



Metionina hidroxi análoga e DL-metionina: efeitos na histomorfometria intestinal e do aparelho reprodutivo de poedeiras leves na fase de produção

[Hydroxy methionine analog and DL-methionine: effects on intestinal and reproductive tract histomorphometry of light laying hens during the production phase]

Thamires da Silva Ferreira^{*1} , Márcia das Neves Soares² , Isabelle Naemi Kaneko³ , Sarah Gomes Pinheiro¹ , Fernando Guilherme Perazzo Costa¹ , Romilton Ferreira de Barros Júnior¹ , Joelma Vasconcelos Celestino da Silva¹ 

1 Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Areia, Paraíba, Brasil 

2 Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, Minas Gerais, Brasil 

3 Universidade Federal de Rondônia (UNIR), Porto Velho, Rondônia, Brasil 

*autor correspondente: thamiressf55@gmail.com

Recebido: 09 de maio de 2025. Aceito: 06 de janeiro de 2026. Publicado: 06 de fevereiro de 2026

Editor: Rondineli P. Barbero

Resumo: Avaliou-se a bioeficácia relativa do ácido 2-hidroxi-4-(metiltio)butanóico sal de cálcio (HMBA-Ca) em comparação a DL-metionina (DLM) aos níveis de metionina em poedeiras leves nos parâmetros histomorfométricos e hepáticos. Um total de 1080 poedeiras Hy-line W80 foram distribuídas aleatoriamente em arranjo fatorial: 2x4+1 (2 fontes, 4 níveis de suplementação cada: 0.46, 0.54, 0.56 e 0.58 % e 1 grupo isento de suplementação). No intestino, aves alimentadas com DLM tiveram maior largura, altura e área de superfície de vilos e relação vilos cripta ($p < 0.05$). A bioeficácia foi de 99, 78, 83 e 79 %, respectivamente. A suplementação de metionina reduziu a probabilidade de esteatose ($p < 0.05$). A suplementação proporcionou redução do perfil lipídico hepático ($p < 0.05$). DLM apresentou maior espessura de epitélio do magno e os níveis influenciaram altura e largura de dobra uterínica ($p < 0.05$). A bioeficácia foi de 70, 131 e 76 %. A suplementação de metionina independente da fonte utilizada foi benéfica ao desenvolvimento da mucosa intestinal, do útero, magno, e menor incidência de esteatose hepática. De acordo com a bioeficácia, aves alimentadas com DLM apresentam maior biodisponibilidade em relação a HMBA-Ca. Contudo, recomenda-se o nível de 0.58 % de metionina com a DLM por ter proporcionado os melhores resultados.

Palavras-chave: morfometria intestinal; gordura hepática; dobras uterinas.

Abstract: The bioefficacy of calcium salt of 2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic acid (HMBA-Ca) as a methionine source was evaluated against DL-methionine (DLM) in light-laying hens by assessing histomorphometric and hepatic parameters. A total of 1,080 Hy-Line W80 laying hens were randomly assigned to a 2x4+1 (two methionine sources; four supplementation levels: 0.46 %, 0.54 %, 0.56 %, and 0.58 %; and one control group without supplementation). Birds fed DLM exhibited increased villus width, height, surface area, and villus-to-crypt ratio ($p < 0.05$). The calculated bioefficiencies were 99 %, 78 %, 83 %, and 79 %, respectively. Methionine supplementation reduced the probability of hepatic steatosis ($p < 0.05$) and decreased the hepatic lipid profile ($p < 0.05$). DLM increased



epithelial thickness in the magnum, and the supplementation levels influenced the height and width of the uterine folds ($p < 0.05$). The corresponding bioefficacy values were 70 %, 131 %, and 76 %, respectively. Regardless of the source, methionine supplementation benefited the development of the intestinal mucosa, uterus, and magnum and reduced the incidence of hepatic steatosis in this study. Based on the bioefficacy results, DLM demonstrated greater bioavailability than HMBA-Ca. A DLM level of 0.58 %, which yielded the best results, is recommended.

Keywords: intestinal morphometry; hepatic fat; uterine folds.

1. Introdução

A metionina é o primeiro aminoácido essencial limitante para poedeiras que consomem dieta à base de milho e farelo de soja e desempenha papel importante no desempenho produtivo e na eficiência alimentar das aves. Além de participar como doadora de grupos metil e precursora de cisteína e glutationa, a metionina participa diretamente do metabolismo lipídico, da defesa antioxidante e da manutenção da integridade celular^(1, 2). Estudos recentes mostram que diferentes níveis de metionina na dieta podem modular processos metabólicos, a função digestiva, o ambiente uterino e respostas imunes, afetando conjuntamente o desempenho e o estado de saúde das aves⁽³⁾.

A suplementação com metionina tem sido associada a alterações na histomorfometria intestinal, com aumento da altura das vilosidades, da redução vilo:cripta e da área absorptiva, sugerindo estímulo à proliferação celular e ao crescimento do epitélio intestinal⁽⁴⁾. Além disso, a metionina contribui para a redução do estresse oxidativo e da peroxidação lipídica, podendo influenciar parâmetros séricos e teciduais de lipídios, como colesterol e triglicerídeos⁽¹⁾. Por outro lado, dietas deficientes de metionina estão relacionadas ao acúmulo de gordura hepática, alterações em vias de metilação e no metabolismo de lipídios, predispondo ao desenvolvimento de esteatose hepática e outras lesões no fígado de aves⁽⁵⁾.

Industrialmente, as principais fontes de metionina utilizadas na formulação de rações são a DL-metionina (DLM) e o ácido 2-hidroxi-4-(metiltio)butanóico sal de cálcio (HMBA-Ca). Embora ambas forneçam metionina biologicamente ativa, diferem em sua estrutura química (grupo amino na DLM e grupo hidroxila no HMBA-Ca) e em aspectos de absorção, metabolismo e resposta dose–efeito nas aves⁽⁶⁾. Essas diferenças têm resultado em estimativas conflitantes de equivalência entre as fontes, mesmo quando a disponibilidade de metionina é considerada semelhante, motivo pelo qual a bioeficácia relativa é frequentemente empregada para comparar seu desempenho em condições práticas de produção⁽⁷⁾.

Estudos com poedeiras leves têm demonstrado efeitos da suplementação de metionina e da substituição parcial de DLM por HMBA-Ca sobre o desempenho produtivo, a qualidade de ovos e indicadores econômicos⁽⁸⁾, porém, ainda há pouca informação sobre os efeitos dessas fontes e níveis de Met+Cys digestíveis sobre a histomorfometria intestinal e reprodutiva e sobre características hepáticas, como lipídios totais, colesterol, triglicerídeos e esteatose. O objetivo deste trabalho foi estimar a bioeficácia relativa do HMBA-Ca em comparação à DLM, em diferentes níveis de Met+Cys digestíveis, sobre a histomorfometria do aparelho digestivo e reprodutivo e sobre as características hepáticas de poedeiras leves.

2. Material e métodos

2.1 Local, animais, instalações e dietas experimentais

O experimento foi realizado na Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Campus II, localizada na latitude 06°57'48" S, longitude 35°41'30" W e altitude de 618 metros, no estado da Paraíba, Brasil. O uso de animais para esta pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da UFPB, com o protocolo de aprovação em 19/11/2019 registrado sob o número 4161290819.

Foram utilizadas 1.080 poedeiras comerciais Hy-Line W80, com 42 semanas de idade, peso médio inicial de $1.600 \pm 0,04$ kg. As aves foram alojadas em galpão convencional, em gaiolas metálicas ($100 \times 45 \times 45$ cm), com cinco aves por gaiola. O ambiente foi monitorado diariamente e as médias observadas de temperaturas foram de 27,96 °C (máxima) e 19,9 °C (mínima), com umidade relativa de 73 %. A água e a ração foram fornecidas ad libitum. O programa de iluminação adotado foi de 17 horas diárias.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x4+1 (duas fontes de metionina: HMBA-Ca e DLM, quatro níveis de suplementação de metionina+cistina (Met+Cys) digestíveis: 0.46, 0.50, 0.54 e 0.58 %, para cada fonte, além de uma ração isenta de suplementação de metionina), totalizando nove tratamento, com 12 repetições e 10 aves por unidade experimental. As dietas foram formuladas à base de milho e farelo de soja, seguindo as recomendações do manual da linhagem Hy-Line W80 de 2016, exceto para aminoácidos sulfurados, que foram ajustadas conforme Fickler et al. ⁽⁹⁾. Os níveis crescentes de suplementação foram obtidos pela inclusão de HMBA-Ca nas proporções de 0.05; 0.10; 0.15 e 0.20 % da dieta para alcançar os níveis de 0.46; 0.50; 0.54 e 0.58 % de Met+Cys digestíveis, respectivamente, enquanto a DLM foi incluída nas proporções de 0.03; 0.07; 0.10 e 0.13 % da dieta para atingir os mesmos níveis. A suplementação com DLM foi realizada considerando uma equivalência de 65 % em relação ao HMBA-Ca, que foi considerado a 100 %. A composição e o conteúdo nutricional calculado das dietas encontram-se descritos na Tabela 1.

2.2 Coleta de dados e amostras

Ao final do experimento, oito aves de cada tratamento foram abatidas para coleta de amostras de tecido (1 cm de comprimento) da região média do duodeno e jejuno (na dobra da alça duodenal e da entrada do ducto biliar até o divertículo de Meckel, respectivamente), da porção lateral média do útero e magno, bem como do lóbulo esquerdo do fígado. As amostras foram fixadas em formol a 10 % e submetidas à rotina histológica para a confecção dos blocos de parafina. Após, os cortes histológicos foram confeccionados com em 5 μ m, corados com hematoxilina e ácido periódico de Schiff (PAS), e analisados em microscópio de luz (Olympus BX60). As imagens obtidas foram digitalizadas e avaliadas utilizando o software de análise de imagens Olympus cellSens Dimension, (Olympys, EUA) ⁽¹⁰⁾.

Tabela 1. Composição de dietas experimentais e conteúdo nutricional calculado das dietas basais para 42 a 52 semanas e para 53 a 62 semanas, g/kg com base em uma ingestão de ração de 108 a 109 g para cada fase, respectivamente.

Ingredientes	42-52 Semanas	53-62 Semanas
Milho, 7,88 %	668.90	675.67
Farelo de soja, 45,22 %	198.57	188.74
Calcário, 37 %	9.53	9.49
Óleo de soja	94.98	100.22
Fosfato dicálcico, 19 %	18.74	16.72
Sal comum	3.85	3.85
L-Lisina (Biolys®)	0,159	0,159
L-Treonina	1.70	1.59
L-Triptofano (TrypAmino®)	0.18	0.11
Cloreto de Colina, 60 %	0.01	0.07
Premix Vitamínico ¹	0.75	0.75
Premix Mineral ²	0.70	0.70
Antioxidante ³	0.10	0.10
Inerte	2.00	2.00
Composição de nutrientes calculada		
Energia Metabolizável (MJ/kg)	2800	2800
Proteína Bruta, %	14.30	13.40
Cálcio, %	4.08	4.07
Fósforo Disponível, %	0.50	0.44
SID Lisina, %	0.80	0.73
SID Metionina, %	0.20	0.19
SID Metionina + cisteína, %	0.40	0.39
SID Treonina, %	0.56	0.51
SID Triptofano %	0.17	0.15
SID Arginina, %	0.83	0.57
SID isoleucina, %	0.62	0.52
SID Leucina, %	1.21	1.15
SID Valina, %	0.70	0.64

SID = digestível ileal padronizado ¹Fornecido por quilo de dieta: 15.000.000 IU vitamina A; 1.500.000 vitamina IU D₃; 15.000 UI vitamina E; 2 g tiamina; 4 g riboflavina; 3 g piridoxina; 0.015 g vitamina B₁₂; 10 g D-ácido pantotênico; 3 g vitamina K₃; 1 g ácido fólico. ²Fornecido por quilo de dieta: 60 g Mn; 60 g Fe; 50 g Zn/ 10 g Cu; 2 g Coand 250 mg se. ³Azul quântico 5000.

2.2.1 Histonorfometria

Para o intestino delgado, foram mensurados: largura de vilo (média entre a base, região medial e ápice), altura de vilo (da base ao ápice), profundidade de cripta (associada às respectivas vilosidades), relação vilo:cripta, área de superfície de vilosidade e quantidade de células caliciformes (número de células em 2.000 µm lineares).

Para morfometria de magno e útero foram avaliadas a altura de prega, largura de prega, perímetro de prega e espessura do epitélio. Para cada amostra, foram obtidas 16 mensurações por variável, sendo posteriormente calculados os valores correspondentes para todas as variáveis analisadas. Para o fígado, cinco fotomicrografias foram digitalizadas, por animal, para avaliar a esteatose hepática, pela avaliação da quantidade e do tamanho dos vacúolos citoplasmáticos lipídicos dos hepatócitos de acordo com Ishak et al. ⁽¹¹⁾.

2.2.2 Extração de lipídios hepáticos

Os lipídios totais hepáticos foram extraídos segundo o método de Folch et al. ⁽¹²⁾ com modificações, utilizando-se amostras de fígado homogeneizadas (1.0 g) em mistura de clorofórmio:metanol (2:1). Após separação da fase orgânica e evaporação do solvente,

o conteúdo de lipídios totais foi determinado gravimetricamente e expresso como gramas de gordura por 100 g de fígado em peso úmido. O colesterol e os triglicerídeos hepáticos foram determinados conforme descrito por Gilglioni et al. ⁽¹³⁾, pela redissolução da fração lipídica em 200 µL de solução de Triton X-100 a 2 %, seguida de agitação em vórtex e aquecimento a 55 °C até completa solubilização. As concentrações de colesterol total e triglicerídeos na suspensão foram quantificadas por método enzimático-colorimétrico, utilizando kits comerciais específicos (Labtest Diagnóstica S.A.) ⁽¹⁴⁾, seguindo as instruções do fabricante. Os resultados, inicialmente obtidos em mg/dL foram posteriormente convertidos para mg de colesterol total ou triglicerídeos por 100 g de fígado úmido, levando em conta os volumes de suspensão utilizados nas reações, o volume total de Triton X-100 empregado na ressuspenção e a massa de tecido utilizada no homogenato ^(13,14).

2.3 Estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância. Quando houve efeito significativo da fonte de metionina ($p \leq 0,05$), as médias foram comparadas pelo teste T a 5 % de probabilidade. Essas análises foram realizadas utilizando o software SAS® University Edition. Para avaliar o efeito dos níveis de metionina + cisteína (Met+Cys) digestíveis, foram ajustados modelos de regressão, considerando os níveis de Met+Cys como variável independente e as variáveis de desempenho, morfometria intestinal, características reprodutivas e parâmetros hepáticos como variáveis resposta. Foram testados modelos linear e exponencial, sendo selecionado aquele que apresentou significância dos coeficientes ($p \leq 0,05$), melhor coeficiente de determinação ajustado e coerência biológica da resposta.

Para a variável de escore de esteatose hepática foi feita análise multivariada de regressão logística ordinal pelo procedimento logit cumulativo para estimar as probabilidades, usando o software estatístico R versão 3.5.1 ⁽¹⁵⁾. A bioeficácia do HMBA-Ca em relação à DLM foi estimada por meio de modelo exponencial-linear, conforme descrito por Littell et al. ⁽¹⁶⁾, considerando os níveis de Met+Cys digestíveis de cada fonte como variáveis independentes e as variáveis de desempenho e/ou morfometria como respostas. A partir desse modelo, foi calculada a bioeficácia relativa do HMBA-Ca em relação à DLM, com apresentação dos respectivos intervalos de confiança a 95 % ⁽¹⁶⁾.

3. Resultados

3.1. Morfometria intestinal

Na Tabela 2 observa-se que as aves suplementadas com a fonte DLM apresentaram maior comprimento das vilosidades (CV), maior área de superfície das vilosidades (ASV) e maior número de células caliciformes (CC) em comparação ao HMBA-Ca ($p < 0,05$). O aumento dos níveis de Met+Cys resultou em efeito linear positivo para largura de vilo (LV), CV, ASV e profundidade de cripta (PC) ($p < 0,05$), indicando melhora progressiva das estruturas morfológicas. Observou-se efeito quadrático para ASV e CC ($p < 0,05$), sugerindo um ponto máximo de desenvolvimento morfológico do duodeno, estimado em 0.63 % para ASV e 0.56 % para CC. Houve interação significativa entre fonte e nível para LV, ASV e V:C ($p < 0,05$).

Tabela 2. Efeitos das fontes, dos diferentes níveis de metionina e da interação entre HMBA-Ca e DLM na largura das vilosidades s (LV), comprimento das vilosidades (CV), área de superfície das vilosidades (ASV), profundidade das criptas (PC), relação vilosidade:crypta (V:C) e células caliciformes (CC) do duodeno de poedeiras leves.

Fontes	LV (μm)	CV (μm)	ASV (cm ³)	PC (μm)	V:C (μm)	CC
HMBA-Ca	220.2	1378.7 ^b	0.94 ^b	165.7	8.40 ^b	92.1 ^b
DLM	214.9	1588.8 ^a	1.07 ^a	164.1	9.77 ^a	98.9 ^a
p-value	0.531	<0.001	0.026	0.749	<0.001	<0.001
Níveis (%)						
0.46	190.3	1398.8	0.84	156.1	8.98	79.8
0.50	217.7	1461.8	0.99	162.6	9.07	94.9
0.54	227.9	1511.8	1.07	169.6	9.06	102.1
0.58	234.4	1562.5	1.15	165.3	9.24	102.1
Rregressão						
Linear	0.001	0.001	<0.001	0.027	0.562	0.001
Quadrática	0.220	0.857	0.041	0.645	0.891	0.041
Interação						
Níveis x Fonte	0.019	0.362	0.025	0.788	0.038	0.891
S.E.M	31.52	127.74	0.18	19.39	1.12	13.51

Médias com letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo teste T ($p \leq 0.05$). Equações de regressão dos níveis: (LV: $\hat{Y} = 356.25x + 32.325$, $R^2 = 0.89$); (CV: $\hat{Y} = 1352.8x + 780.29$, $R^2 = 0.99$); (ASV: $\hat{Y} = -10.938x^2 + 13.9x - 3.2361$, $R^2 = 0.99$. Ponto de Máximo: 0,63 %); (PC: $\hat{Y} = 87x + 118.21$, $R^2 = 0.62$) e (CC: $\hat{Y} = -2359.4x^2 + 2639x - 634.86$, $R^2 = 0.99$. Ponto Máximo: 0,56 %) Disponibilidade =; RV:C: $y = 120.9 + 197.5 * (1 - e^{-(0.67x + 1.32x^2 + 1.33x^3)})$; CC: $y = 44.0 + 84.6 * (1 - e^{-(0.72x + 1.92x^2 + 1.59x^3)})$.

De acordo com a Tabela 3, verificou-se interação significativa entre as fontes de metionina e os níveis de Met+Cys para LV, ASV e V:C ($p < 0.05$). As aves suplementadas com HMBA-Ca apresentaram aumento progressivo de LV e ASV conforme os níveis de Met+Cys foram elevados, enquanto aquelas recebendo DLM mantiveram valores mais constantes entre os níveis. A DLM apresentou valores superiores de LV e ASV no nível de 0,46 %, porém o HMBA-Ca mostrou maiores valores a partir de 0,54 % ($p < 0.05$). Para V:C, a DLM apresentou valores superiores nos níveis 0,46, 0,50 e 0,58 % ($p < 0.05$). As regressões indicaram resposta linear para LV e ASV dentro da fonte HMBA-Ca ($R^2 = 0.89$ e 0.95, respectivamente).

Tabela 3. Efeitos dos tratamentos na interação da largura das vilosidades (LV), área de superfície das vilosidades (ASV) e relação vilosidade:crypta (V:C) na morfologia do duodeno de poedeiras leves.

Variáveis	Níveis (%)				Rregressão	
	0.46	0.50	0.54	0.58	Quadrática	
LV μm	HMBA-Ca	170.7 ^b	220.5	238.8	251.0	0.120
	DLM	210.0 ^a	214.9	217.0	217.8	0.637
	p-value	0.023	0.743	0.201	0.053	
ASV cm ³	HMBA-Ca	0.66 ^b	0.92	1.08	1.17	0.217
	DLM	1.01 ^a	1.06	1.07	1.13	0.240
	p-value	0.001	0.173	0.964	0.700	0.921
V:C μm	HMBA-Ca	8.16 ^b	8.34 ^b	8.56	8.55 ^b	0.462
	DLM	9.79 ^a	9.81 ^a	9.56	9.93 ^a	0.934
	p-value	0.008	0.016	0.101	0.024	0.676

Médias na mesma coluna com letras diferentes diferem significativamente pelo teste T. ($p < 0.05$). HMBA-Ca:LV: $\hat{Y} = 648.38x - 116.88$, $R^2 = 0.89$; ASV:y = $4.225x - 1.2395$, $R^2 = 0.95$). Disponibilidade: LV: $\hat{Y} = 915.8 + 991.6 * (1 - e^{-(0.620x^1 + 2.10x^2 + 1.21x^3)})$; ASV: $\hat{Y} = 0.25 + 1.40 * (1 - e^{-(0.70x^1 + 1.72x^2 + 1.35x^3)})$ e V:C: $\hat{Y} = 6.0 + 5.5 * (1 - e^{-(1.22x^1 + 1.98x^2 + 1.12x^3)})$.

A Tabela 4 apresenta os efeitos das fontes de metionina (HMBA-Ca e DLM) e dos diferentes níveis de Met+Cys sobre a morfologia do jejuno e íleo de poedeiras leves, incluindo medidas estruturais das vilosidades (LV, CV e ASV), profundidade das criptas (PC), relação vilosidade:cripta (V:C) e número de células caliciformes (CC). No jejuno, não houve efeito das fontes de metionina sobre a LV, PC e CC ($p>0.05$). No entanto, aves suplementadas com DLM apresentaram maior CV, maior ASV e maior relação V:C em comparação ao HMBA-Ca ($p<0.05$). O aumento dos níveis de Met+Cys resultou em efeitos lineares positivos para CV, ASV e PC ($p<0.001$), enquanto LV, CC e V:C não responderam aos níveis dietéticos.

Tabela 4. Efeitos das fontes, dos diferentes níveis de metionina e da interação entre HMBA-Ca e DLM na largura das vilosidades s (LV, μm), comprimento das vilosidades (CV, μm), área de superfície das vilosidades (ASV, cm^2), profundidade das criptas (PC, μm), relação vilosidade:cripta (V:C, μm) e células caliciformes (CC) do jejuno e íleo de poedeiras leves.

	LV	CV	ASV	PC	V:C	CC
Morfologia do Jejuno						
HMBA-Ca	157.1	908.6 ^b	0.44 ^b	109.8	8.30 ^b	173.9
DLM	154.7	982.6 ^a	0.53 ^a	108.3	9.08 ^a	176.7
p-value	0.993	<0.001	0.001	<0.001	0.016	0.958
Níveis (%)						
0.46	157.0	822.8	0.45	101.5	8.14	173.8
0.50	154.6	909.7	0.46	107.2	5.50	176.6
0.54	156.0	1015.7	0.49	108.5	9.34	175.9
0.58	155.9	1034.2	0.54	118.6	8.77	175.0
Linear	0.939	<0.001	<0.001	<0.001	0.016	0.958
Quadrática	0.839	0.160	0.477	0.588	0.060	0.867
Fonte x Níveis	0.998	0.088	0.510	0.588	0.334	0.703
s.e.m	21.19	89.80	0.08	8.62	0.95	41.69
Morfologia do íleo						
HMBA-Ca	152.5	774.0 ^b	0.37	87.6	8.86	182.7
DLM	144.4	819.6 ^a	0.37	92.2	9.01	191.4
p-value	0.176	0.021	0.902	0.054	0.620	0.245
Níveis (%)						
0.46	139.9	753.7	0.32	87.1	8.65	182.6
0.50	142.7	803.9	0.36	87.8	9.16	192.0
0.54	151.5	814.6	0.38	90.5	9.21	185.2
0.58	159.6	814.8	0.40	94.1	8.72	188.4
Linear	0.013	0.028	0.001	0.030	0.839	0.747
Quadrática	0.065	0.200	0.701	0.538	0.088	0.672
Fonte x Níveis	0.793	0.951	0.741	0.162	0.206	0.731
s.e.m	22.29	72.14	0.06	19.79	1.08	27.50

Médias com letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo teste T ($p < 0.05$). Equações de regressão dos níveis: Jejuno = (CV: $y = 1850.4x - 16.55$. $R^2=0.94$); (ASV: $y = 0.875x + 0.0025$. $R^2= 0.94$); (PC: $y = 133.9x + 39.44$. $R^2=0.90$). Disponibilidade = CV: $y = 557.5+677.4 * (1-e^{-(0.82x^1+1.85x^2+1.39x^3)})$; ASV: $y = 0.20+0.50 * (1-e^{-(0.93x^1+1.61x^2+1.35x^3)})$ e VC: $y = 5.35+6.02 * (1-e^{-(1.10x^1+1.79x^2+1.42x^3)})$. Equações de regressão dos níveis: Íleo: (LV: $\hat{Y} = 170,05x + 60,064$; $R^2 = 0,96$); (CV: $\hat{Y} = 484,65x + 544,8$; $R^2 = 0,73$); (ASV: $y = 59.15x + 59.182$. $R^2= 0.92$); (PC: $y = 59.15x + 59.182$. $R^2 = 0,92$). Disponibilidade: LV: $y = 506.3+487.9 * (1-e^{-(0.87x^1+1.97x^2+1.47x^3)})$.

No íleo, observou-se padrão semelhante ao jejuno para CV, com valores superiores para aves recebendo DLM ($p<0.05$). As demais variáveis (LV, ASV, PC, V:C e CC) não diferiram entre as fontes ($p>0.05$). Os níveis de Met+Cys promoveram aumentos lineares de LV, CV, ASV e PC ($p\leq0.03$), mas não influenciaram V:C ou CC ($p>0.05$). Não foram observadas interações

significativas entre fonte e nível em nenhum dos dois segmentos ($p>0.05$). As equações de regressão confirmam respostas lineares consistentes para CV, ASV e PC no jejuno ($R^2\geq0.90$) e para LV, CV, ASV e PC no íleo ($R^2\geq0.73$), indicando que o aumento da disponibilidade de metionina favorece o desenvolvimento morfológico do epitélio intestinal ao longo do trato.

3.2. Determinação do teor de lipídios hepáticos

Os níveis de Met+Cys digestíveis causaram redução da probabilidade de escores de esteatose hepática moderada e avançada ($p<0.05$). Houve aumento da ausência de esteatose com a suplementação dos níveis de metionina em ambas as fontes (Figura 1).

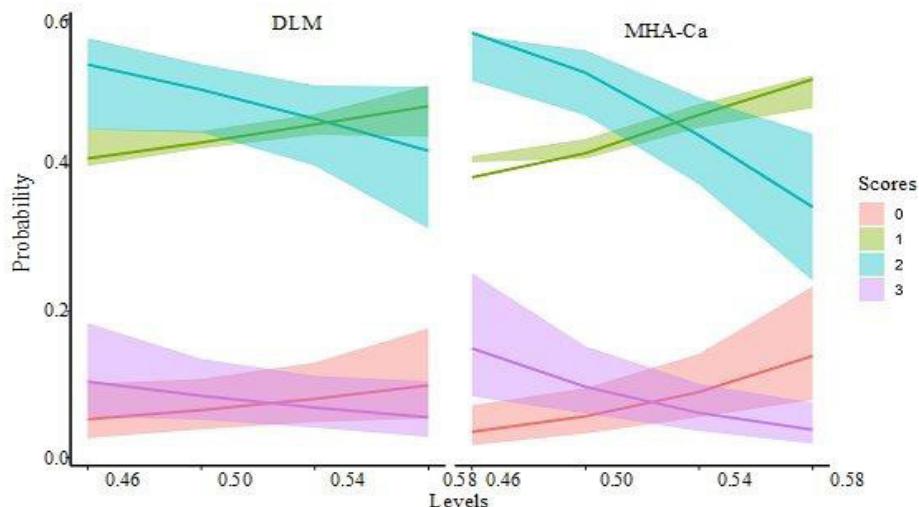


Figura 1. Efeitos dos tratamentos na avaliação de fígado gorduroso. Escore 0 (ausente), 1 (leve), 2 (moderado) e 3 (avançado).

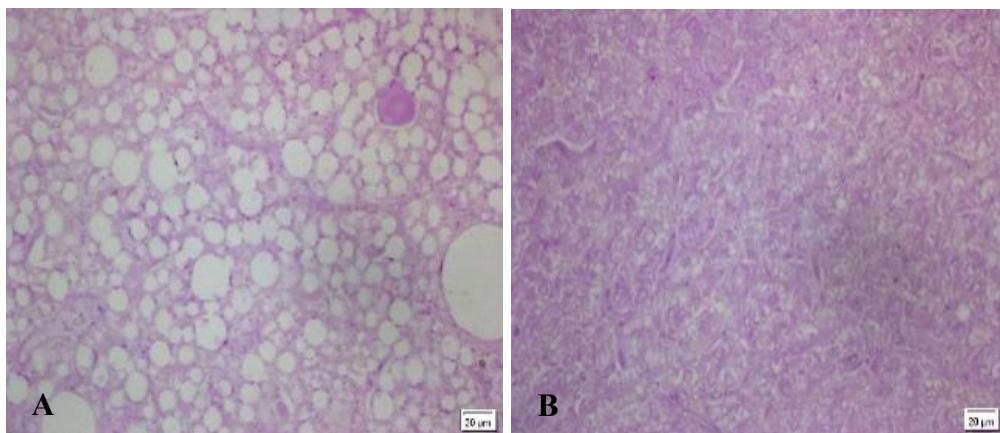


Figura 2. Histologia hepática em poedeiras alimentadas com metionina. As fotomicrografias mostram secções do tecido hepático coradas com hematoxilina e reativo de Schiff de poedeiras alimentadas com suplementação de 0.46 % de met + Cys digestíveis (A), evidenciando esteatose marcada com agregados focais de células inflamatórias. A histologia dos fígados suplementados com 0.58 % de met + Cys digestíveis apresenta aspecto normal (B).

Os resultados do perfil lipídico revelaram que aves alimentadas com DLM apresentaram a menor concentração de triglicerídeos hepáticos ($p<0.05$). E os níveis de suplementação de metionina diminuíram ($p<0.05$) a quantidade de lipídeos totais, triglycerídeos e colesterol hepático (Tabela 5).

Tabela 5. Efeitos dos tratamentos no perfil lipídico hepático (mg/dL).

	Lipídios totais	Triglicerídeos	Colesterol total
HMBA-Ca	37.9	1.765 ^b	199.3
DLM	39.2	1.562 ^a	195.9
p-value	0.799	0.055	0.156
Níveis (%)			
0.46	51.6	2.363	245.4
0.50	40.4	1.783	206.6
0.54	33.6	1.287	171.5
0.58	28.7	1.220	168.2
Regressão Linear	0.019	<0.001	0.009
Níveis x Fonte	0.929	0.219	0.737
s.e.m	16.09	283.99	74.81

Médias na mesma coluna com letras diferentes diferem significativamente pelo teste T. test ($p < 0.05$). Lipídeos totais: $y = -188.75x + 136.73$. $R^2 = 0.96$; Triglicerídeos: $y = -9812.5x + 6765.8$. $R^2 = 0.91$; Colesterol: $y = -666.75x + 544.64$. $R^2 = 0.90$.

3.3. Morfometria do aparelho reprodutivo

Na Tabela 6 observa-se que as fontes de metionina influenciaram várias variáveis da morfologia uterina e do magno. Aves suplementadas com DLM apresentaram maior altura da prega uterina (APU) e maior largura da prega uterina (LPU) em comparação ao HMBA-Ca ($p < 0.05$). No magno, o HMBA-Ca resultou em maior altura da prega do magno (APM) ($p < 0.05$). Com relação aos níveis de Met+Cys, verificou-se efeito linear positivo para APU, LPU, APM, LPM e PPM ($p < 0.05$) indicando incremento progressivo dessas variáveis com o aumento dos níveis dietéticos. A bioeficácia relativa da HMBA-Ca em relação a DLM foi: 70, 72, 131 e 76 % para altura de dobra uterínica, largura de dobra uterínica, altura de perímetro do magno e espessura do epitélio do magno, respectivamente, com base no intervalo de confiança de 95 %.

Tabela 6. Efeitos das fontes, diferentes níveis de metionina e a interação entre HMBA-Ca e DLM na altura da prega uterina (APU μm), largura da prega uterina (LPU μm), perímetro da prega uterina (PPU cm^3), altura da prega do magno (APM μm), largura da prega do magno (LPM μm), perímetro da prega do magno (PPM cm^3) e espessura do epitélio do magno (EEM μm) de poedeiras.

Fontes	APU (μm)	LPU (μm)	PPU (cm^3)	APM (μm)	LPM (μm)	PPM (cm^3)	EEM (μm)
HMBA-Ca	2.253 ^b	493.2 ^b	1.52	2.838 ^a	1.082	2.64	28.0
DLM	2.538 ^a	552.5 ^a	1.59	2.685 ^b	1.055	2.55	30.8
p-value	0.021	0.001	0.481	0.024	0.331	0.397	0.001
Níveis (%)							
0.46	2.053	461.7	1.34	2.638	967.7	2.20	25.1
0.50	2.329	538.7	1.71	2.666	1.027	2.42	27.5
0.54	2.524	506.7	1.45	2.754	1.133	2.65	34.7
0.58	2.677	584.3	1.73	2.989	1.147	3.12	30.2
Linear	<0.001	0.001	0.053	0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Quadrática	0.492	0.989	0.672	0.125	0.425	0.251	<0.001
Níveis x Fonte	0.121	146.0	0.346	0.124	0.803	0.245	<0.001
s.e.m	329.48	85.01	0.39	247.93	105.78	0.39	2.85

Médias na mesma coluna com letras diferentes diferem significativamente pelo teste T. ($p < .05$). APU: $y = 165.7x - 289.99$. $R^2 = 0.98$; LPU: $y = 839.1x + 86.56$. $R^2 = 0.70$; APM: $y = 2852.9x + 1278.6$. $R^2 = 0.85$; LPM: $y = 1614.6x + 229.46$. $R^2 = 0.93$; PPM: $y = 7.475x - 1.2895$. $R^2 = 0.96$. HMBA-Ca: EEM: $y = 2323.4x^2 + 2442.1x - 609.01$. $R^2 = 0.62$. Max = 0.53 Disponibilidade: APU: $y = 1478+1865*(1-e-(0.94x1+ 1.60x2+1.12x3))$; LPU: $y = 263.3+486.6*(1-e-(0.93x1+ 1.66x2+1.21x3))$; APM: $y = 2059+1215*(1-e-(1.37x1+1.35 x2+1.80x3))$ EEM: $y = 15.92+22.66*(1-e-(0.87x1+ 1.92x2+1.46x3))$.

De acordo com a Tabela 7, observou-se interação significativa entre as fontes de metionina e os níveis de Met+Cys para a espessura do epitélio do magno (EEM), com diferenças entre HMBA-Ca e DLM especificamente no nível de 0.58 % ($p<0.001$). Em HMBA-Ca, verificou-se resposta quadrática ($p<0.001$), com incremento da espessura até o nível de 0.54 % e redução no nível superior, com ponto máximo estimado em 0,53 %. Em contraste, aves suplementadas com DLM apresentaram resposta linear positiva aos níveis de Met+Cys ($p<0.001$), resultando em valores progressivamente maiores de EEM, alcançando a maior espessura no nível de 0.58 %.

Tabela 7. Efeito da interação entre a HMBA-Ca em relação a DLM e dos níveis de Met+Cys sobre a espessura do epitélio do magno (EEM) de poedeiras leves de 62 semanas de idade.

EEM (μm)	Níveis de metionina (%)				Regressão	
	0.46	0.50	0.54	0.58	Linear	Quadrática
HMBA-Ca	24.04	27.32	36.13	24.54 ^b	0.037	<0.001
	26.29	27.84	33.32	35.99 ^a	<0.001	0.607
p-value	0.156	0.732	0.070	<0.001		

Letras minúsculas diferem entre as linhas, Teste T a 0.5 % de probabilidade ($P<0.05$) HMBA-Ca: $\hat{Y}=2323.4x^2 + 2442.1x - 609.01$; $R^2 = 0.62$. Máx = 0.53 %) DLM: $\hat{Y}=86.45x - 14.094$; $R^2 = 0.95$).

4. Discussão

O trato gastrointestinal é um dos principais tecidos de utilização de aminoácidos, especialmente daqueles envolvidos em síntese proteica, sinalização celular e defesa antioxidante⁽¹⁷⁾. Estima-se que uma fração expressiva dos aminoácidos essenciais ingeridos seja consumida no metabolismo de primeira passagem pelo intestino, e que a metionina esteja entre os mais utilizados pelos enterócitos⁽¹⁸⁾, indicando uma exigência funcional específica desse aminoácido para a manutenção da integridade da mucosa intestinal.

O presente estudo, a suplementação de Met+Cys resultou em melhoria consistente da morfometria intestinal, sobretudo no duodeno e jejuno, evidenciada pelo aumento da altura, comprimento e área de superfície das vilosidades, pela maior relação vilo:cripta e pelo incremento do número de células caliciformes. Os modelos de regressão indicaram respostas predominantemente lineares ou quadráticas positivas para essas variáveis à medida que os níveis de Met+Cys foram elevados, com pontos de máximo próximos aos níveis superiores testados. Esses achados sugerem que a metionina contribui para acelerar a renovação epitelial, ampliar a área absorptiva e fortalecer a barreira mucosa, o que está de acordo com relatos de aumento da altura de vilos e da área de absorção em codornas e frangos de corte suplementados com níveis crescentes de metionina⁽¹⁸⁾.

Os mecanismos envolvidos nessa resposta morfológica podem estar associados tanto à função antioxidante quanto ao papel regulador da metionina no crescimento celular. A participação na síntese de glutatona favorece a neutralização de espécies reativas de oxigênio e a proteção de estruturas celulares da mucosa⁽¹⁸⁾, enquanto a formação de poliaminas, como espermina e espermidina, está diretamente ligada à proliferação do epitélio intestinal e ao aumento da velocidade de renovação das vilosidades⁽¹⁹⁾. Adicionalmente, a intensificação da via da transsulfuração, com conversão de homocisteína em intermediários do ciclo do ácido cítrico⁽²⁰⁾, pode contribuir para o suprimento energético das células em divisão, reforçando o desenvolvimento da mucosa.

Em contraste, dietas com níveis mais baixos de metionina não foram suficientes para sustentar o crescimento adequado da mucosa intestinal, o que se refletiu em vilosidades menos desenvolvidas e menor relação vilo:crypta. Esse padrão é compatível com a hipótese de que a deficiência de metionina altera o balanço de aminoácidos nos tecidos, prejudica o “status redox” da mucosa, reduz a proliferação celular e pode aumentar a susceptibilidade à apoptose em decorrência da menor disponibilidade de metabólitos protetores derivados da rota da metionina (21,22).

As diferenças entre as fontes de metionina foram mais evidentes em parâmetros morfológicos e nos níveis mais baixos de suplementação. Em geral, a DLM tendeu a promover maior comprimento e área de superfície de vilosidades no duodeno e jejuno, bem como maior relação vilo:crypta em alguns níveis, enquanto a HMBA-Ca apresentou respostas equivalentes ou ligeiramente inferiores nessas condições. Esses resultados sugerem que, em níveis subótimos de Met+Cys, a DLM apresenta maior bioeficácia relativa para suporte da morfologia intestinal. Essa diferença é coerente com a natureza química das fontes e com os sistemas de transporte envolvidos na absorção intestinal: a HMBA-Ca, por se assemelhar a um monocarboxilato, utiliza transportadores de MCT dependentes de H⁺ ou Na⁺, ao passo que a DLM é absorvida por sistemas específicos de aminoácidos neutros dependentes de sódio (23). Em baixos níveis de suplementação, essas diferenças de afinidade e velocidade máxima de transporte parecem favorecer a DLM (24), enquanto a HMBA-Ca pode ser parcialmente desviada para o metabolismo microbiano, reduzindo sua disponibilidade para os enterócitos.

Por outro lado, à medida que os níveis de Met+Cys se aproximam ou ultrapassam a exigência das aves, as diferenças entre as fontes tornam-se menos marcantes e ambas se mostram capazes de sustentar o desenvolvimento da mucosa com desempenho produtivo semelhante. Nesse contexto, a análise global dos dados indica que a DLM apresenta vantagem em níveis mais baixos, mas, em níveis próximos a 0,58 % de Met+Cys, as duas fontes são funcionalmente equivalentes para a maioria das variáveis, com pequenas superioridades pontuais da DLM em alguns indicadores.

Os resultados de desempenho produtivo acompanham, em grande parte, as alterações morfológicas observadas. O aumento dos níveis de Met+Cys resultou em efeitos lineares positivos sobre produção de ovos, peso e massa de ovos, ovos por ave alojada e conversões alimentares, com resposta quadrática indicando pontos ótimos próximos a 0,59 % para massa e peso de ovos e a 0,62 % para conversão alimentar por massa de ovos (8). Esse comportamento sugere que a maior integridade e capacidade absorptiva do trato gastrointestinal se traduzem em melhor aproveitamento dos nutrientes e, consequentemente, em maior eficiência produtiva. A ausência de efeito significativo das fontes sobre as variáveis de desempenho, apesar das diferenças em algumas características morfológicas, reforça a interpretação de que, em níveis adequados de suplementação, HMBA-Ca e DLM podem ser utilizadas de forma intercambiável para suporte do desempenho, desde que se respeite a bioeficácia relativa de cada uma na formulação de dietas.

Além dos efeitos sobre o trato gastrointestinal, a suplementação de Met+Cys influenciou de forma significativa o metabolismo hepático de lipídios e a ocorrência de esteatose. Observou-se relação inversa entre os níveis de metionina e o acúmulo de gordura no fígado, com dietas deficientes associadas a maior conteúdo lipídico e maior frequência de esteatose moderada ou avançada, enquanto o aumento da suplementação reduziu as concentrações de triglicerídeos e

colesterol hepáticos. Esses dados são consistentes com o papel da metionina como precursora da fosfatidilcolina, componente essencial da superfície das lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), cuja síntese inadequada compromete a exportação de triglicerídeos do fígado e favorece o acúmulo lipídico nos hepatócitos^(25, 26). A melhora do perfil lipídico hepático pode ainda estar associada a maior atividade da lipoproteína lipase e à participação da taurina, derivada da cisteína, produto do metabolismo da metionina conjugação de ácidos biliares e na formação de micelas, aumentando a eficiência da digestão e absorção de gorduras^(27, 28).

No trato reprodutivo, os níveis crescentes de Met+Cys promoveram maior desenvolvimento da morfometria uterina e do magno, refletido pelo aumento da altura, largura e perímetro das pregas, bem como pela maior espessura do epitélio do magno. Considerando que aminoácidos desempenham papel central em processos relacionados ao desempenho produtivo e reprodutivo⁽²⁹⁾, e que o útero apresenta concentrações luminais de metionina superiores às plasmáticas em determinadas fases⁽³⁰⁾, é plausível que o aumento da oferta de metionina tenha intensificado o aporte desse aminoácido e de seus metabólitos ao lúmen uterino e ao magno, favorecendo a função secretora e a deposição de componentes da casca e do albúmen.

A espessura do epitélio do magno mostrou interação entre as fontes e os níveis, com resposta quadrática para HMBA-Ca e linear para DLM. Em HMBA-Ca, observou-se aumento da espessura até níveis intermediários de Met+Cys, seguido de redução no nível mais alto, sugerindo um ponto ótimo próximo a 0.53 %. Para DLM, a resposta foi linear crescente em toda a faixa avaliada, com maior espessura epitelial no nível de 0.58 %. Esses resultados indicam que a DLM apresenta efeito mais consistente e progressivo sobre o epitélio do magno, o que pode estar relacionado a maior capacidade de produção de muco e secreção de albúmen. Essa interpretação está em consonância com relatos de aumento de deposição de albúmen e encurtamento do intervalo entre posturas em aves expostas a níveis elevados de metionina⁽³¹⁾.

De forma integrada, os resultados obtidos indicam que a suplementação de metionina, independentemente da fonte, é benéfica para o desenvolvimento da mucosa intestinal, para a morfometria do útero e do magno e para a modulação do metabolismo hepático de lipídios, com reflexos positivos sobre o desempenho produtivo de poedeiras leves. Os níveis mais elevados de Met+Cys dentro da faixa estudada foram, em geral, os mais responsivos para as variáveis avaliadas. Em termos de bioeficácia relativa, a DLM apresenta vantagem em níveis mais baixos de suplementação, enquanto, em níveis próximos às exigências superiores, HMBA-Ca e DLM mostram-se equivalentes para a maioria dos parâmetros, permitindo certa flexibilidade na escolha da fonte, desde que os ajustes de formulação considerem as diferenças de disponibilidade e de resposta em cada faixa de uso.

5. Conclusão

Conclui-se que a suplementação de Met+Cys melhora o desempenho e a morfometria intestinal das poedeiras, sendo 0.58 % o nível mais eficiente. A DL-metionina apresentou melhor resposta em níveis mais baixos de suplementação, enquanto ambas as fontes foram eficazes quando ofertadas em níveis adequados.

Declaração de conflito de interesses

Os autores declararam não haver conflitos de interesses.

Declaração de disponibilidade de dados

Os dados serão fornecidos mediante solicitação ao autor correspondente.

Contribuições do autor

Conceituação: T.S. Ferreira. Curadoria de dados: T.S. Ferreira. Análise formal: T.S. Ferreira e I.N. Kaneko. Investigação: M.N. Soares. Metodologia: T.S. Ferreira e J.V.C. Silva. Gestão de projeto: M.N. Soares. Supervisão: F.G.P. Costa. Redação (rascunho original): T.S. Ferreira. Visualização: S.G. Pinheiro e R.F.B. Júnior. Redação (Revisão e edição): M.N. Soares, S.G. Pinheiro e R.F.B. Júnior.

Declaração de uso de IA generativa

Os autores não utilizaram ferramentas ou tecnologias de Inteligência Artificial generativa na criação ou edição de qualquer parte deste manuscrito.

Referências

1. Santana MHM, Costa FCP, Guerra RG, Júnior JF, Lima MR. Methionine plus Cystine Levels for Light Laying Hens on Growth Phase. *Revista Principia*. 2020; 53: 1-10. <https://doi.org/10.18265/1517-0306a2020v1n53p180-189>
2. Song B, Fu M, He F, Hao H, Wang Y, Nie Q, Wu B. Methionine Deficiency Affects Liver and Kidney Health, Oxidative Stress, and Oleum Mucosal Immunity in Broilers. *Frontiers in veterinary Science*. 2021; 8: 722567. <https://doi.org/10.3389/fvets/2021/722567>
3. Moraes LR, Delicato MRA, Cru AS, Silva HTFNP, Alves CVBV, Campos DB, Saraiva EP, Costa FP, Guerra RR. Methionine supplementing effects on intestine, liver and uterus morphology, and on positivity and expression of Calbindin-D28k and TRPV6 epithelial calcium carriers in laying quail in thermoneutral conditions and under thermal stress. *Plos One*. 2021; 16(1): e0245615. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0245615>
4. Timmons J, Chang ET, Wang J-Y, Rao JN. Polyamines and gut mucosal homeostasis. *Journal of Gastrointestinal and digestive system*. 2014; 2: 001. PMID: PMC4165078. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4165078/>
5. Peng JL, Bai SP, Wnag JP, Ding XM, Eng QF, hang KY. Methionine deficiency decreases hepatic lipid exportation and induces liver lipid accumulation in broilers. *Poultry Science*. 2018; 97: 4315-4323. <https://doi.org/10.3382/ps/pey317>
6. Vázquez-Añón M, Bertin G, Mercier Y, Reznik G, Roberton J-L. Review of the chemistry, metabolism, and dose response of two supplemental methionine sources and the implications in their relative bioefficacy. *World's Poultry Science Journal*. 2017; 73: 725-736. <https://doi.org/10.1017/S0043933917000551>
7. Lemme A, Li Z, Dorigam J. Meta-Analyses of Methionine Source Concept Validation Trials in Broilers. *Animals*. 2024; 14: 1771. <https://doi.org/10.3390/ani14121771>
8. Ferreira TSF, Soares MN, Kaneko IN, Pinheiro SG, Costa FGP, Júnior RFB. Relative bioeffectiveness of hydroxy calcium salt analogous methionine compared to DL-methionine on the performance of light laying hens in the production phase. *Brazilian Animal Science/ Ciéncia Animal Brasileira* 2025; 26. <https://doi.org/10.1590/1809-6891v26e-81818E>
9. Fickler J, Heimbeck W, Hess V, Reimann I, Reising J, Wiltafsky M, Zimmer U. AMINODat 5.0 Animal Nutritionist's Information Edge [Online]. 2016. https://www.academia.edu/38777571/AMINODat_5_0_The_animal_nutritionists_information_edge
10. Olympus America Inc. Olympus cellSens Software, cellSens Dimension [software]. Center Valley (PA): Olympus America Inc. Disponível em <https://evidentscientific.com/en/products/software/cellsens>
11. Ishak K, Baptista A, Bianchi L, Callea F, Groote JDe, Gudat F, Denk H, Desmet V, Korb G, MacSween, RN. Histological grading and staging of chronic hepatites. *Journal of Hepatology*. 1995; 22: 696-699. [https://doi.org/10.1016/0168-8278\(95\)80226-6](https://doi.org/10.1016/0168-8278(95)80226-6)
12. Folch J, Lees M, Stanley GHS. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*; 1957; 226: 497-509
13. Gilgioni EH, Campos-Shimada LB, Maciel ERM, Ishii-Iwamoto EL, Salgueiro-Pagadigoria CL. Analytical methods for evaluation of the fatty acid metabolism in rat liver. *Acta Scientiarum Biological Sciences*. 2018; 49: e40040. <https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v40i1.40040>
14. Labtest diagnóstica S.A. Cholesterol Liquiform e Triglycerides Liquiform: instruções de uso. Lagoa Santa, MG, Brasil, 2018.
15. Agresti A. An introduction to categorical data analysis. (2a ed.). Jonh Wiley and Sons Inc. New York, 2007.
16. Littell RC, Henry PR, Lewis AJ, Ammerman CB. Estimation of relative bioavailability of nutrients using SAS procedures. *Journal Animal Science*. 1997; 75: 2672-2683. <https://doi.org/10.2527/1997.75102672x>
17. Wang WW, Qiao SY, Li DF. Amino acids and gut function. *Amino Acids*. 2009; 37: 105–110. <https://doi.org/10.1007/s00726-008-0152-4>

18. Ruan D, Fouad AM, Fan Q, Xia W, Wang S, Chen W, Zheng C. Effects of dietary methionine on productivity, reproductive performance, antioxidant capacity, ovalbumin, and antioxidant-related gene expression in laying duck breeders. *British Journal of Nutrition*. 2018; 199: 121-130. <https://doi.org/10.1017/S0007114517003397>
19. Murray-Stewart T, Woster PM, Casero Jr RA. Targeting polyamine metabolism for cancer therapy and prevention. *Biochemical Journal*. 2016; 437: 2937–2953. <https://doi.org/10.1042/BCJ20160383>
20. Nelson DL, Cox MM. Princípios de bioquímica de Lehninger. (7a ed.). Artmed, Porto Alegre. 2019.
21. Mengjie X, Zhao X, Yu M, Wang G, Feng J, Zhang M. The amino acid pattern and dynamics of body protein, body fat deposition in male and female broilers under different temperatures. *Poultry Science*. 2024; 103: 103525. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2024.103525>
22. Liu Y, Espinosa CD, Abelilla JJ, Casas GA, Lagos, LV, Lee SA, Kwon WB, Mathai JK, Navarro, DMDL, Jaworski, NW, Stein HH. Non-antibiotic feed additives in diets for pigs. *Animal Nutrition*. 2018; 4: 113-125. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2018.01.007>
23. Martín-Venegas R, Rodriguez-Lagunas, MJ, Geraert P, Ferrer R. Monocarboxylate transporter 1 mediates DL-2-hydroxy- (4-methylthio) butanoic acid transport across the apical membrane of Caco-2 cell monolayers. *Journal Nutrition*. 2007; 137: 49-54. <https://doi.org/10.1093/jn/137.1.49>
24. Opapeju FO, Htoo JK, Dapoza C, Nyachoti CM. Bioavailability of methionine hydroxy analog-calcium salt relative to dl-methionine to support nitrogen retention and growth in starter pigs. *Animal*. 2012; 6: 1750–1756. <https://doi.org/10.1017/S1751731112000869>
25. Kulinski A, Vance DE, Vance JE. A choline-deficient diet in mice inhibits neither the CDP-choline pathway for phosphatidylcholine synthesis in hepatocytes nor apolipoprotein B secretion. *Journal of Biological Chemistry*. 2004; 279: 23916–23924. <https://doi.org/10.1074/jbc.m312676200>
26. Dobrzyn P, Dobrzyn AM, Miyazaki M, Cohen P, Asilmaz E, Hardie DG, Friedman JM, Ntambi JM. Stearyl-CoA desaturase 1 deficiency increases fatty acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase in liver. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2004; 101: 6409–6414. <https://doi.org/10.1073/pnas.0401627101>
27. Peng JL, Bai SP, Wang JP, Ding XM, Zeng QF, Zhang KY. Methionine deficiency decreases hepatic lipid exportation and induces liver lipid accumulation in broilers. *Poultry Science*. 2018; 97: 4315-4323. <https://doi.org/10.3382/ps/pey317>
28. Chen W, Guo JX, Chang P. The effect of taurine on cholesterol metabolism. *Molecular Nutrition Food Research*. 2012; 56: 681-6190. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201100799>
29. Stover PJ, Durga J, Field MS. Folate nutrition and blood-brain barrier dysfunction. *Current Opinion in Biotechnology*. 2017;44: 146-152. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.01.006>
30. Groebner AE, Rubio-Aliaga I, Schulke K, Reichenbach HD, Daniel H, Wolf E, Meyer HH, Ulbrich SE. Increase of essential amino acids in the bovine uterine lumen during preimplantation development. *Reproduction*. 2011; 14: 685-695. <https://doi.org/10.1530/REP-10-0533>
31. Lima MR, Costa FGF, Guerra RR, Silva JHV Da, Rabello CBV, Miglino MA, Lobato, GBV, Netto SBS, Dantas LS. Threonine:lysine ratio for Japanese quail hen diets. *Journal of Applied Poultry Research*. 2013; 22: 260-268. <https://doi.org/10.3382/japr.2012-00670>