

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)  
autor(a), o texto completo desta tese  
será disponibilizado somente a partir  
de 20/09/2026.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITO DO DESAFIO SANITÁRIO NA UTILIZAÇÃO DE  
ENERGIA E NA PARTIÇÃO DA PRODUÇÃO DE CALOR EM  
FRANGOS DE CORTE**

**Rosiane de Souza Camargos**  
Zootecnista

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITO DO DESAFIO SANITÁRIO NA UTILIZAÇÃO DE  
ENERGIA E NA PARTIÇÃO DA PRODUÇÃO DE CALOR EM  
FRANGOS DE CORTE**

**Discente: Rosiane de Souza Camargos**

**Orientadora: Profa. Dra. Nilva Kazue Sakomura**

**Coorientadora: Profa. Dra. Kênia Cardoso Bícego**

**Coorientadora: Profa. Dra. Nara Regina Brandão Cônsolo**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutora em Ciência Animal.

**2024**

C172e

Camargos, Rosiane de Souza

Efeito do desafio sanitário na utilização de energia e na partição da produção de calor em frangos de corte / Rosiane de Souza Camargos.

-- Jaboticabal, 2024

120 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),  
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientadora: Nilva Kazue Sakomura

Coorientadora: Kênia Cardoso Bicego

Coorientadora: Nara Regina Brandão Cônsolo

1. Desafio Patogênico. 2. Gasto energético. 3. Metabolismo  
Energético. 4. Metabolômica. 5. Produção de Calor. I. Título.

## **IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA**

Esta pesquisa visa esclarecer os mecanismos do metabolismo energético em aves submetidas a desafios agudos e crônicos, com foco particular nos custos metabólicos associados às respostas imunológicas e fisiológicas, incluindo febre. Ao investigar como as aves ajustam sua retenção de energia, mobilizam o tecido adiposo e alteram as vias metabólicas para alimentar os processos imunológicos, este estudo contribuirá para uma compreensão mais profunda de como o equilíbrio energético é mantido sob estresse. Os insights obtidos com esta pesquisa podem revelar novas estratégias para mitigar os custos metabólicos das respostas imunológicas, otimizar a eficiência energética e melhorar a saúde geral e o desempenho das aves. Além disso, ao empregar a metabolômica, a pesquisa fornecerá uma compreensão detalhada em nível de sistemas dos processos bioquímicos subjacentes a essas respostas adaptativas, descobrindo biomarcadores específicos e vias metabólicas que podem ser direcionadas para melhorar o bem-estar das aves.

## **POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH**

This research aims to clarify the mechanisms of energy metabolism in birds subjected to acute and chronic challenges, with a particular focus on the metabolic costs associated with immune and physiological responses, including fever. By investigating how birds adjust their energy retention, mobilize adipose tissue, and alter metabolic pathways to fuel immune processes, this study will contribute to a deeper understanding of how energy balance is maintained under stress. The insights gained from this research may reveal new strategies to mitigate the metabolic costs of immune responses, optimize energy efficiency, and improve overall health and performance in birds. Furthermore, by employing metabolomics, the research will provide a detailed, systems-level understanding of the biochemical processes underlying these adaptive responses, uncovering specific biomarkers and metabolic pathways that could be targeted to improve bird welfare.

## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: EFEITO DO DESAFIO SANITÁRIO NA UTILIZAÇÃO DE ENERGIA E NA PARTIÇÃO DA PRODUÇÃO DE CALOR EM FRANGOS DE CORTE

**AUTORA: ROSIANE DE SOUZA CAMARGOS**

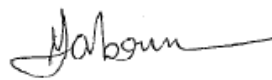
**ORIENTADORA: NILVA KAZUE SAKOMURA**

**COORIENTADORA: KÊNIA CARDOSO BÍCEGO**

**COORIENTADORA: NARA REGINA BRANDAO CÔNSOLO**

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Ciência Animal, área: Nutrição Animal pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. NILVA KAZUE SAKOMURA (Participação Presencial)  
Departamento de Zootecnia / FCAV UNESP Jaboticabal



Documento assinado digitalmente

gov.br

NEI ANDRÉ ARRUDA BARBOSA  
Data: 01/10/2024 15:25:02-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Dr. NEI ANDRÉ ARRUDA BARBOSA (Participação Presencial)  
Departamento de Nutrição Animal / Evonik Degussa Brasil e Nutrição de monogástricos - São Paulo/SP

Prof. Dr. MARCOS MACARI (Participação Presencial)  
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / FCAV UNESP Jaboticabal



Documento assinado digitalmente

gov.br

FLAVIO ALVES LONGO  
Data: 27/09/2024 08:49:50-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Pesquisador Dr. FLÁVIO ALVES LONGO (Participação Presencial)  
Eastman Chemical do Brasil LTDA / São Paulo/SP

Profa. Dra. LEILANE ROCHA BARROS DOURADO (Participação Presencial)  
Departamento de Zootecnia / Universidade Federal do Piauí (UFPI) - Bom Jesus/PI



Jaboticabal, 20 de setembro de 2024

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

ROSIANE DE SOUZA CAMARGOS - nasceu em Carmo do Cajuru, MG no dia 17 de janeiro de 1997. Em março de 2016 ingressou no curso de Zootecnia no Instituto Federal de Minas Gerais - Campus Bambuí, MG, a qual foi monitora das disciplinas de avicultura e estatística experimental. No ano de 2017, desenvolveu sua primeira Iniciação Científica com bolsa do Instituto Federal de Minas Gerais – Campus Bambuí, intitulada “Restrição alimentar em coelhos visando maior rentabilidade” e em 2018 atuou como voluntária do projeto de extensão “Divulgando, Fomentando e Promovendo a Cunicultura: Canal DR CUNI, Boletim de Cunicultura e Curso de Cunicultura à Distância”, ambas sob orientação do Prof. Dr. Luiz Carlos Machado. No ano de 2019, desenvolveu sua segunda Iniciação Científica com bolsa da reitoria do Instituto Federal de Minas Gerais, intitulada “Suplementação de pigmentantes naturais na dieta para frangos caipira e sua influência na coloração da pele e da carne”, sob orientação do Prof. Dr. Adriano Geraldo. Em dezembro de 2020, graduou-se em Zootecnia. Em agosto de 2020, ingressou no curso de Mestrado em Ciência Animal no Laboratório de Ciências Avícolas da UNESP, Jaboticabal - SP, sob orientação da Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Nilva Kazue Sakomura, com bolsa financiada pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) de agosto de 2020 à julho de 2021, sob nº 33004102002P0, e em agosto de 2021 alterou-se o curso de Mestrado para o Doutorado Direto com bolsa financiada pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) até agosto de 2024, sob o nº de processo 2021/08142-5.

“Nunca perca de vista o seu ponto de partida”  
(Santa Clara de Assis)



**Dedico,**

este trabalho primeiramente a Deus por nortear a minha vida. A meus pais José Nilton e Luciana por acreditarem e apoiarem meu sonho. Aos meus irmãos Rodrigo e Renata pelo exemplo e incentivo. E as minhas cachorrinhas Filó e Lola, que sempre me trouxeram conforto e me ensinam o verdadeiro sentido da palavra amor.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus por me guiar, a minha mãe Nossa Senhora por me amparar e ao Divino Espírito Santo por iluminar o meu caminho, e por nunca me deixarem perder a força e a fé para continuar.

Aos meus pais, pelo amor, orações e apoio incondicional. Agradeço por me ensinarem o significado de família, por terem investido na minha educação e por me incentivarem a ir em busca de meus sonhos e objetivos. Obrigada por serem minha base e minha proteção. Amo vocês!

Agradeço a minha mãe Luciana, pelo incentivo nas horas difíceis, de desânimo e fraqueza, e por seu amor sem limites. Suas orações foram essenciais!

Ao meu pai José Nilton, que é meu exemplo de força, coragem e sabedoria, que sempre me fortaleceu e nunca me permitiu desistir. O senhor é incrível!

Ao meu irmão Rodrigo e minha irmã Renata, pela amizade, cumplicidade e que nunca duvidou que eu fosse capaz, sendo sempre meu ponto de equilíbrio e fortaleza em minha vida. Amo vocês!

A meus avós (*in memorian*), que não puderam ver a realização deste sonho, mas são minha luz e proteção. Sinto falta de vocês!

As minhas afilhadas Ana Luísa e Fernandinha, e meus afilhados de coração Maria Eduarda, Luís e Pedro, obrigada pelo carinho e empatia, por entenderem minha ausência dedicada aos estudos. Vocês são minha força!

Ao meu namorado, João Paulo, que me apoiou em todas as fases deste trabalho. Sou muito grata por tudo que faz por mim. Obrigada por me escolher e me acolher!

A todos os meus bichinhos que estiveram junto a mim nesta caminhada e fez com que ela se tornasse mais leve, Caetano, Catarina, Dolores, Filó e Lola. Sem vocês eu não teria chegado até aqui. O amor de vocês é maior que tudo nessa vida!

Obrigada a meus tios, tias, primos, primas, madrinhas e padrinho, obrigada por cada palavra de afeto e zelo.

Meu amigo de apartamento e aviário, por toda cumplicidade, companheirismo e amizade, Bruno, muito obrigada, minha gratidão eterna por tê-lo em minha vida e por ter cuidado tão bem da Lolinha. Sentiremos sua falta!

Aos meus amigos de vida, graduação e pós-graduação, em especial: Alexander, Fernandinha, Guilherme, Karine, Larissa e Thaís, vocês foram essenciais nessa jornada.

A Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Nilva Sakomura, pela orientação. Por todas as oportunidades, discussões, correções, confiança em meu trabalho realizado e acima de tudo, por acreditar em mim. Obrigada pelos ensinamentos, pelas oportunidades e cobranças, pude aprender com tudo isso. A senhora será sempre lembrada em minha vida!

A Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Nara Cônsolo pela coorientação, parceria, disponibilidade e por todos os ensinamentos. A Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Kênia Cardoso também por sua coorientação e colaboração em meu trabalho. Ao Prof. Dr. Marcos Macari, pelo apoio, incentivo, sendo sempre muito receptivo e atencioso, estando sempre de portas abertas, o senhor foi essencial para meu trabalho. Serei eternamente grata!

Ao Dr. Rony Riveros, por sua valiosa colaboração, por sua paciência, ensinamentos e disponibilidade, por sempre acreditar em meu potencial e me incentivar, mostrando sempre que eu era capaz, mesmo quando nem eu acreditava. Eu aprendi muito com você, muito obrigada!

A equipe do temático, aos colegas da pós, aos estagiários e funcionários do setor Toninho e Beterraba, a ajuda e apoio de vocês foram fundamentais.

À banca de defesa Dr. Flávio Longo, Dr<sup>a</sup> Leilane Dourado, Dr. Marcos Macari, Dr. Nei Arruda, pelas contribuições neste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) pelo suporte financeiro e concessão da bolsa inicial de mestrado (nº do processo: 88887.512526/2020-00)

À FAPESP pelo suporte financeiro e concessão da bolsa de doutorado direto (2021/08124-5), e ao Projeto Temático “Energia líquida para aves” (2019/26575-6).

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, pela receptividade, pela formação profissional, pelas inúmeras oportunidades e pela concessão das instalações para realização deste trabalho. Ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da FCAV-UNESP e funcionários, pelo exemplo de profissionalismo e competência.

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

E a todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho. Meu muito obrigada.

## SUMÁRIO

|                                                                                                                                                                                   | Página |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais.....                                                                                                                                            | 1      |
| Introdução.....                                                                                                                                                                   | 1      |
| Revisão de Literatura.....                                                                                                                                                        | 4      |
| Metabolismo Energético .....                                                                                                                                                      | 4      |
| Partição da Energia .....                                                                                                                                                         | 5      |
| Sistemas de energia .....                                                                                                                                                         | 6      |
| Calorimetria .....                                                                                                                                                                | 7      |
| Particionamento da produção de calor.....                                                                                                                                         | 9      |
| Custo Metabólico e Resposta Imune .....                                                                                                                                           | 10     |
| Sistema imunológico.....                                                                                                                                                          | 12     |
| Mecanismos moleculares da febre.....                                                                                                                                              | 16     |
| Metabolômica e Desafio Sanitário .....                                                                                                                                            | 17     |
| Modelos de Desafio: Lipopolissacarídeo vs. Eimeria + Clostridium.....                                                                                                             | 19     |
| Referências Bibliográficas .....                                                                                                                                                  | 22     |
| CAPÍTULO 2 - Dynamics of energy utilization in growing chicks under challenge conditions .....                                                                                    | 29     |
| ABSTRACT .....                                                                                                                                                                    | 31     |
| INTRODUCTION .....                                                                                                                                                                | 33     |
| MATERIALS AND METHODS .....                                                                                                                                                       | 35     |
| RESULTS .....                                                                                                                                                                     | 40     |
| DISCUSSION .....                                                                                                                                                                  | 42     |
| CONCLUSION.....                                                                                                                                                                   | 48     |
| REFERENCES .....                                                                                                                                                                  | 49     |
| CAPÍTULO 3 - Metabolomic evaluation associated with energy expenditure and demand for internal body temperature change in response to lipopolysaccharide challenged broilers..... | 59     |
| ABSTRACT .....                                                                                                                                                                    | 61     |
| INTRODUCTION .....                                                                                                                                                                | 62     |
| MATERIALS AND METHODS .....                                                                                                                                                       | 64     |
| RESULTS .....                                                                                                                                                                     | 71     |
| DISCUSSION .....                                                                                                                                                                  | 77     |
| REFERENCES .....                                                                                                                                                                  | 83     |
| CAPÍTULO 4 – Considerações Finais.....                                                                                                                                            | 100    |



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Câmpus de Jaboticabal



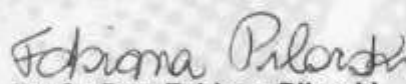
## CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

### CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado **"Efeito do desafio sanitário no particionamento da produção de calor e na utilização de energia em frangos de corte"**, protocolo nº 5399/20, sob a responsabilidade da Profa. Dra. Nilva Kazue Sakomura, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 10 de dezembro de 2020.

|                     |                                            |
|---------------------|--------------------------------------------|
| Vigência do Projeto | 23/05/2021 a 30/06/2021                    |
| Espécie / Linhagem  | <i>Gallus gallus domesticus</i> / Cobb 500 |
| Nº de animais       | 100                                        |
| Peso / Idade        | 40 g / 1 dia                               |
| Sexo                | Machos                                     |
| Origem              | Incubatório Pluma, Descalvado - SP         |

Jaboticabal, 10 de dezembro de 2020.

  
**Profa. Dra. Fabiana Pilarski**  
Coordenadora – CEUA

## EFEITO DO DESAFIO SANITÁRIO NA UTILIZAÇÃO DE ENERGIA E NA PARTIÇÃO DA PRODUÇÃO DE CALOR EM FRANGOS DE CORTE

**RESUMO** – O estímulo do sistema imunológico do hospedeiro resulta na redução do crescimento, devido à utilização de fontes endógenas para garantir a sobrevivência, prejudicando a deposição tecidual e resultando em menor ganho de massa corporal. Sob desafios de saúde, as fontes de energia são utilizadas para garantir funções essenciais e apoiar o sistema imunológico. Porém, as alterações no metabolismo energético quando as aves são desafiadas pelo estresse imunológico ainda não são totalmente compreendidas, sendo essencial entender o uso da energia diante de um desafio sanitário e as alterações no metabolismo. O objetivo da presente tese foi avaliar as adaptações fisiológicas e metabólicas, e seu impacto na utilização de energia de frangos de corte submetidos a diferentes modelos de desafios sanitários. Os modelos de desafio utilizados foram Ensaio 1: indução de enterite necrótica (*Eimeria maxima* e *Clostridium perfringens*) e Ensaio 2: desafio por lipopolissacarídeo de *Escherichia coli*. No primeiro ensaio foram utilizados 96 frangos de corte machos Cobb-500 criados em gaiolas até completarem 12 dias de idade. Aos 13 d, as aves foram distribuídas aleatoriamente nos tratamentos experimentais: AL (consumo de ração *ad libitum* sem desafio), C (aves desafiadas) e PF (aves não desafiadas com alimentação pareada em referência ao grupo C). As aves foram alocadas em câmaras respirométricas para habituação por um período de um dia. O protocolo de desafio consistiu na inoculação de *E. maxima* aos 14 d e *C. perfringens* aos 18, 19 e 20 d, ambos procedimentos via gavagem oral. De 14 a 22 d foi mensurado o consumo de ração, peso vivo, produção de excretas, consumo de O<sub>2</sub> e a produção de CO<sub>2</sub>. No ensaio 2 foram utilizados 21 frangos de corte machos Cobb-500, criados em gaiolas até 18 dias de idade. Aos 19 d, as aves foram distribuídas em três tratamentos: Controle não desafiado (CON), aves desafiadas com 10 µg LPS/kg PV (10LPS) e 100 µg LPS/kg PV (100LPS) da cepa LPS de *E. coli*. Aos 21 d, o LPS foi administrado por via intramuscular no peito. As variáveis de trocas gasosas e temperatura corporal interna foram registradas continuamente durante 23 horas em condições de jejum. Aos 22 d, foi realizada a coleta de sangue e fígado para análise do perfil de metabólitos. No ensaio 1, os resultados demonstram que o tratamento AL apresentou maior consumo de ração e peso corporal que os tratamentos PF e C ( $P<0,05$ ). O desafio patogênico influenciou notavelmente na utilização de energia, com uma redução significativa no consumo de energia metabolizável ( $P<0,05$ ) e se observou uma mobilização da energia de fontes endógenas do tecido lipídico ( $P<0,05$ ). A diminuição da eficiência energética residual foi observada como um efeito específico do desafio (aproximadamente 20%) e à anorexia induzida pela doença (aproximadamente 10%). No ensaio 2, observou-se que o tratamento 100LPS apresentou uma menor produção de calor ( $P<0,05$ ) comparado ao grupo CON, e semelhante ao 10LPS ( $P>0,05$ ). O quociente respiratório e a temperatura corporal foram maiores no 10LPS ( $P<0,05$ ). Esta variação no metabolismo resultou de uma diminuição da abundância de metabólitos (aminoácidos, vitaminas, ácidos graxos e outros) refletindo seu uso em aves desafiadas (10LPS e 100LPS), em relação ao tratamento CON. Os resultados desta pesquisa evidenciam que as aves desafiadas reduzem o consumo voluntário de ração, afetando o crescimento. Sendo este o resultado da alteração no metabolismo

energético das aves para garantir a resposta imunológica. Os desafios patogênicos ocasionam redução das taxas de retenção de energia e mobilização do tecido adiposo como fonte de energia para resposta imunológica em desafios prolongados. Por outro lado, as aves desenvolvem processos febris sob desafios prolongados e sistêmicos. Estas alterações na utilização de energia e na resposta fisiológica é evidenciada pela alteração no perfil de metabólitos. Compreender estas respostas aos desafios patogênicos pode ajudar a desenvolver estratégias eficazes para otimizar o crescimento das aves.

**Palavras-chave:** Desafio Patogênico, Gasto energético, Metabolismo Energético, Metabolômica, Produção de Calor, Temperatura corporal



## EFFECT OF THE HEALTH CHALLENGE ON ENERGY UTILIZATION AND HEAT PRODUCTION PARTITIONING IN BROILER CHICKENS

**ABSTRACT** – The stimulation of the host's immune system results in reduced growth due to the utilization of endogenous sources to ensure survival, impairing tissue deposition and leading to lower body mass gain. Under health challenges, energy sources are used to ensure essential functions and support the immune system. However, the changes in energy metabolism when birds are challenged by immune stress are still not fully understood, making it essential to understand energy use in the face of a health challenge and the alterations in metabolism. The objective of this thesis was to evaluate the physiological and metabolic adaptations and their impact on energy utilization in broilers subjected to different health challenge models. The challenge models used were: Trial 1: induction of necrotic enteritis (*Eimeria maxima* and *Clostridium perfringens*) and Trial 2: challenge by *Escherichia coli* lipopolysaccharide. In the first trial, 96 male Cobb-500 broilers were raised in cages until they were 12 days old. At 13 days, the birds were randomly distributed into experimental treatments: AL (*ad libitum* feed consumption without challenge), C (challenged birds), and PF (unchallenged birds with paired feeding reference to group C). The birds were placed in respirometry chambers for a day of habituation. The challenge protocol consisted of inoculation of *E. maxima* at 14 days and *C. perfringens* at 18, 19, and 20 days, both procedures via oral gavage. From 14 to 22 days, feed intake, body weight, excreta production, O<sub>2</sub> consumption, and CO<sub>2</sub> production were measured. In trial 2, 21 male Cobb-500 broiler chicks were raised in cages until 18 days old. At 19 days, the birds were distributed into three treatments: non-challenged control (CON), challenged broilers with 10 µg LPS/kg BW (10LPS) and 100 µg LPS/kg BW (100LPS) of the *E. coli* LPS strain. At 21 days, LPS was administered intramuscularly in the breast. Gas exchange variables and internal body temperature were recorded continuously for 23 hours under fasting conditions. At 22 days, blood and liver samples were collected for metabolite profile analysis in each tissue. In trial 1, the results showed that the AL treatment had higher feed intake and body weight than the PF and C treatments ( $P < 0.05$ ). The pathogenic challenge notably influenced energy utilization, with a significant reduction in metabolizable energy intake ( $P < 0.05$ ) and mobilization of energy from endogenous lipid tissue sources ( $P < 0.05$ ). The decrease in residual energy efficiency was observed as a specific effect of the challenge (approximately 20%) and disease-induced anorexia (approximately 10%). In trial 2, it was observed that the 100LPS treatment had lower heat production ( $P < 0.05$ ) compared to the CON group and similar to the 10LPS ( $P > 0.05$ ). The respiratory quotient and body temperature were higher in 10LPS ( $P < 0.05$ ). This variation in metabolism resulted from a decrease in the abundance of metabolites (amino acids, vitamins, fatty acids, and others) in challenged birds (10LPS and 100LPS) compared to the CON treatment. The results of this research show that challenged birds reduce voluntary feed intake, affecting growth. This is a result of the altered energy metabolism of birds to ensure the immune response. Pathogenic challenges lead to reduced energy retention rates and mobilization of adipose tissue as an energy source for the immune response in prolonged challenges. On the other hand, birds develop febrile processes under prolonged and systemic challenges. These changes in energy utilization and physiological response are evidenced by the

altered metabolite profile. Understanding these responses to health challenges can help develop effective strategies to optimize bird growth.

**Keywords:** Pathogenic Challenge, Energy Expenditure, Energy Metabolism, Metabolomics; Heat Production, Body Temperature

## **CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais**

### **Introdução**

O crescimento acelerado de frangos de corte modernos está atrelado ao seu alto consumo de ração e elevada eficiência de utilização dos nutrientes. No entanto, distúrbios no estado de saúde das aves ocasionam uma redução do consumo voluntário de ração e diminuição na eficiência de utilização de nutrientes e energia, pois uma fração da energia é destinada para atender as demandas da resposta imune, sendo um dos principais efeitos deletérios durante o desenvolvimento da doença (Arai, 2014; M'Sadeq et al., 2016).

A ativação da resposta imune é o principal mecanismo de defesa que garante a sobrevivência do hospedeiro (Lochmiller e Deerenberg, 2000), e pode ser classificada como um mecanismo inato e adaptativo, atuando em curto e longo prazo, respectivamente (Humphrey e Klasing, 2004). A resposta imune protege o organismo contra patógenos, objetivando manter o equilíbrio homeostático. Esta ativação mantém a homeostase tecidual para garantir um balanço entre a síntese e degradação em proporções que não prejudiquem o organismo. Como as células que compõem o sistema imune carecem de estoques contínuos de nutrientes, essas respostas efectoras só podem ser sustentadas por meio de um aumento drástico na utilização e aproveitamento de glicose, aminoácidos e ácidos graxos de seu microambiente (Ganeshan e Chawla, 2014). Essa ativação requer energia tanto advinda do alimento, e principalmente das reservas endógenas, acarretando distúrbios na utilização de nutrientes (Kogut, 2009), consequentemente impacta no desempenho do animal.

A utilização e destino metabólico dos nutrientes para resposta imune auxilia principalmente a dois propósitos importantes. Primeiro, fornecem os substratos para a síntese de Adenosina Trifosfato (ATP) e sustentam os diversos mecanismos de ação das células imunes ativadas. Em segundo lugar, fornecem os blocos de construção (monômeros) para a síntese de macromoléculas (oligoproteínas e fosfolipídios), que são necessárias para a proliferação e ação de células do sistema imune (Ganeshan e Chawla, 2014). Nesse sentido, o suprimento e uso dos nutrientes pela unidade celular, e consequentemente pelo organismo, tornam-se diferentes sob condições de desafio comparado a uma

condição sadia. Além disso, o uso dos nutrientes pode variar dependendo do grau da infecção, tipo de agente patogênico, entre outros, que principalmente se reflete na ação e tipo da endotoxina (Mohammad e Thiemermann, 2021).

Nesse sentido, sob condições de estresse imunológico, o anabolismo de tecido proteico e lipídico será reduzido, enquanto que haverá um aumento na taxa catabólica destes tecidos, com intuito de alcançar a exigência de nutrientes para sintetizar moléculas efetoras imunológicas. Adicionalmente, há uma mudança na partição de nutrientes dietéticos direcionado para as respostas metabólicas, que dão suporte ao sistema imunológico (Johnson, 1997). A ativação da resposta imunológica, ocasiona alterações, devido à resposta febril e reações inflamatórias, que consomem recursos consideráveis, esgotando estoques de carboidratos e catabolizando proteínas (Iseri e Klasing, 2013).

Esta alteração no equilíbrio térmico interno do indivíduo, faz parte do componente termorregulador da resposta imune a um patógeno, e pode ser um custo-chave no orçamento energético de uma ave, quando a resposta induzida é a febre (Marais et al., 2011). A febre, definida como hipertermia regulada, é parte de uma reação fisiológica intrincada a patógenos invasores, conhecida como resposta de fase aguda. Durante a febre, o sistema termorregulador é ajustado de uma maneira que favorece a retenção de calor e a produção de calor, enquanto os mecanismos de perda de calor são reduzidos. Para frangos de corte, nessas condições, o metabolismo energético terá um impacto direto na ingestão de ração, composição da carcaça e eficiência alimentar, sendo crucial entender o que ocorre por trás desse metabolismo, relacionado as respostas metabólicas e; também as alterações das rotas metabólicas dos nutrientes e seu perfil de metabólitos.

A metabolômica é uma ferramenta que desempenha um papel crucial na compreensão das respostas bioquímicas e fisiológicas de aves submetidas a desafios patogênicos, esta abordagem permite a análise abrangente dos metabólitos dentro do organismo, esclarecendo as mudanças nas vias metabólicas (Wu et al., 2022). Quando as aves enfrentam um desafio sanitário, o seu metabolismo sofre alterações significativas para satisfazer as crescentes exigências energéticas e para manter a homeostase interna. A metabolômica ajuda a identificar as mudanças nos principais processos metabólicos, como o metabolismo da glicose e dos lipídios, que são as principais fontes para a

produção de ATP, a moeda energética das células (Weckmann et al., 2018). Além disso, revela a ativação de vias específicas envolvidas na resposta imunológica e na adaptação ao estresse, fornecendo informações sobre como as aves gerenciam os recursos energéticos durante a doença.

Em geral, o estímulo no sistema imunológico de um hospedeiro resulta em redução no crescimento, devido ao uso de fontes endógenas e alocação dos recursos, objetivando a sobrevivência e prejudicando a deposição dos tecidos, resultando em menor ganho de massa corporal. Sob desafios de saúde, as fontes de energia são utilizadas para garantir as funções essenciais e o suporte do sistema imunológico (Van Eerden, 2007). No entanto, as mudanças do metabolismo energético quando as aves são desafiadas pelo estresse imunológico ainda não é totalmente compreendida, sendo essencial conhecer a utilização de energia diante de um desafio sanitário, onde o animal e seu metabolismo são modulados para readequação e atendimento das exigências nutricionais nesta condição.

O objetivo da tese foi avaliar as alterações metabólicas e fisiológicas de aves submetidas a diferentes modelos de desafio, e seu impacto na utilização de energia e as adaptações no perfil de metabólitos.

### ACKNOWLEDGMENTS

The authors acknowledge the São Paulo Research Foundation—FAPESP (Brazil) for financial support grant number 2019/26575-6 (thematic project Net Energy for Poultry), 2020/14441-2 (facility and infrastructure) and, PhD scholarship of first author grant number 2021/08142-5.

### REFERENCES

- Adams, E., and L. Frank. 1980. Metabolism of proline and the hydroxyprolines. *Annu. Rev. Biochem.* 49(1):1005-1061. doi: 10.1146/annurev.bi.49.070180.005041
- Afrouziyeh, M., N. M. Zukiwsky, D. R. Korver, and M. J. Zuidhof. 2022. Plasma metabolomic profiling reveals potential onset of lay biomarkers in broiler breeders. *Poult. Sci.* 101(1):101532. doi: 10.1016/j.psj.2021.101532
- Amaral-Silva, L., H. Tazawa, K. C. Bicego, and W. W. Burggren. 2020. Metabolic and hematological responses to endotoxin-induced inflammation in chicks experiencing embryonic TCDD exposure. *Environ. Toxicol. Chem.* 39:2208-2220. doi: 10.1002/etc.4832

- Amaral-Silva, L., L. H. Gargaglioni, A. A. Steiner, M. T. Oliveira, and K. C. Bicego. 2021. Regulated hypothermia in response to endotoxin in birds. *J. Physiol.* 11:2969-2986. doi: 0.1113/JP281385
- Amaral-Silva, L., W. C. Silva, L. H. Gargaglioni, and K. C. Bicego. 2022. Metabolic trade-offs favor regulated hypothermia and inhibit fever in immune-challenged chicks. *J. Exp. Biol.* 225. doi: 10.1242/jeb.243115
- Anderson, R. J., and W. L. Kulp. 1922. A Study of the Metabolism and Respiratory Exchange in Poultry during Vitamine Starvation and Polyneuritis. *J Biol Chem.* 1922;52:69–89. doi: 10.1016/S0021-9258(18)85853-7
- Blair, E., G. Henning, R. Hornick, and R. A. Cowley. 1964. Hypothermia in bacteremic shock. *Arch. Surg.* 89:619-629. doi:10.1001/archsurg.1964.01320040035006
- Brouwer, E. 1965. Report of sub-committee on constants and factors. In: *Energy Metabolism. Proc. 3rd Symp.* Academic Press.
- Cobb Vantress. 2022. Performance & Nutrition Supplement. Cobbgenetics.com. Available from: <https://www.cobbgenetics.com>. Accessed July 31, 2024.
- Cônsolo, N. R. B., V. L. M. Buarque, J. Silva, M. D. Poleti, L. C. G. S. Barbosa, A. Higuera-Padilla, et al. 2021. Muscle and liver metabolomic signatures associated with residual feed intake in Nellore cattle. *Anim. Feed Sci. Technol.* 271:114757. doi: 0.1016/j.anifeedsci.2020.114757
- Dantonio, V., M. E. Batalhão, M. H. M. R. Fernandes, E. N. Komegae, G. A. Buqui, N. P. Lopes, et al. 2016. Nitric oxide and fever: immune-to-brain signaling vs. thermogenesis in chicks. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 310:896-905. doi: 10.1152/ajpregu.00453.2015
- Deng, C., J. Zheng, H. Zhou, J. You, and G. Li. 2023. Dietary glycine supplementation prevents heat stress-induced impairment of antioxidant status and intestinal barrier function in broilers. *Poult. Sci.* 102(3):102408. doi: 10.1016/j.psj.2022.102408
- Gerrits, W. J. J., J. J. G. C. Van den Borne, and E. Labussière. 2015. Deriving heat production from gaseous exchange: validity of the approach. In *Indirect calorimetry* (pp. 19-34). Wageningen Academic. doi: 10.3920/9789086868094\_002
- Gray, D. A., M. Marais, and S. K. Maloney. 2013. A review of the physiology of fever in birds. *J. Comp. Physiol. B Biochem. Syst. Environ. Physiol.* 183:297-312. doi:10.1007/s00360-012-0718-z
- Holeček, M. 2024. Origin and Roles of Alanine and Glutamine in Gluconeogenesis in the Liver, Kidneys, and Small Intestine under Physiological and Pathological Conditions. *Int. J. Mol. Sci.* 25(13):7037. doi: 10.3390/ijms25137037
- Hu, S., W. He, and G. Wu. 2022. Hydroxyproline in animal metabolism, nutrition, and cell signaling. *Amino Acids.* 54(4):513-528. doi: 10.1007/s00726-021-03056-x
- Humphrey, T. 2006. Are happy chickens safer chickens? Poultry welfare and disease susceptibility. *Br. Poult. Sci.* 47(4):379-391. doi: 10.1080/00071660600829084

- Johnson, R. W. 1997. Inhibition of growth by pro-inflammatory cytokines: an integrated view. *J. Anim. Sci.* 75(5):1244-1255. doi: 10.2527/1997.7551244x
- Julian, R. J. 2005. Production and growth related disorders and other metabolic diseases of poultry—a review. *Vet. J.* 169:350-369. doi: 10.1016/j.tvjl.2004.04.015
- Lee, K. A. 2006. Linking immune defenses and life history at the levels of the individual and the species. *Integr. Comp. Biol.* 46(6):1000-1015. doi: 10.1093/icb/icl049
- Lighton, J. R. 2018. *Measuring metabolic rates: a manual for scientists*. 2nd ed. Oxford: Oxford University Press. doi: 10.1093/oso/9780198830399.001.0001
- Liu, E., K. Lewis, H. Al-Saffar, C. M. Krall, A. Singh, V. A. Kulchitsky, et al. 2012. Naturally occurring hypothermia is more advantageous than fever in severe forms of lipopolysaccharide- and *Escherichia coli*-induced systemic inflammation. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 302(12):1372-1383. doi: 10.1152/ajpregu.00023.2012
- Liu, L., D. Qin, X. Wang, Y. Feng, X. Yang, and J. Yao. 2014. Effect of immune stress on growth performance and energy metabolism in broiler chickens. *Food Agric. Immunol.* 26(2):194-203. doi: 10.1080/09540105.2014.882884
- Lopez, G., and S. Leeson. 2008. Energy partitioning in broiler chickens. *Can. J. Anim. Sci.* 88(2):205-212. doi: 10.4141/CJAS07087
- M'Sadeq, S. A., S. B. Wu, M. Choct, and R. A. Swick. 2016. Heat production and energy efficiency of broilers infected with necrotic enteritis. *Avian Dis.* 60(1):50-55. doi: 10.1637/11233-070915-Reg.1
- Maldonado, R. F., I. Sá-Correia, and M. A. Valvano. 2016. Lipopolysaccharide modification in Gram-negative bacteria during chronic infection. *FEMS Microbiol. Rev.* 40(4):480-493. doi: 10.1093/femsre/fuw007
- Martí i Líndez, A. A., and W. Reith. 2021. Arginine-dependent immune responses. *Cell. Mol. Life Sci.* 78(13):5303-5324. doi: 10.1007/s00018-021-03828-4
- Martínez, Y., X. Li, G. Liu, P. Bin, W. Yan, D. Más, et al. (2017). The role of methionine on metabolism, oxidative stress, and diseases. *Amino Acids.* 49:2091-2098. doi: 10.1007/s00726-017-2494-2
- Matias, I. F. B., E. S. P. Santos, J. M. B. D. C. Valim, A. Castro, A. G. Ferreira, L. C. Barbosa, et al. 2024. Preparation of ruminal fluid and serum samples from beef cattle for nuclear magnetic resonance based-metabolomics. *N. Z. J. Agric. Res.*:1-14. doi: 10.1080/00288233.2024.2344506
- Min, Y. N., S. G. Liu, Z. X. Qu, G. H. Meng, and Y. P. Gao. 2017. Effects of dietary threonine levels on growth performance, serum biochemical indexes, antioxidant capacities, and gut morphology in broiler chickens. *Poult. Sci.* 96(5):1290-1297. doi: 10.3382/ps/pew393
- Misson, B. H. 1974. An open circuit respirometer for metabolic studies on the domestic fowl: establishment of standard operating conditions. *Br. Poult. Sci.* 15(3):287-297. doi: 10.1080/00071667408416109



- Mozzi, F., M. E. Ortiz, J. Bleckwedel, L. De Vuyst, and M. Pescuma. 2013. Metabolomics as a tool for the comprehensive understanding of fermented and functional foods with lactic acid bacteria. *Int. J. Food Res.* 54(1):1152-1161. doi: 10.1016/j.foodres.2012.11.010
- Ouyang, J., Q. Li, H. Zhou, G. Li, Y. Wu, L. Yang, and G. Li. 2023. Tryptophan alleviates chronic heat stress–induced impairment of antioxidant capacities, inflammatory response, and mitochondrial function in broilers. *Trop. Anim. Health Prod.* 55(6):425. doi: 10.1007/s11250-023-03842-7
- Page, M. J., D. B. Kell, and E. Pretorius. 2022. The role of lipopolysaccharide-induced cell signalling in chronic inflammation. *Chronic Stress.* 6:1-18. doi: 10.1177/24705470221076390.
- Park, I., H. Nam, Y. Lee, A. Smith, T. Rehberger, and H. Lillehoj. 2024. Effect of  $\beta$ -Alanine Metabolite on Gut Integrity and Immunity in Commercial Broiler Chickens Infected with *Eimeria maxima*. *Animals.* 14(17):2558. doi: 10.3390/ani14172558
- Qi, J., L. Gan, J. Fang, J. Zhang, X. Yu, H. Guo, et al. 2022. Beta-hydroxybutyrate: a dual function molecular and immunological barrier function regulator. *Front. Immunol.* 13:805881. doi: 10.3389/fimmu.2022.805881
- Reisinger, N., B. Doupovec, T. Czabany, F. Van Immerseel, S. Croubels, and G. Antonissen. 2024. Endotoxin translocation is increased in broiler chickens fed a fusarium mycotoxin-contaminated diet. *Toxins.* 16(4):167. doi: 10.3390/toxins16040167
- Robinson, A. M., and D. H. Williamson. 1980. Physiological roles of ketone bodies as substrates and signals in mammalian tissues. *Physiol. Rev.* 60(1):143-187. doi: 10.1152/physrev.1980.60.1.143
- Romanovsky, A. A., O. S. A. M. U. Shido, S. O. H. T. A. R. O. Sakurada, N. A. O. T. O. S. H. I. Sugimoto, and T. E. T. S. U. O. Nagasaka. 1996. Endotoxin shock: thermoregulatory mechanisms. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 270(4): R693-R703. doi: 10.1152/ajpregu.1996.270.4.R693
- Ruuskanen, S., B. Y. Hsu, and A. Nord. 2021. Endocrinology of thermoregulation in birds in a changing climate. *Mol. Cell. Endocrinol.* 519:111088. doi: 10.1016/j.mce.2020.111088
- Steiner, A. A., and A. A. Romanovsky. 2019. Energy trade-offs in host defense: immunology meets physiology. *Trends Endocrinol. Metab.* 30:875-878. doi: 10.1016/j.tem.2019.08.012
- Teofilo, G. F. S, R. R. Lizana, R. S. Camargos, B. B. Leme, F. A. H. Morillo, R. L. Silva, et al. 2022. Effect of feed restriction on the maintenance energy requirement of broiler breeders. *Anim. Biosci.* 35(5):690. doi: 10.5713/ab.21.0183
- Utter, M. F., D. B. Keech, and M. C. Scrutton. 1964. A possible role for acetyl CoA in the control of gluconeogenesis. *Adv. Enzym. Regul.* 2:49-68. doi: 10.1016/S0065-2571(64)80005-4

- Webb, P. A. U. L. 1995. The physiology of heat regulation. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 268(4), R838-R850. doi: 10.1152/ajpregu.1995.268.4.R838
- Wilcox, C. H., V. Sandilands, N. Mayasari, I. Y. Asmara, and A. Anang. 2024. A literature review of broiler chicken welfare, husbandry, and assessment. *J. World's Poult. Sci.* 80(1):3-32. doi: 10.1080/00439339.2023.2264824
- Wu, Q. J., Y. M. Zhou, Y. N. Wu, L. L. Zhang, and T. Wang. 2013. The effects of natural and modified clinoptilolite on intestinal barrier function and immune response to LPS in broiler chickens. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 153(1-2):70-76. doi: 10.1016/j.vetimm.2013.02.006
- Zampiga, M., F. Calini, and F. Sirri. 2021. Importance of feed efficiency for sustainable intensification of chicken meat production: implications and role for amino acids, feed enzymes, and organic trace minerals. *J. World's Poult. Sci.* 77(3):639-659. doi: 10.1080/00439339.2021.1959277