extracts and potency in protection of skin aging. In: PREEDY, V. R.; PATEL, V. B. (Eds.). . **Aging: Oxidative Stress and Dietary Antioxidants**. 2. ed. [s.l.] Academic Press, 2020. p. 283–288.

MA, D. et al. iTRAQ-based quantitative proteomics analysis of the spleen reveals innate immunity and cell death pathways associated with heat stress in broilers (*Gallus gallus*). **Journal of Proteomics**, v. 196, n. September 2018, p. 11–21, 2019.

MAINI, S. et al. Evaluation of oxidative stress and its amelioration through certain antioxidants in Broilers during summer. **The Journal of Poultry Science**, v. 44, p. 339–347, 2007.

MALHEIROS, J. M. et al. Application of proteomic to investigate the different degrees of meat tenderness in Nellore breed. **Journal of Proteomics**, v. 248, n. August 2020, p. 104331, 2021.

MARCO-RAMELL, A. et al. Proteomics and the search for welfare and stress biomarkers in animal production in the one-health context. **Molecular BioSystems**, v. 12, n. 7, p. 2024–2035, 2016.

MENTEN, J. F. M. et al. Antibióticos, Ácidos Orgânicos e Óleos Essenciais na Nutrição de Monogástricos. In: SAKOMURA, N. K. et al. (Eds.). . **Nutrição de Não Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2014. p. 511–535.

MOUZO, D. et al. Proteomic application in predicting food quality relating to animal welfare. A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 99, n. March, p. 520–530, 2020.

NAIR, M. N.; ZHAI, C. Application of proteomic tools in meat quality evaluation. In: BISWAS, A. K.; MANDAL, P. K. (Eds.). . **Meat Quality Analysis: Advanced Evaluation Methods, Techniques, and Technologies**. Chennai: Academic Press, 2020. p. 353–368.

OLIVEIRA, C. M. DE; FRIZZAS, M. R. Principais Pragas do Maracujazeiro Amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener) e Seu Manejo. **Empresa Brasileira de Pesquisa**

Agropecuária Embrapa Amazônia Oriental Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, v. 323, p. 1–43, 2014.

OLIVEIRA, L. F. DE et al. Aproveitamento alternativo da casca do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* F. Flavicarpa) para produção de doce em calda. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 3, p. 259–262, 2002.

PEREIRA, D. DE A.; CORRÊA, R. X.; OLIVEIRA, A. C. DE. Molecular genetic diversity and differentiation of populations of “somnus” passion fruit trees (*Passiflora setacea* DC): Implications for conservation and pre-breeding. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 59, p. 12–21, 2015.

PLACHA, I. et al. Effect of thyme essential oil and selenium on intestine integrity and antioxidant status of broilers. **British Poultry Science**, v. 55, n. 1, p. 105–114, 2014.

QIU, W. et al. Combined Analysis of Transcriptome and Metabolome Reveals the Potential Mechanism of Coloration and Fruit Quality in Yellow and Purple *Passiflora edulis* Sims. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 68, n. 43, p. 12096–12106, 2020.

QUEIROZ, J. V. DE et al. Metalloproteomic Strategies for Identifying Proteins as Biomarkers of Mercury Exposure in *Serrasalmus rhombeus* from the Amazon Region. **Biological Trace Element Research**, 2020.

SCHILLING, M. W. et al. Proteomic approach to characterize biochemistry of meat quality defects. **Meat Science**, v. 132, p. 131–138, 2017.

SILVA, A. C. DA; JORGE, N. Bioactive compounds of oils extracted from fruits seeds obtained from agroindustrial waste. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 119, n. 4, p. 1–5, 2016.

SILVA, J. K. DA et al. Passion fruit (*Passiflora edulis*) peel increases colonic production of short-chain fatty acids in Wistar rats. **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, n. 2P2, p. 1252–1257, 2014.

TANG, X. et al. Label-free Quantitative Analysis of Changes in Broiler Liver Proteins under Heat Stress using SWATH-MS Technology. **Scientific Reports**, v. 5, n. October, p. 1–15, 2015.

TOGASHI, C. K. et al. Composição em ácidos graxos dos tecidos de frangos de corte

alimentados com subprodutos de maracujá. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 6, p. 2063–2068, 2007.

TOGASHI, C. K. et al. Subprodutos do maracujá em dietas para frangos de corte. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 30, n. 4, p. 395–400, 2008.

TORRES, O. P. N. et al. Effects of the Different Levels of Flour (*Passiflora edulis*), the European and Economic Efficiency Index on Performance of the Cobb 500 Chickens. **EC Veterinary Science**, v. 1, p. 49–56, 2019.

TRAESEL, C. K. et al. Óleos essenciais como substituintes de antibióticos promotores de crescimento em frangos de corte: perfil de soroproteínas e peroxidação lipídica. **Ciência Rural**, v. 41, n. 2, p. 278–284, 2011.

TU, W. L. et al. Proteomic analysis of the hypothalamus of broiler-type Taiwan country chickens in response to acute heat stress. **Animal Science Journal**, v. 89, n. 10, p. 1475–1485, 2018.

VUOLO, M. M. et al. Passion fruit peel intake decreases inflammatory response and reverts lipid peroxidation and adiposity in diet-induced obese rats. **Nutrition Research**, v. 76, p. 106–117, 2020.

WANG, S. H. et al. Changes in protein expression in testes of L2 strain Taiwan country chickens in response to acute heat stress. **Theriogenology**, v. 82, n. 1, p. 80–94, 2014.

WANG, S. H. et al. Acute Heat Stress Changes Protein Expression in the Testes of a Broiler-Type Strain of Taiwan Country Chickens. **Animal Biotechnology**, v. 30, n. 2, p. 129–145, 2018.

WANG, Y. et al. Changes of hepatic biochemical parameters and proteomics in broilers with cold-induced ascites. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 3, n. 1, p. 1–9, 2012.

WIJERATNAM, S. W. **Passion Fruit**. 1. ed. [s.l.] Elsevier Ltd., 2016.

WILHELM, A. E. et al. Diferentes taxas de alimentação de prensa do tipo expeller na eficiência de extração e na qualidade do óleo de semente de maracujá. **Ciência Rural**, v. 44, n. 7, p. 1312–1318, 2014.

XING, T. et al. Proteome Analysis Using Isobaric Tags for Relative and Absolute

Analysis Quantitation (iTRAQ) Reveals Alterations in Stress-Induced Dysfunctional Chicken Muscle. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, n. 13, p. 2913–2922, 2017.

XU, Y. et al. Effect of chronic heat stress on some physiological and immunological parameters in different breed of broilers. **Poultry Science**, v. 97, n. 11, p. 4073–4082, 2018.

ZANETTI, L. H. et al. By-product of passion fruit seed (*Passiflora edulis*) in the diet of commercial laying hens. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 494, p. 488–494, 2016.

ZANETTI, L. H. et al. By-Product Of Passion Fruit Seed (*Passiflora Edulis*) In The Diet of Broilers. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 98, p. 109–118, 2017.

ZAPALSKA-SOZONIUK, M. et al. Is it useful to use several “omics” for obtaining valuable results? **Molecular Biology Reports**, v. 46, n. 3, p. 3597–3606, 2019.

ZENG, T. et al. Comparative Proteomic Analysis of the Hepatic Response to Heat Stress in Muscovy and Pekin Ducks: Insight into Thermal Tolerance Related to Energy Metabolism. **PLoS ONE**, v. 8, n. 10, 2013.

ZERAIK, M. L. et al. Maracujá: Um alimento funcional? **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 20, n. 3, p. 459–471, 2010.

ZHAI, H. et al. Potential of essential oils for poultry and pigs. **Animal Nutrition**, v. 4, n. 2, p. 179–186, 2018.

ZHANG, J. et al. High concentrations of atmospheric ammonia induce alterations in the hepatic proteome of broilers (*Gallus gallus*): An iTRAQ-based quantitative proteomic analysis. **PLoS ONE**, v. 10, n. 4, p. 1–18, 2015.

ZHANG, Q. et al. iTRAQ-based quantitative proteomic analyses the cycle chronic heat stress affecting liver proteome in yellow-feather chickens. **Poultry Science**, v. 100, n. 6, p. 101111, 2021.

ZHANG, Y. et al. Protein analysis by shotgun/bottom-up proteomics. **Chemical Reviews**, v. 113, n. 4, p. 2343–2394, 2013.

ZHANG, Y. et al. Alginate-whey protein dry powder optimized for target delivery of

essential oils to the intestine of chickens. **Poultry science**, v. 93, p. 2514–2525, 2014.

ZHENG, A. et al. Molecular differences in hepatic metabolism between AA broiler and big bone chickens: A proteomic study. **PLoS ONE**, v. 11, n. 10, p. 1–20, 2016.

ZHENG, H. T. et al. Effects of acute heat stress on protein expression and histone modification in the adrenal gland of male layer-type country chickens. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–13, 2021.

CAPÍTULO 2

Óleo da semente de maracujá na dieta de frangos de corte altera o proteoma hepático em condições de estresse cíclico por calor

Artigo redigido de acordo com as normas adaptadas do periódico “*International Journal of Biological Macromolecules*” (JCR 2021: 8.025)

Óleo da semente de maracujá na dieta de frangos de corte altera o proteoma hepático em condições de estresse cíclico por calor

RESUMO

O objetivo com o presente estudo foi investigar o efeito da suplementação do óleo da semente de maracujá (OSM) sobre o perfil diferencial de proteínas expressas no tecido hepático de frangos de corte submetidos ao estresse cíclico por calor. 225 pintainhos machos de 1 dia de idade foram alojados em gaiolas dispostas em câmara climática onde foram mantidos sob estresse cíclico por calor durante oito horas por dia do início ao final do experimento. Foram formuladas cinco dietas experimentais a base de milho e farelo de soja, sendo uma dieta controle (sem adição de OSM) e quatro dietas nas quais foram realizadas a inclusão de diferentes níveis de OSM (0,30; 0,50; 0,70 e 0,90%). Aos 36 dias de idade, nove aves de cada tratamento foram abatidas para coleta das amostras de fígado. A partir de *pools* das amostras de fígado de cada tratamento, foi realizado o fracionamento do proteoma hepático por eletroforese bidimensional (*2D-PAGE*) e caracterização das proteínas por espectrometria de massas em sequência acoplada com cromatografia líquida (*LC-MS/MS*). A suplementação de 0,90% de OSM aumentou a expressão de sete proteínas de choque térmico, enquanto foi observado menor expressão de seis proteínas antioxidantes. Proteínas envolvidas no metabolismo lipídico e de carboidratos também apresentaram alterações na expressão. Estes resultados sugerem que a suplementação de OSM influencia positivamente a ativação de mecanismos de reparação dos danos provocados pela exposição cíclica ao calor por meio do aumento da expressão das chaperonas moleculares no tecido hepático.

Palavras-chave: *2D-PAGE*, estresse por calor, proteínas de choque térmico

prejudiciais do estresse térmico. A regulação das proteínas envolvidas no metabolismo de lipídeos e carboidratos foram melhoradas por meio da via biossintética de isoprenóides e diminuição da gliconeogênese e glicólise, respectivamente.

6. Referências

- Abdelnour, S. A., Abd El-Hack, M. E., Khafaga, A. F., Arif, M., Taha, A. E., & Noreldin, A. E. (2019). Stress biomarkers and proteomics alteration to thermal stress in ruminants: A review. *Journal of Thermal Biology*, 79(September 2018), 120–134. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2018.12.013>
- Ayala-Zavala, J. F., Vega-Vega, V., Rosas-Domínguez, C., Palafox-Carlos, H., Villa-Rodríguez, J. A., Siddiqui, M. W., Dávila-Aviña, J. E., & González-Aguilar, G. A. (2011). Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. *Food Research International*, 44, 1866–1874. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.021>
- Azadmanesh, J., & Borgstahl, G. E. O. (2018). A review of the catalytic mechanism of human manganese superoxide dismutase. *Antioxidants*, 7(25), 1–16. <https://doi.org/10.3390/antiox7020025>
- Baldassini, W. A., Bonilha, S. F. M., Branco, R. H., Vieira, J. C. S., Padilha, P. M., & Lanna, D. P. D. (2018). Proteomic investigation of liver from beef cattle (*Bos indicus*) divergently ranked on residual feed intake. *Molecular Biology Reports*, 45(6), 2765–2773. <https://doi.org/10.1007/s11033-018-4341-2>
- Bittarello, A. C., Vieira, J. C. S., Braga, C. P., Bataglioli, I. da C., Oliveira, G., Rocha, L. C., Zara, L. F., Buzalaf, M. A. R., Oliveira, L. C. S., Adamec, J., & Padilha, P. de M. (2020). Metalloproteomic approach of mercury-binding proteins in liver and kidney tissues of *Plagioscion squamosissimus* (corvina) and *Colossoma macropomum* (tambaqui) from Amazon region: Possible identification of mercury contamination biomarkers. *Science of the Total Environment*, 711, 134547. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134547>
- Braga, C. P., Vieira, J. C. S., Grove, R. A., Boone, C. H. T., Leite, A. de L., Buzalaf, M. A. R., Fernandes, A. A. H., Adamec, J., & Padilha, P. de M. (2017). A proteomic

- approach to identify metalloproteins and metal-binding proteins in liver from diabetic rats. *International Journal of Biological Macromolecules*, 96, 817–832. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.12.073>
- Cai, K., Shao, W., Chen, X., Campbell, Y. L., Nair, M. N., Suman, S. P., Beach, C. M., Guyton, M. C., & Schilling, M. W. (2018). Meat quality traits and proteome profile of woody broiler breast (pectoralis major) meat. *Poultry Science*, 97, 337–346. <https://doi.org/10.3382/ps/pex284>
- Conesa, A., Götz, S., García-Gómez, J. M., Terol, J., Talón, M., & Robles, M. (2005). Blast2GO: A universal tool for annotation, visualization and analysis in functional genomics research. *Bioinformatics*, 21(18), 3674–3676. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bti610>
- Dembitsky, V. M., Poovarodom, S., Leontowicz, H., Leontowicz, M., Vearasilp, S., Trakhtenberg, S., & Gorinstein, S. (2011). The multiple nutrition properties of some exotic fruits: Biological activity and active metabolites. *Food Research International*, 44, 1671–1701. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.03.003>
- Dhar, M. K., Koul, A., & Kaul, S. (2013). Farnesyl pyrophosphate synthase: A key enzyme in isoprenoid biosynthetic pathway and potential molecular target for drug development. *New Biotechnology*, 30(2), 114–123. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2012.07.001>
- Ferrari, R. A., Colussi, F., & Ayub, R. A. (2004). Caracterização de subprodutos da industrialização do maracujá-aproveitamento das sementes. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 26(1), 101–102. <https://doi.org/10.1590/s0100-29452004000100027>
- Foote, C. S., & Denny, R. W. (1968). Chemistry of Singlet Oxygen. VII. Quenching by β -Carotene. *Journal of the American Chemical Society*, 90(22), 6233–6235.
- Gilbert, E. R., Cox, C. M., Williams, P. M., McElroy, A. P., Dalloul, R. A., Keith Ray, W., Barri, A., Emmerson, D. A., Wong, E. A., & Webb, K. E. (2011). Eimeria species and genetic background influence the serum protein profile of broilers with coccidiosis. *PLoS ONE*, 6(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014636>
- Goldstein, J. L., Brown, M. S. (1990). Regulation of the mevalonate pathway. *Nature*, 343, 425-430. <https://doi.org/10.1038/343425a0>

- Guo, F., Zhang, Y., Su, L., Ahmed, A. A., Ni, Y., & Zhao, R. (2013). Breed-dependent transcriptional regulation of phosphoenolpyruvate carboxylase, cytosolic form, expression in the liver of broiler chickens. *Poultry Science*, 92(10), 2737–2744. <https://doi.org/10.3382/ps.2013-03189>
- He, J., Xia, C., He, Y., Pan, D., Cao, J., Sun, Y., & Zeng, X. (2019). Proteomic responses to oxidative damage in meat from ducks exposed to heat stress. *Food Chemistry*, 295(May), 129–137. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.073>
- Hegardt, F. G. (1999). Mitochondrial 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase: a control enzyme in ketogenesis. *Biochemical Journal*, 338(3), 569–582. <https://doi.org/10.1042/bj3380569>
- Itzhaki, R. F., & Gill, D. M. (1964). A micro-biuret method for estimating proteins. *Analytical Biochemistry*, 9(4), 401–410. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(64\)90200-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(64)90200-3)
- Jastrebski, S. F., Lamont, S. J., & Schmidt, C. J. (2017). Chicken hepatic response to chronic heat stress using integrated transcriptome and metabolome analysis. *PLoS ONE*, 12, 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181900>
- Jensen-Urstad, A. P. L., & Semenkovich, C. F. (2012). Fatty acid synthase and liver triglyceride metabolism: Housekeeper or messenger? *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1821(5), 747–753. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2011.09.017>
- Kang, D. R., & Shim, K. S. (2020). Proteomic analysis of the protective effect of early heat exposure against chronic heat stress in broilers. *Animals*, 10(12), 1–11. <https://doi.org/10.3390/ani10122365>
- Kawakami, S., Morinaga, M., Tsukamoto-Sen, S., Mori, S., Matsui, Y., & Kawama, T. (2022). Constituent characteristics and functional properties of passion fruit seed extract. *Life*, 12(1). <https://doi.org/10.3390/life12010038>
- Lara, L. J., & Rostagno, M. H. (2013). Impact of heat stress on poultry production. *Animals*, 3(2), 356–369. <https://doi.org/10.3390/ani3020356>

- Laskowska, E., Kuczyńska-Wiśnik, D., & Lipińska, B. (2019). Proteomic analysis of protein homeostasis and aggregation. *Journal of Proteomics*, 198(September), 98–112. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2018.12.003>
- Lee, S., Kim, S. M., & Lee, R. T. (2013). Thioredoxin and thioredoxin target proteins: From molecular mechanisms to functional significance. *Antioxidants and Redox Signaling*, 18(10), 1165–1207. <https://doi.org/10.1089/ars.2011.4322>
- Lima, P. M., Vieira, J. C. S., Cavecci-Mendonça, B., Fleuri, L. F., de Lima Leite, A., Buzalaf, M. A. R., Pezzato, L. E., Braga, C. P., & de Magalhães Padilha, P. (2019). Identification of Zinc Absorption Biomarkers in Muscle Tissue of Nile Tilapia Fed with Organic and Inorganic Sources of Zinc Using Metallomics Analysis. *Biological Trace Element Research*, 190, 1–14. <https://doi.org/10.1007/s12011-019-01765-9>
- Ma, B., Zhang, L., Li, J., Xing, T., Jiang, Y., & Gao, F. (2021). Heat stress alters muscle protein and amino acid metabolism and accelerates liver gluconeogenesis for energy supply in broilers. *Poultry Science*, 100(1), 215–223. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.09.090>
- Minárik, P., Tomaásková, N., Kollárová, M., & Antalík, M. (2002). Malate Dehydrogenases - Structure and function. *General Physiology and Biophysics*, 21(3), 257–265.
- Ning, H., Cui, Y., Song, X., Chen, L., Yin, Z., Hua, L., Ren, F., Suo, Y., Wang, X., Zhang, H., Hu, D., & Ge, Y. (2019). iTRAQ-based proteomic analysis reveals key proteins affecting cardiac function in broilers that died of sudden death syndrome. *Poultry Science*, 98(12), 6472–6482. <https://doi.org/10.3382/ps/pez532>
- Obrosova, I. G. (2005). Increased sorbitol pathway activity generates oxidative stress in tissue sites for diabetic complications. *Antioxidants and Redox Signaling*, 7(11–12), 1543–1552. <https://doi.org/10.1089/ars.2005.7.1543>
- Oliveira, L. F. de, Nascimento, M. R. F., Borges, S. V., Ribeiro, P. C. do N., & Ruback, V. R. (2002). Aproveitamento alternativo da casca do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* F. Flavicarpa) para produção de doce em calda. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 22(3), 259–262. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612002000300011>

- Park, J., Zielinski, M., Magder, A., Tsantrizos, Y. S., & Berghuis, A. M. (2017)a. Human farnesyl pyrophosphate synthase is allosterically inhibited by its own product. *Nature Communications*, 8, 1–8. <https://doi.org/10.1038/ncomms14132>
- Park, K. W., Eun Kim, G., Morales, R., Moda, F., Moreno-Gonzalez, I., Concha-Marambio, L., Lee, A. S., Hetz, C., & Soto, C. (2017)b. The Endoplasmic Reticulum Chaperone GRP78/BiP Modulates Prion Propagation in vitro and in vivo. *Scientific Reports*, 7(March), 1–13. <https://doi.org/10.1038/srep44723>
- Qiu, W., Su, W., Cai, Z., Dong, L., Li, C., Xin, M., Fang, W., Liu, Y., Wang, X., Huang, Z., Ren, H., & Wu, Z. (2020). Combined Analysis of Transcriptome and Metabolome Reveals the Potential Mechanism of Coloration and Fruit Quality in Yellow and Purple *Passiflora edulis* Sims. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(43), 12096–12106. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c03619>
- Rhee, S. G., & Woo, H. A. (2011). Multiple functions of peroxiredoxins: Peroxidases, sensors and regulators of the intracellular messenger H₂O₂, and protein chaperones. *Antioxidants and Redox Signaling*, 15(3), 781–794. <https://doi.org/10.1089/ars.2010.3393>
- Rostagno, H. S., Albino, L. F. T., Hannas, M. I., Donzele, J. L., Sakomura, N. S., Perazzo, F. G., Saraiva, A., Teixeira, M. L., Rodrigues, P. B., Oliveira, R. F., Barreto, S. L. T., & Brito, C. O. (2017). **Tabelas Brasileiras Para Aves e Suínos** (H. S. Rostagno (ed.); 4th ed.). Departamento de Zootecnia, UFV.
- Saeed, M., Abbas, G., Alagawany, M., Kamboh, A. A., Abd El-Hack, M. E., Khafaga, A. F., & Chao, S. (2019). Heat stress management in poultry farms: A comprehensive overview. *Journal of Thermal Biology*, 84(July), 414–425. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2019.07.025>
- Shevchenko, A., Tomas, H., Havlis, J., Olsen, J. V., & Mann, M. (2006). In-gel digestion for mass spectrometric characterization of proteins and proteomes. *Nature Protocols*, 1(6), 2856–2860. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.468>
- Siddiqui, S. H., Kang, D., Park, J., Choi, H. W., & Shim, K. (2020). Acute heat stress induces the differential expression of heat shock proteins in different sections of the small intestine of chickens based on exposure duration. *Animals*, 10(7), 1–13. <https://doi.org/10.3390/ani10071234>

- Silva, A. C. da, & Jorge, N. (2016). Bioactive compounds of oils extracted from fruits seeds obtained from agroindustrial waste. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 119(4), 1–5. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201600024>
- Silva, J. K. da, Cazarin, C. B. B., Bogusz Junior, S., Augusto, F., & Maróstica Junior, M. R. (2014). Passion fruit (*Passiflora edulis*) peel increases colonic production of short-chain fatty acids in Wistar rats. *LWT - Food Science and Technology*, 59(2P2), 1252–1257. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.05.030>
- Silva, F. A., Cavecci, B., Baldassini, W. A., Lima, P. M., Moraes, P. M., Roldan, P. S., Padilha, Cilene, C. F., & Padilha, P. M. (2013). Selenium fractionation from plasma, muscle and liver of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Food Measurement and Characterization*, 7(4), 158–165. <https://doi.org/10.1007/s11694-013-9151-6>
- Surai, P. F., Kochish, I. I., Fisinin, V. I., & Kidd, M. T. (2019). Antioxidant defence systems and oxidative stress in poultry biology: An update. *Antioxidants*, 8(7), 1–36. <https://doi.org/10.3390/antiox8070235>
- Tang, S., Yin, B., Xu, J., & Bao, E. (2018). Rosemary reduces heat stress by inducing CRYAB and HSP70 expression in broiler chickens. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/7014126>
- Tang, X., Meng, Q., Gao, J., Zhang, S., Zhang, H., & Zhang, M. (2015). Label-free Quantitative Analysis of Changes in Broiler Liver Proteins under Heat Stress using SWATH-MS Technology. *Scientific Reports*, 5(September), 1–15. <https://doi.org/10.1038/srep15119>
- Wang, Y., Guo, Y., Ning, D., Peng, Y., Cai, H., Tan, J., Yang, Y., & Liu, D. (2012). Changes of hepatic biochemical parameters and proteomics in broilers with cold-induced ascites. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 3(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/2049-1891-3-41>
- Wang, Y., Jia, X., Hsieh, J. C. F., Monson, M. S., Zhang, J., Shu, D., Nie, Q., Persia, M. E., Rothschild, M. F., & Lamont, S. J. (2021). Transcriptome response of liver and muscle in heat-stressed laying hens. *Genes*, 12(2), 1–17. <https://doi.org/10.3390/genes12020255>

- Yang, C., Luo, P., Chen, S. jian, Deng, Z. chao, Fu, X. liang, Xu, D. ning, Tian, Y. bo, Huang, Y. mao, & Liu, W. jun. (2021). Resveratrol sustains intestinal barrier integrity, improves antioxidant capacity, and alleviates inflammation in the jejunum of ducks exposed to acute heat stress. *Poultry Science*, 100(11), 101459. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101459>
- Zanetti, L. H., Granero, L., Da Luz, P. A., Poletto, M., Lala, B., Delbem, N. L. C., Sobral, N. C., Brito, E. P., Denadai, J. C., Andrighetto, C., Roça, R. de O., & Sartori, J. R. (2021). Chemical, Physical And Oxidative Characteristics Of Broilers Meat Supplemented With Passion Fruit Seed Oil. *International Journal for Innovation Education and Research*, 9(12), 69–83. <https://doi.org/10.31686/ijer.vol9.iss12.3555>
- Zanetti, L. H., Murakami, A. E., Diaz-Vargas, M., Guerra, A. F., Ospina-Rojas, I. C., Nascimento, G. R., Santos, T. C. dos, & Pintro, P. T. M. (2016). By-product of passion fruit seed (*Passiflora edulis*) in the diet of commercial laying hens. *Canadian Journal of Animal Science*, 494, 488–494. <https://doi.org/10.1139/cjas-2016-0210>
- Zanetti, L. H., Murakami, A. E., Diaz-Vargas, M., Guerra, A. F., Ospina-Rojas, I. C., Nascimento, G. R., Santos, T. C. dos, & Pintro, P. T. M. (2017). By-Product Of Passion Fruit Seed (*Passiflora Edulis*) In The Diet of Broilers. *Canadian Journal of Animal Science*, 98, 109–118. <https://doi.org/10.1139/cjas-2016-0210>
- Zeferino, C. P., Komiyama, C. M., Pelícia, V. C., Fascina, V. B., Aoyagi, M. M., Coutinho, L. L., Sartori, J. R., & Moura, A. S. A. M. T. (2016). Carcass and meat quality traits of chickens fed diets concurrently supplemented with vitamins C and E under constant heat stress. *Animal*, 10(1), 163–171. <https://doi.org/10.1017/S1751731115001998>
- Zeng, T., Jiang, X., Li, J., Wang, D., Li, G., Lu, L., & Wang, G. (2013). Comparative Proteomic Analysis of the Hepatic Response to Heat Stress in Muscovy and Pekin Ducks: Insight into Thermal Tolerance Related to Energy Metabolism. *PLoS ONE*, 8(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076917>
- Zhang, Q., Yang, Y. Z., Lu, Y. Q., & Cao, Z. W. (2021). iTRAQ-based quantitative proteomic analyses the cycle chronic heat stress affecting liver proteome in

- yellow-feather chickens. *Poultry Science*, 100(6), 101111. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101111>
- Zhang, X., Zhai, W., Li, S., Suman, S. P., Chen, J., Zhu, H., Antonelo, D. S., & Schilling, M. W. (2020). Early postmortem proteome changes in normal and woody broiler breast muscles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(39), 11000–11010. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c03200>
- Zheng, A., Chang, W., Liu, G., Yue, Y., Li, J., Zhang, S., Cai, H., Yang, A., & Chen, Z. (2016). Molecular differences in hepatic metabolism between AA broiler and big bone chickens: A proteomic study. *PLoS ONE*, 11(10), 1–20. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0164702>
- Zheng, H. T., Zhuang, Z. X., Chen, C. J., Liao, H. Y., Chen, H. L., Hsueh, H. C., Chen, C. F., Chen, S. E., & Huang, S. Y. (2021). Effects of acute heat stress on protein expression and histone modification in the adrenal gland of male layer-type country chickens. *Scientific Reports*, 11(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85868-1>
- Zininga, T., Ramatsui, L., & Shonhai, A. (2018). Heat shock proteins as immunomodulants. *Molecules*, 23(11), 2–17. <https://doi.org/10.3390/molecules23112846>

CAPÍTULO 3

Proteômica *shotgun* revela alterações no músculo *Pectoralis major* de frangos de corte suplementados com óleo da semente de maracujá sob condições de estresse cíclico por calor

Artigo redigido de acordo com as normas adaptadas do periódico “*Food Chemistry*”
(*JCR* 2021: 9.231)

Proteômica shotgun revela alterações no músculo Pectoralis major de frangos de corte suplementados com óleo da semente de maracujá sob condições de estresse cíclico por calor

RESUMO

O objetivo deste estudo foi caracterizar as proteínas diferencialmente expressas no músculo *Pectoralis major* de frangos de corte, suplementados com óleo da semente de maracujá (OSM) em condições de estresse cíclico por calor. Foram alojados 90 pintainhos machos de um dia de idade em gaiolas dispostas em câmara climática, onde foram mantidos sob estresse cíclico por calor durante oito horas por dia do início ao final do experimento. As aves foram distribuídas em dois grupos experimentais, sendo um grupo suplementado com 0,9% de OSM e um grupo controle (CON) sem a suplementação de OSM. Aos 36 dias de idade, 18 aves foram abatidas para coleta das amostras de músculo. A partir de *pools* das amostras de filé de peito (músculo *Pectoralis major*) de cada grupo, foi realizado a clivagem proteolítica dos extratos proteicos e posteriormente os peptídeos foram analisados por espectrometria de massas em sequência acoplada com cromatografia líquida (LC-MS/MS). A suplementação de 0,9% de OSM revelou a modulação de 57 proteínas no músculo *Pectoralis major* de frangos de corte expostos ao estresse cíclico por calor. Dentre elas, quatro proteínas foram reguladas positivamente e 46 proteínas foram reguladas negativamente. Além disso, sete proteínas foram expressas unicamente no grupo CON. Estes resultados sugerem que a suplementação de OSM demonstrou mecanismo adaptativo para aumentar a tolerância ao calor, reduzindo o estresse oxidativo. Além disso, ativando mecanismos de neuroproteção, proteção celular contra ocorrência de apoptose celular, diminuição das respostas inflamatórias e regulação do metabolismo energético.

Palavras-chave: estresse oxidativo, *gel free*, LC-MS/MS

- breast (*Pectoralis major*) meat. *Poultry Science*, 95(11), 2696–2706.
<https://doi.org/10.3382/ps/pew213>
- Desouza, M., Gunning, P. W., & Stehn, J. R. (2012). The actin cytoskeleton as a sensor and mediator of apoptosis Melissa. *BioArchitecture*, 2(3), 75–87.
<https://doi.org/10.4161/bioa.20975>
- Duttaroy, A., Bourbeau, D., Wang, X. L., & Wang, E. (1998). Apoptosis rate can be accelerated or decelerated by overexpression or reduction of the level of elongation factor-1 α . *Experimental Cell Research*, 238(1), 168–176.
<https://doi.org/10.1006/excr.1997.3819>
- Field, C. M., & Lénárt, P. (2011). Bulk cytoplasmic actin and its functions in meiosis and mitosis. *Current Biology*, 21(19), 825–830.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2011.07.043>
- Gilmore, J. M., & Washburn, M. P. (2010). Advances in shotgun proteomics and the analysis of membrane proteomes. *Journal of Proteomics*, 73(11), 2078–2091.
<https://doi.org/10.1016/j.jprot.2010.08.005>
- Gloire, G., Legrand-Poels, S., & Piette, J. (2006). NF- κ B activation by reactive oxygen species: Fifteen years later. *Biochemical Pharmacology*, 72(11), 1493–1505.
<https://doi.org/10.1016/j.bcp.2006.04.011>
- Guglielmetti, C., Manfredi, M., Brusadore, S., Sciuto, S., Esposito, G., Ubaldi, P. G., Mazza, M. (2018). Two-dimensional gel and shotgun proteomics approaches to distinguish fresh and frozen-thawed curled octopus (*Eledone cirrhosa*). *Journal of Proteomics*, 186(July), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2018.07.017>
- Hajnóczky, G., Davies, E., & Madesh, M. (2003). Calcium signaling and apoptosis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 304(3), 445–454.
[https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(03\)00616-8](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(03)00616-8)
- He, J., Xia, C., He, Y., Pan, D., Cao, J., Sun, Y., & Zeng, X. (2019). Proteomic responses to oxidative damage in meat from ducks exposed to heat stress. *Food Chemistry*, 295(May), 129–137. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.073>
- Huang, C., Hou, C., Ijaz, M., Yan, T., Li, X., Li, Y., & Zhang, D. (2020). Proteomics discovery of protein biomarkers linked to meat quality traits in post-mortem muscles:

- Current trends and future prospects: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 105(April), 416–432. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.09.030>
- Jiang, S., Mohammed, A. A., Jacobs, J. A., Cramer, T. A., & Cheng, H. W. (2020). Effect of synbiotics on thyroid hormones, intestinal histomorphology, and heat shock protein 70 expression in broiler chickens reared under cyclic heat stress. *Poultry Science*, 99(1), 142–150. <https://doi.org/10.3382/ps/pez571>
- Joo, S. T., Kim, G. D., Hwang, Y. H., & Ryu, Y. C. (2013). Control of fresh meat quality through manipulation of muscle fiber characteristics. *Meat Science*, 95(4), 828–836. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.04.044>
- Jung, U. S., Kim, M. J., Wang, T., Lee, J. S., Jeon, S. W., Jo, N. C., Lee, H. G. (2017). Upregulated heat shock protein beta-1 associated with caloric restriction and high feed efficiency in longissimus dorsi muscle of steer. *Livestock Science*, 202(September 2016), 109–114. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2017.05.009>
- Kawakami, S., Morinaga, M., Tsukamoto-Sen, S., Mori, S., Matsui, Y., & Kawama, T. (2022). Constituent characteristics and functional properties of passion fruit seed extract. *Life*, 12(1). <https://doi.org/10.3390/life12010038>
- Kinumi, T., Kimata, J., Taira, T., Ariga, H., & Niki, E. (2004). Cysteine-106 of DJ-1 is the most sensitive cysteine residue to hydrogen peroxide-mediated oxidation in vivo in human umbilical vein endothelial cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 317(3), 722–728. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.03.110>
- Kulms, D., Düßmann, H., Pöppelmann, B., Ständer, S., Schwarz, A., & Schwarz, T. (2002). Apoptosis induced by disruption of the actin cytoskeleton is mediated via activation of CD95 (Fas/APO-1). *Cell Death and Differentiation*, 9(6), 598–608. <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4401002>
- Kuttappan, V. A., Bottje, W., Ramnathan, R., Hartson, S. D., Coon, C. N., Kong, B. W., Hargis, B. M. (2017). Proteomic analysis reveals changes in carbohydrate and protein metabolism associated with broiler breast myopathy. *Poultry Science*, 96(8), 2992–2999. <https://doi.org/10.3382/ps/pex069>
- Lara, L. J., & Rostagno, M. H. (2013). Impact of heat stress on poultry production. *Animals*, 3(2), 356–369. <https://doi.org/10.3390/ani3020356>

- Li, L., Tan, H., Gu, Z., Liu, Z., Geng, Y., Liu, Y., Su, L. (2014). Heat stress induces apoptosis through a Ca²⁺-mediated mitochondrial apoptotic pathway in human umbilical vein endothelial cells. *Plos One*, 9(12), 1–20. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111083>
- Liu, T., Zhang, L., Joo, D., & Sun, S. C. (2017). NF-κB signaling in inflammation. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2(March). <https://doi.org/10.1038/sigtrans.2017.23>
- Ma, B., Zhang, L., Li, J., Xing, T., Jiang, Y., & Gao, F. (2021). Heat stress alters muscle protein and amino acid metabolism and accelerates liver gluconeogenesis for energy supply in broilers. *Poultry Science*, 100(1), 215–223. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.09.090>
- Ma, D., Liu, Q., Zhang, M., Feng, J., Li, X., Zhou, Y., & Wang, X. (2019). iTRAQ-based quantitative proteomics analysis of the spleen reveals innate immunity and cell death pathways associated with heat stress in broilers (*Gallus gallus*). *Journal of Proteomics*, 196(September 2018), 11–21. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2019.01.012>
- Mouzo, D., Rodríguez-Vázquez, R., Lorenzo, J. M., Franco, D., Zapata, C., & López-Pedrouso, M. (2020). Proteomic application in predicting food quality relating to animal welfare. A review. *Trends in Food Science and Technology*, 99(March), 520–530. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.03.029>
- Narumi, T., Shishido, T., Otaki, Y., Kadowaki, S., Honda, Y., Funayama, A., Kubota, I. (2015). High-mobility group box 1-mediated heat shock protein beta 1 expression attenuates mitochondrial dysfunction and apoptosis. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 82, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2015.02.018>
- Ning, H., Cui, Y., Song, X., Chen, L., Yin, Z., Hua, L., Ge, Y. (2019). iTRAQ-based proteomic analysis reveals key proteins affecting cardiac function in broilers that died of sudden death syndrome. *Poultry Science*, 98(12), 6472–6482. <https://doi.org/10.3382/ps/pez532>
- Qiu, W., Su, W., Cai, Z., Dong, L., Li, C., Xin, M., Wu, Z. (2020). Combined Analysis of Transcriptome and Metabolome Reveals the Potential Mechanism of Coloration and Fruit Quality in Yellow and Purple *Passiflora edulis* Sims. *Journal of*

- Agricultural and Food Chemistry*, 68(43), 12096–12106.
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c03619>
- Ren, W., Zhao, W., Cao, L., & Huang, J. (2021). Involvement of the Actin Machinery in Programmed Cell Death. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8(February).
<https://doi.org/10.3389/fcell.2020.634849>
- Rostagno, H. S., Albino, L. F. T., Hannas, M. I., Donzele, J. L., Sakomura, N. S., Perazzo, F. G., ... Brito, C. O. (2017). *Tabelas Brasileiras Para Aves e Suínos*. (Horacio Santiago Rostagno, Ed.) (4th ed.). Viçosa: Departamento de Zootecnia, UFV.
- Sahin, K., Yenice, E., Bilir, B., Orhan, C., Tuzcu, M., Sahin, N., Kucuk, O. (2019). Genistein prevents development of spontaneous ovarian cancer and inhibits tumor growth in hen model. *Cancer Prevention Research*, 12(3), 135–145.
<https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-17-0289>
- Silva, A. C. da, & Jorge, N. (2016). Bioactive compounds of oils extracted from fruits seeds obtained from agroindustrial waste. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 119(4), 1–5. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201600024>
- Surai, P. F., Kochish, I. I., Fisinin, V. I., & Kidd, M. T. (2019). Antioxidant defence systems and oxidative stress in poultry biology: An update. *Antioxidants*, 8(7), 1–36.
<https://doi.org/10.3390/antiox8070235>
- Tang, S., Yin, B., Xu, J., & Bao, E. (2018). Rosemary reduces heat stress by inducing CRYAB and HSP70 expression in broiler chickens. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/7014126>
- Wang, X., & Hai, C. (2016). Novel insights into redox system and the mechanism of redox regulation. *Molecular Biology Reports*, 43(7), 607–628.
<https://doi.org/10.1007/s11033-016-4022-y>
- Xing, T., Wang, C., Zhao, X., Dai, C., Zhou, G., & Xu, X. (2017). Proteome Analysis Using Isobaric Tags for Relative and Absolute Analysis Quantitation (iTRAQ) Reveals Alterations in Stress-Induced Dysfunctional Chicken Muscle. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(13), 2913–2922.
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b05835>

- Yang, C., Luo, P., Chen, S. jian, Deng, Z. chao, Fu, X. liang, Xu, D. ning, Liu, W. jun. (2021). Resveratrol sustains intestinal barrier integrity, improves antioxidant capacity, and alleviates inflammation in the jejunum of ducks exposed to acute heat stress. *Poultry Science*, 100(11), 101459. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101459>
- Yuan, A., & Nixon, R. A. (2021). Neurofilament Proteins as Biomarkers to Monitor Neurological Diseases and the Efficacy of Therapies. *Frontiers in Neuroscience*, 15(September). <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.689938>
- Zanetti, L. H., Granero, L., Da Luz, P. A., Poletto, M., Lala, B., Delbem, N. L. C., Sartori, J. R. (2021). Chemical, Physical And Oxidative Characteristics Of Broilers Meat Supplemented With Passion Fruit Seed Oil. *International Journal for Innovation Education and Research*, 9(12), 69–83. <https://doi.org/10.31686/ijer.vol9.iss12.3555>
- Zanetti, L. H., Murakami, A. E., Diaz-Vargas, M., Guerra, A. F., Ospina-Rojas, I. C., Nascimento, G. R., ... Pinto, P. T. M. (2017). BY-PRODUCT OF PASSION FRUIT SEED (*Passiflora edulis*) IN THE DIET OF BROILERS. *Canadian Journal of Animal Science*, 98, 109–118. <https://doi.org/10.1139/cjas-2016-0210>
- Zeferino, C. P., Komiyama, C. M., Pelícia, V. C., Fascina, V. B., Aoyagi, M. M., Coutinho, L. L., Moura, A. S. A. M. T. (2016). Carcass and meat quality traits of chickens fed diets concurrently supplemented with vitamins C and E under constant heat stress. *Animal*, 10(1), 163–171. <https://doi.org/10.1017/S1751731115001998>
- Zhang, J., Cao, J., Geng, A., Wang, H., Chu, Q., Yang, L., Liu, H. (2021). Comprehensive Proteomic Characterization of the Pectoralis Major at Three Chronological Ages in Beijing-You Chicken. *Frontiers in Physiology*, 12(March), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.658711>
- Zhang, X., Zhai, W., Li, S., Suman, S. P., Chen, J., Zhu, H., Schilling, M. W. (2020). Early postmortem proteome changes in normal and woody broiler breast muscles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(39), 11000–11010. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c03200>
- Zheng, H. T., Zhuang, Z. X., Chen, C. J., Liao, H. Y., Chen, H. L., Hsueh, H. C., Chen, C. F., Chen, S. E., & Huang, S. Y. (2021). Effects of acute heat stress on protein expression and histone modification in the adrenal gland of male layer-type country

chickens. *Scientific Reports*, 11(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85868-1>

Zhuang, Z. X., Chen, S. E., Chen, C. F., Lin, E. C., & Huang, S. Y. (2019). Genome-wide association study on the body temperature changes of a broiler-type strain Taiwan country chickens under acute heat stress. *Journal of Thermal Biology*, 82(March), 33–42. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2019.03.007>

Zochodne, D. W. (2014). *Mechanisms of diabetic neuron damage: Molecular pathways*. Handbook of Clinical Neurology (1st ed., Vol. 126). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53480-4.00028-X>