

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 15/02/2017.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**REMODELAMENTO ESTRUTURAL DO TECIDO
PARABRONQUIAL DE PINTINHOS EM RESPOSTA À
HIPÓXIA DURANTE O DESENVOLVIMENTO FETAL**

Lara do Amaral Silva
Zootecnista

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**REMODELAMENTO ESTRUTURAL DO TECIDO
PARABRONQUIAL DE PINTINHOS EM RESPOSTA À
HIPÓXIA DURANTE O DESENVOLVIMENTO FETAL**

Lara do Amaral Silva

Orientadora: Prof. Dra Kênia Cardoso Bícego

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Zootecnia (Bioquímica e Fisiologia Animal)

2016

Silva, Lara do Amaral
S586r Remodelamento estrutural do tecido parabronquial de pintinhos em
resposta à hipóxia durante o desenvolvimento fetal / Lara do Amaral
Silva. -- Jaboticabal, 2016
v, 44 f. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016
Orientadora: Kênia Cardoso Bicego
Banca examinadora: Wilfried Klein, Glauber dos Santos Fereira da
Silva
Bibliografia

1. Estrutura Pulmonar. 2. Hipóxia. 3. Plasticidade de
Desenvolvimento. 4. Capilares aéreos. 5 Capilares sanguíneos.I.
Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 6365.5:612

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: REMODELAMENTO ESTRUTURAL DO TECIDO PARABRÔNQUIAL DE PINTINHOS EM RESPOSTA À HIPÓXIA DURANTE O DESENVOLVIMENTO FETAL.

AUTORA: LARA DO AMARAL SILVA

ORIENTADORA: KÊNIA CARDOSO BÍCEGO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em ZOOTECNIA, pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. KÊNIA CARDOSO BÍCEGO

Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Prof. Dr. WILFRIED KLEIN

Departamento de Biologia / USP - Ribeirão Preto/SP

Pesquisador GLAUBER DOS SANTOS FERREIRA DA SILVA

Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 15 de fevereiro de 2016

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Lara do Amaral Silva- filha de Uilson Roberto Silva e Marcia Maria do Amaral, nasceu no dia 20 de agosto de 1991 na cidade de São Paulo- SP. Ingressou no curso de Zootecnia da Universidade do Oeste Paulista em 2009 e concluiu este como melhor aluna da turma em 2012. Durante o período de graduação realizou iniciação científica sob orientação da professora Dra. Lilian Francisco Arantes de Souza onde foi bolsista PROBIC nos anos de 2010 e 2011. Em março de 2014 iniciou o Mestrado pelo programa de pós graduação em Zootecnia (Área de concentração: Bioquímica e Fisiologia Animal) pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista- UNESP, campus de Jaboticabal, sob orientação da professora Dra. Kênia Cardoso Bícago, onde foi bolsista CNPq durante quatro meses e bolsista FAPESP até a finalização do curso, submetendo-se à defesa da dissertação em fevereiro de 2016 para obtenção do título de Mestre.

EPÍGRAFE

Deus, se um dia eu perder as esperanças, ajude-me a lembrar que os teus planos são melhores que os meus.

Chico Xavier

AGRADECIMENTOS

À Deus pela vida, saúde, bênçãos e condições para que também este trabalho fosse exercido e por colocar as pessoas certas nos momentos certo do caminho.

À professora Kênia Cardoso Bicego, pela confiança, ensinamentos, exemplo, apoio, parceria e amizade.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP pela Bolsa de Estudos (processo 2014/01861-2).

Ao professor Fernando Zara pelo apoio total em todas as fases do projeto, e a todo pessoal de seu laboratório.

Ao professor Wilfried Klein, pela ajuda com a idéia inicial do projeto.

À professora Lilian Francisco Arantes de Souza, que acreditou em mim, me apoiou em todos os sentidos para que eu pudesse estar aqui hoje, minha amiga, sem você nada disso seria possível!

À professora Luciane Gargaglione Batalhão pelo apoio e orientação no início do mestrado.

À todos os parceiros de laboratório: Elisa, Carol Scarpellini, Carol Silva, Vitor, Lays, Jolene, Luis Gustavo, Carlos, Leonardo, Jaime, Camila, Vivian, Valter, Bruno, Mariane, Danuzia, Kassia, Giuliana, Gabriela e Tiago, pelo ensinamento de várias técnicas, me ajudarem e me apoiarem, especialmente ao Lucas que me ajudou com conselhos e traduções inclusive sábados à noite e a Paula que me ajudou a fazer o curso de estereologia no início do mestrado.

À técnica Márcia por me ensinar e ajudar com as técnicas de microscopia eletrônica de transmissão.

À todos os amigos mais que especiais que tornam minha vida mais florida e a caminhada mais fácil e prazerosa.

À toda minha família, muito especialmente à minha mãe Marcia e meu pai Uilson, pelo esforço por meus estudos, dedicação, apoio, incentivo e amor desde sempre.

E ao meu noivo João Batista, pelo carinho, companheirismo e apoio emocional e no trabalho, inclusive me acompanhando todas as noites para checar a hipóxia das incubadoras, obrigada!

SUMÁRIO

	Página
Certificado da comissão de ética no uso de animais.....	iii
Resumo.....	iv
Abstract.....	v
CAPÍTULO 1- CONSIDERAÇÕES GERAIS	
Introdução e revisão da literatura.....	1
Avicultura e contextualização.....	1
Desenvolvimento embrionário de Gallus gallus.....	3
Sistema pulmonar de aves e seu desenvolvimento.....	4
Hipóxia durante o desenvolvimento pré natal em aves.....	8
Hipóxia e estruturas de trocas gasosas.....	10
Objetivo.....	11
Referências Bibliográficas.....	12
CAPÍTULO 2- STRUCTURAL REMODELING OF PARABRONCHIAL TISSUE OF CHICKS IN RESPONSE TO HYPOXIA DURING FETAL DEVELOPMENT	
Abstract.....	21
Introduction.....	22
Material and Methods.....	24
Results.....	27
Discussion.....	28

References.....	33
-----------------	----



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

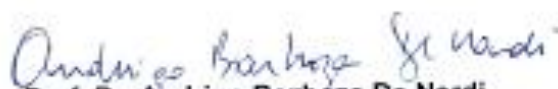


CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 024166/13 do trabalho de pesquisa intitulado **"Exposição à hipóxia durante a incubação e sua influência nos parâmetros morfofisiológicos de *Gallus gallus* pós-eclosão"**, sob a responsabilidade da Prof.^a Dr.^a Kênia Cardoso Bicego está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 05 de novembro de 2013.

Jaboticabal, 05 de novembro de 2013.


Prof. Dr. Andriago Barboza De Nardi
Coordenador - CEUA

REMODELAMENTO ESTRUTURAL DO TECIDO PARABRONQUIAL DE PINTINHOS EM RESPOSTA À HIPÓXIA DURANTE O DESENVOLVIMENTO FETAL

Resumo- O oxigênio é essencial para o desenvolvimento e a funcionalidade celular nos organismos aeróbicos. A exposição de embriões à hipóxia pode alterar a trajetória de desenvolvimento geneticamente estabelecida e gerar alterações morfofisiológicas em diversos órgãos e sistemas. Em aves precoces, a hipóxia durante a incubação é conhecida por alterar tamanho dos órgãos, taxa metabólica e ventilação em pintinhos recém-eclodidos. Nestes animais o desenvolvimento das estruturas parabrônquiais envolvidas em trocas gasosas e condução de ar, ocorre principalmente durante a segunda metade da incubação. Baseados nos fatos expostos, nós hipotetizamos que a hipóxia durante esta fase de desenvolvimento pode induzir um remodelamento nestas estruturas, favorecendo as trocas gasosas na vida pós-natal. Para testar esta hipótese, os embriões foram expostos à normóxia durante toda a incubação, ou à 15% O₂ (dia 12 ao 18 de incubação) e as estruturas parabrônquiais, incluindo capilares aéreos, capilares sanguíneos, infundíbulo, átrio, lúmen parabronquial, vasos sanguíneos maiores que capilares, e tecido interparabronquial, foram analisados através de método estereológico em pintinhos com 1 e 10 dias de idade. A hipóxia aumentou os volumes relativos das estruturas diretamente relacionadas com trocas gasosas, como capilares aéreos e sanguíneos, enquanto não afetou o volume dos pulmões, e o volume relativo de infundíbulo, vasos sanguíneos maiores que capilares e tecido interparabronquial em pintinhos de 1 e 10 dias. A menor concentração de oxigênio, diminuiu o volume relativo dos átrios em ambas idades e o lúmen parabronquial nos pintinhos mais velhos. Concluimos que a hipóxia durante a fase embrionária de desenvolvimento parabronquial pode trazer um remodelamento morfológico, caracterizado por aumento de estruturas responsáveis diretamente por trocas gasosas em detrimento de regiões que participam da condução de ar em pintinhos até o décimo dia pós eclosão.

Palavras chaves: estrutura pulmonar, hipóxia, plasticidade de desenvolvimento, capilares aéreos, capilares sanguíneos.

STRUCTURAL REMODELING OF PARABRONCHIAL TISSUE OF CHICKS IN RESPONSE TO HYPOXIA DURING FETAL DEVELOPMENT

Abstract- Oxygen is essential for cell development and function in aerobic organisms. Exposure of embryos to hypoxia can change the genetically established developmental trajectory and generate morphological and physiological changes of several organs and systems. In precocious birds, hypoxia during incubation is known to change size of organs, metabolic rate and ventilation in hatchlings. In these animals, embryonic development of the parabronchial structures, involved in gas exchange and conduction, occurs mainly during the second half of incubation time. Based on the above facts, we can hypothesize that hypoxia during this phase of development can induce a remodeling of such structures, favoring gas exchange, later in post-hatch life. To test this hypothesis, embryos were exposed to normoxia for the entire incubation or to 15% O₂ (from day 12 to 18 of incubation) and their parabronchial structures, including air capillaries, blood capillaries, infundibula, atria, parabronchial lumen, blood vessels larger than capillaries and interparabronchial tissue, were analyzed by stereological method in 1 and 10-day old chicks. Hypoxia increased the relative volume of structures directly involved in gas exchange such as air and blood capillaries, while did not change total lung volume and relative volumes of infundibula, blood vessels larger than capillaries and interparabronchial tissue of 1 and 10 days-old chicks. The lower concentration of oxygen decreased the relative volume of atria in both groups of chicks, and parabronchial lumen in the older ones. It can be concluded that hypoxia during the embryonic phase of parabronchial development can lead to a morphological remodeling characterized by increase of structures responsible directly for gas exchange at the expense of regions that participate in the conduction of air in chicks up to 10 days after hatch.

Keywords: lung structure, hypoxia, developmental plasticity, air capillaries, blood capillaries

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

Introdução e revisão de literatura

A trajetória de desenvolvimento dos órgãos e sistemas corporais é geneticamente programada e pode ser perturbada por fatores ambientais, assim sendo desviada da programação inicial e atingindo um novo estado morfofisiológico (BURGGREN, 1998 e 1999). Tendo em vista que o fornecimento adequado de oxigênio é um requisito absoluto não só para a manutenção como para o desenvolvimento dos sistemas de organismos aeróbios, a hipóxia pode ser considerada um fator ambiental capaz de alterar a trajetória de desenvolvimento do embrião. Frente à hipóxia ocorre uma regulação de genes com função de aumentar a disponibilidade de oxigênio (SEMENZA, 2000), equiparando a oferta à demanda. Após o nascimento, a captação de oxigênio nas aves passa a ser função dos pulmões, ou parabrônquios. Assim, no presente estudo foi abordada a possibilidade de rearranjo morfológico em consequência da hipóxia durante o desenvolvimento fetal, nas estruturas pulmonares pós eclosão em pintinhos de *Gallus gallus* com 1 e 10 dias de idade.

Avicultura e contextualização

A população mundial atingiu 7,3 bilhões em meados de 2015, o que revela um acréscimo de aproximadamente um bilhão de pessoas nos últimos 12 anos, tem perspectiva de aumento para 8,5 bilhões de pessoas em 2030 e 9,7 bilhões de pessoas em 2050 (UNITED NATIONS, 2015). Em decorrência do crescimento populacional é requerido sempre um aumento da produção de alimentos, segundo a OECD/FAO (2015), o consumo de carne mundial vai crescer a uma média anual de 1,4%, cerca de um consumo adicional de 54 milhões de toneladas até 2024. Frente a isso o setor avícola apresenta destaque dentre as produções de carnes por ser uma fonte de proteína de qualidade (FLETCHER, 2002) mais acessível, mais saudável e com menores impedimentos religiosos; assim apresentando previsão de ser a carne mais consumida pelo mundo até 2024 (OECD/FAO, 2015).

O Brasil está muito bem inserido a este contexto, em 2015, foram obtidos avanços internacionais, onde a produção avícola ultrapassou a produção chinesa e

o Brasil foi colocado como o segundo maior produtor de carne de frango do mundo (USDA, 2015). Além de avanços dentro do contexto de exportações, onde já é estabelecido como o maior exportador de carne de frango desde 2004 (USDA, 2006) e em 2015, a carne de frango subiu na hierarquia dos produtos exportados pelo Brasil, alcançando a marca do quarto produto mais exportado, atrás apenas de soja em grão, minério de ferro e petróleo em bruto (AVISITE, 2016).

Porém, frequentes desafios vêm de encontro com estes avanços produtivos crescentes, sendo de suma importância conhecimentos morfológicos e fisiológicos da ave.

O trato respiratório das aves recebe pouca atenção da comunidade científica voltada à produção de aves domésticas, embora seja um sistema fascinante e diferenciado, desenvolvido como em nenhuma outra classe de vertebrados (DUNCKER, 1972) além de ter papel essencial de trocas gasosas e estar envolvido em patologias e desordens metabólicas que representam perdas significativas para a produção.

Patologias, desordens metabólicas, além de técnicas de manejo estão altamente relacionadas ao trato respiratório e ocasionalmente a hipóxia, o que evidencia ainda mais a importância do estudo do sistema respiratório das aves e o efeito da hipóxia sobre este sistema.

A exemplo disso a bronquite infecciosa é uma das doenças mais importantes da avicultura, ela gera lesões significantes nos sistemas respiratório, urinário e reprodutor de aves de todas as idades, tendo consequência de perdas econômicas consideráveis para a indústria (CAVANAGH; NAQI, 2003). Técnicas de manejo onde são usadas campânulas e fornhalhas para aquecimento de aves durante o inverno (ABREU, 2003) podem consumir o oxigênio do galpão e proporcionar hipóxia às aves; também a reutilização de camas aumenta ainda mais os níveis de amônia no galpão de criação das aves trazendo irritação e prejuízos para o trato respiratório, como perda de cílios da traqueia, paralisia ciliar e necrose do epitélio da mucosa da traqueia, fatores que podem ainda trazer infecções bacterianas secundárias (AZIZ; BARNES, 2010). Também desordens metabólicas são frequentes em frangos de corte que tem crescimento rápido, como a ascite, que é causada por uma

insuficiência valvular do coração, seguida por uma insuficiência do ventrículo direito, dilatação secundária e hipertensão pulmonar (JULIAN, 2005).

Desenvolvimento embrionário em *Gallus gallus*

A embriogênese de *Gallus gallus* ocorre de maneira relativamente rápida, cerca de 21 dias em condições ambientais consideradas ideais; no final deste período a ave está totalmente desenvolvida. Considerando que pertence ao grupo de aves precoces, no primeiro dia pós-eclosão já apresenta uma grande independência sendo capaz de deixar o ninho e se alimentar sozinha (IWANIUK; NELSON, 2003).

O ovo é fertilizado no infundíbulo e em seguida passa pelo oviduto, onde o albúmen e a casca são secretados em torno do vitelo (GILBERT, 2000; EYAL-GILADI, 1984); então o útero passa por um período de 20 horas de rotação e contrações peristálticas e durante este período começa o desenvolvimento embrionário, onde são realizadas a clivagem e diferenciação até a postura (EYAL-GILADI; KOCHAV, 1976; EYAL-GILADI 1984).

Antes do fim do primeiro dia pós-postura já são observados a dobra cranial e a notocorda que são estruturas primárias importantes para o desenvolvimento de diversos tecidos embrionários. No segundo dia de incubação, ocorrem vários eventos de desenvolvimento: surgem as primeiras vesículas oculares, uma glândula da tireóide primordial, desenvolve-se o pronephros que se transforma em mesonephros (rim primitivo), o coração começa a se desenvolver e a hemoglobina começa a ser formada. No final do segundo dia o sistema circulatório é desenvolvido, ductos venosos e um fígado primordial surgem, e começa a diferenciação do telencéfalo (HAMBURGER; HAMILTON, 1951; BELLAIRS; OSMOND, 2014).

No terceiro dia são observados mesencéfalo, prosencéfalo e rombencéfalo além de vesículas cerebrais, neuromeres (segmentos do tubo neural que estabelecem o encéfalo embrionário) e uma vértebra rudimentar ligada a uma cauda. Também é formado o arco aórtico e são diferenciados vários órgãos como proventrículo, moela, pâncreas primitivo, pulmões primitivos; também se inicia a glândula pineal e os ductos dos néfron se ligam à cloaca, bem como começam a se

desenvolver os membros a partir do blastoderme, o âmnio cerca todo o embrião e o alantóide começa a se desenvolver. Com três dias e meio o embrião tem os primeiros movimentos de cabeça e pescoço, as células adrenais são diferenciadas, começa a síntese de insulina, gônadas primitivas se formam, começa a eritropoiese no vitelo e inicia a síntese de estrogênio e estradiol (HAMBURGER; HAMILTON, 1951; BELLAIRS; OSMOND, 2014).

No quarto dia o cório se une ao alantoide formando a membrana cório-alantoide. Com 5 dias o mesonefro se torna funcional e começa a produção definitiva de eritrócitos, hemoglobina de adulto começa a ser sintetizada, tem-se os primeiros movimentos do tronco, começa a síntese de corticosteroides, o duodeno começa a se diferenciar, forma-se a Bursa de Fabrício, um coração de 4 câmaras, o timo e o bico. No dia seis, os sacos aéreos começam a se diferenciar, as paratireoides também; começam movimentos dos olhos e membros, começam a aparecer germes de penas, e é visível o dente do bico. No dia 7 começa a secreção de monoiodotirosina pela tireóide e também a secreção de ACTH (hormônio adrenocorticotrófico), tem início a mineralização dos ossos e o desenvolvimento dos ductos de Müller que dão origem ao útero nas fêmeas (HAMBURGER; HAMILTON, 1951; BELLAIRS; OSMOND, 2014).

É interessante notar que ainda na primeira semana embrionária já existem todos os órgãos necessários para sustentar a sua vida até a eclosão, além de ter muitas características da ave, assim, ele passa a ser chamado de feto. Os eventos posteriores são de crescimento e maturação (HAMBURGER; HAMILTON, 1951) até cerca do décimo nono dia de incubação, quando o pintinho está em posição de eclosão, o saco vitelino está sendo internalizado e o bico penetra na célula de ar, o que é denominado bicagem interna. Nesse momento o ar já entra nos pulmões e a ventilação pulmonar é iniciada. Algumas horas mais tarde ocorre a bicagem externa, quando uma abertura da casca é conseguida e o ar ambiente é aspirado pela primeira vez e o pintinho finalmente eclode (HAMBURGER; HAMILTON, 1951; VILLAMOR, et al., 2002).

Sistema pulmonar de aves e seu desenvolvimento.

O sistema respiratório das aves é o mais estruturalmente complexo e funcionalmente eficiente dentre os vertebrados terrestres (Figura 1 - MAINA, 2006), sendo anatômica e fisiologicamente singular (DUNCKER, 1972). Trata-se do único sistema em que os pulmões não sofrem alteração de volume durante a ventilação pulmonar, sendo que nove sacos aéreos funcionam como fole para ventilar os pulmões, mas não participam diretamente da troca gasosa (Figura 1A - DUNCKER 1972, POWELL, 2000).

Assim, o ar passa dos sacos aéreos para os brônquios primários e secundários, que por sua vez tem função somente de condução de ar até os parabônquios não participando das trocas gasosas (Figura 1A - DUNCKER, 1974).

Os parabônquios (ou brônquios terciários) são a unidade funcional de trocas gasosas no pulmão (Figura 1B- DUNCKER, 1974, POWELL, 2000). O ar segue do brônquio secundário para o lúmen do parabônquio que, por sua vez, irradia através dos átrios e infundíbulos (Figura 1B, C) até chegar aos capilares aéreos que são as estruturas que entram em contato com os capilares sanguíneos e efetivamente fazem troca gasosa (Figura 1C - DUNCKER, 1974, MAINA 2006). As trocas gasosas ocorrem pelo sistema de corrente cruzada, pois o fluxo de ar no parabônquio é perpendicular ao fluxo de sangue pelos capilares sanguíneos (PIIPER; SCHEID, 1975).

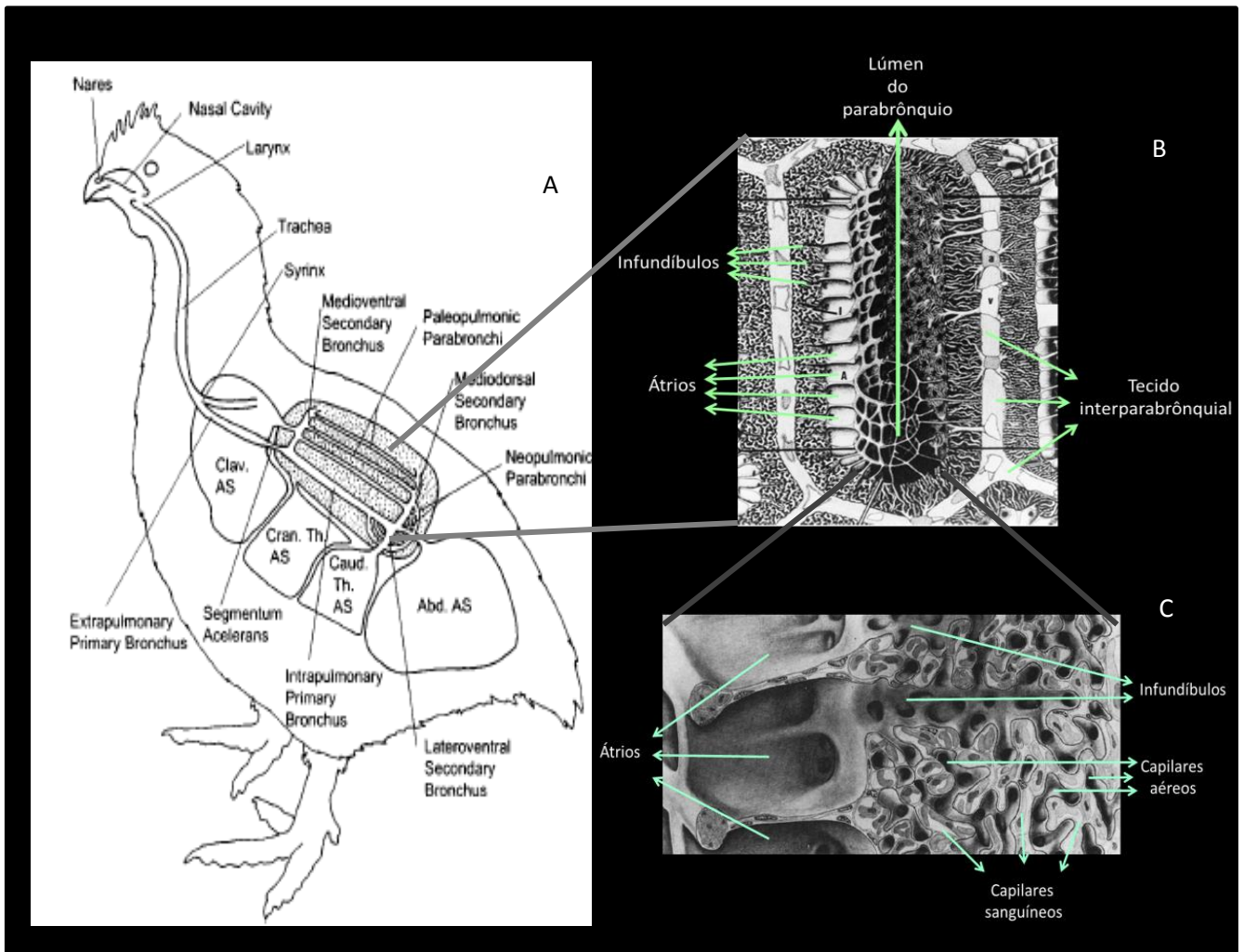


Figura 1A. Organização geral do sistema respiratório em ave doméstica. Clav. AS = saco aéreo clavicular; cran. th. AS = saco aéreo cranial-torácico; caud. th. AS = saco aéreo torácico-caudal; Abd. AS = saco aéreo abdominal (FEDDE, 1998). Figura 1 B Detalhamento do parabônquio em desenho; Figura 1 C Desenho da parede do parabônquio. Ambos adaptados de Duncker (1974).

Nas aves, assim como nos mamíferos, o desenvolvimento do sistema respiratório inicia-se na fase embrionária quando as trocas gasosas são realizadas por órgãos não pulmonares (aves- membrana córioalantóide), e permanece se desenvolvendo ainda por algum tempo depois do nascimento, quando o pulmão é efetivamente o único meio de proporcionar oxigênio ao organismo aeróbico (SZDZUY; MORTOLA, 2007).

John Maina (MAINA, 2003) descreveu todo o processo de desenvolvimento dos pulmões em *Gallus gallus*. No terceiro dia de incubação já é possível observar os brotos pulmonares em desenvolvimento; no quinto dia tais brotos dividem-se em dois pulmões primários à esquerda e à direita e se alongam caudal e dorsolateralmente na cavidade celomática. Ao atingirem suas localizações topográficas definitivas (no sexto dia), os pulmões começam a se encaixar nas cavidades das costelas. Cada pulmão se desenvolve em um cordão de células epiteliais mesenquimais em que se inicia a formação de canais revestidos por células colunares proeminentes, dando origem ao brônquio primário intrapulmonar. Na sequência, aparecem os brônquios secundários que se irradiam no eixo craniocaudal e se estendem para fora atingindo a periferia do pulmão (dia 8). Ao mesmo tempo, a partir de aglomerados de células epiteliais, os parabônquios (ou brônquios terciários) começam a se desenvolver, criam um lúmen, proliferam e conectam-se aos brônquios secundários. Os átrios são visíveis no dia 15, o infundíbulo no dia 16, e capilares aéreos no dia 18. Na eclosão (dia 21), os capilares de ar e de sangue estão completamente formados e funcionais e a barreira sangue-ar torna-se extremamente fina. O pulmão é bem desenvolvido e funcionalmente competente no final da vida fetal.

Alguns autores analisaram a morfometria dos pulmões de *Gallus gallus*. O volume pulmonar apresentou valores entre 25,02 e 27 cm³ para pulmões de animais domésticos com massa corporal de 1,839 a 2,483 quilos (ABDALLA, 1977 apud VIDYADARAN et al., 1988 p. 233; ABDALLA et al., 1982; MAINA, 1982 apud VIDYADARAN et al., 1988 p. 233; VIDYADARAN; KING; KASSIM, 1987 apud MAINA, 2006, p. 130; VIDYADARAN et al., 1988), também foi analisado a densidade de lumen parabronquial mostrando que estes ocupam cerca de 30 a 39,7 % do pulmão de aves com massa média de 2 quilos (ABDALLA, 1977 apud VIDYADARAN et al., 1988, p. 233; ABDALLA et al., 1982; VIDYADARAN; KING; KASSIM, 1987, apud MAINA, 2006, p. 130). Além disso as estruturas de troca foram analisadas através de estereologia em alguns trabalhos, sendo estimados a porcentagem que cada estrutura ocupa dentre as próprias estruturas de trocas gasosas através de microscopia eletrônica de transmissão, mostrando valores ~55.5-64.8% de capilares sanguíneos e 21,3-33,8% de capilares aéreos em aves

domésticas e selvagens de 478 a 2141 quilos(DUNCKER 1972 ; DUNCKER, 1973 apud MAINA, 2006, p. 135; ABDALLA, 1977 apud VIDYADARAN et al. , 1988 p. 233; ABDALLA; MAINA, 1981 apud MAINA, 2006, p. 135; ABDALLA et al.,1982; VIDYADARAN; KING; KASSIM, 1987 apud MAINA, 2006, p. 135).

Hipóxia durante o desenvolvimento pré-natal em aves

As aves podem encontrar hipóxia em ambientes naturais como altas altitudes, tocas, mergulho e em condições patológicas (RAMIREZ; FOLKOW; BLIX, 2007). Hipóxia também pode ocorrer mesmo durante o desenvolvimento normal, ao final da incubação quando o embrião tem 60% de aumento da taxa metabólica e a difusão de oxigênio através da casca do ovo torna-se limitante, não atendendo a tal demanda (VISSCHEDIJK, 1968; FREEMAN; MISSON, 1970; SZDZUY; FONG; MORTOLA, 2008). Isso é mais evidente quando o pintinho despense um tempo maior entre a bicagem interna e a bicagem externa (DECUYPERE; DEWIL; KÜHN, 1991).

A hipóxia durante as fases de desenvolvimento embrionário e fetal em aves gera alterações morfofisiológicas evidentes como menor massa corporal (WANGENSTEEN et al., 1974; DZIALOWSKI et al., 2002; GIUSSANI et al., 2007; AZZAM; MORTOLA, 2007; AZZAM; SZDZUY; MORTOLA, 2007; ZHANG; BURGGREN, 2012) acompanhada por uma redução proporcional de vários órgãos tais como encéfalo, fígado, estômago, rins e intestinos (CHAN; BURGREN, 2005; AZZAM; MORTOLA, 2007; ZHANG; BURGREN 2012), menor taxa metabólica (BJØNNES; AULIE; HØIBY, 1987; AR; GIRARD; RODEAU, 1991; TAZAWA et al., 1992; MORTOLA; LABBE, 2005; AZZAM; SZDZUY; MORTOLA, 2007; MORTOLA; COONEY, 2008), menor produção de calor (LOURENS, et al., 2007, AZZAM; SZDZUY; MORTOLA, 2007) aumento das concentrações plasmáticas de hormônios tireoideanos, corticosterona e ácido láctico (HASSANZADEH et al., 2004); menor resistência vascular sistêmica generalizada (ADAIR et al., 1987; ADAIR; MONTANI; GUYTON, 1988), maior afinidade da hemoglobina ao oxigênio (BAUMANN et al., 1983), além de aumento da concentração de hemoglobina e hematócrito (TAZAWA; MIKAMI; YOSHIMOTO, 1971; RUIJTENBEEK et al., 2000).

Porém as respostas morfofisiológicas à hipóxia não estão presentes somente durante a fase de desenvolvimento embrionário/fetal, mas podem ocorrer também na vida pós eclosão em pintinhos que receberam hipóxia durante a incubação (MORTOLA, 2009), o que atraiu maior interesse da comunidade científica nos últimos anos, inclusive de nosso grupo de pesquisa.

Em resposta à hipóxia na incubação foi reportado menor massa corporal (DZIALOWSKI et al., 2002, HASSANZADEH et al., 2004, AMARAL-SILVA et al. não publicado) e maior temperatura corporal (AMARAL-SILVA et al. não publicado) em recém eclodidos; aumento da taxa metabólica de pintinhos aos 10 dias de idade (AMARAL-SILVA et al. não publicado), diferenças na taxa metabólica frente a uma nova hipóxia tanto em recém-eclodidos (SZDZUY; MORTOLA, 2007; AMARAL-SILVA et al. não publicado) como em animais de 10 dias de idade (AMARAL-SILVA et al. não publicado) e menor ventilação e hipometabolismo (VE/VO_2) frente a hipercapnia pós natal (SZDZUY; MORTOLA, 2007; FERNER; MORTOLA, 2009).

A fase de desenvolvimento embrionário/fetal que o pintinho recebe a hipóxia é altamente relevante, pois durante a trajetória de desenvolvimento podem ocorrer fases mais ou menos sensíveis a cada estímulo ambiental, que são chamadas janelas críticas (BURGGREN, 1998). A hipóxia usada como estímulo ambiental durante a incubação gera diferentes respostas morfofisiológicas em janelas críticas de desenvolvimento específicas (DZIALOWSKI, et al., 2002; CHAN; BURGGREN 2005;). Zhang e Burggren (2012) concluíram que a primeira metade do desenvolvimento embrionário contém a janela crítica de efeitos prejudiciais da hipóxia, como mortalidade, e na segunda metade da incubação fica a janela de respostas compensatórias à hipóxia em órgãos chaves, provavelmente porque órgãos chaves como os corpos carotídeos amadurecem e se tornam funcionais somente na ultima semana de incubação. (FERNER; MORTOLA, 2009).

Para o nosso trabalho a fase de desenvolvimento embrionário/fetal que o animal é exposto à hipóxia é um fator ainda mais importante, pois, como mencionado no “desenvolvimento do sistema pulmonar em aves” as áreas que constituem o tecido parabronquial e que são estudadas por nós neste trabalho se desenvolvem em maior parte no terço final da incubação (MAINA, 2003).

Hipóxia e estruturas de trocas gasosas

Antes da bicagem interna, as trocas gasosas são feitas pela membrana cório alantoide (CAM), ela começa a se formar no quarto dia embrionário e continua a crescer até o dia 12 (MORTOLA; AWAM, 2010), quando está completamente formada (AZZAM; MORTOLA, 2007). Trabalhos muito interessantes foram feitos, analisando a resposta de membrana córioalantóide à hipóxia, onde relatam um aumento da angiogênese em resposta à hipóxia e uma capilaridade mais modesta quando o embrião é exposto à hiperóxia (STRICK et al. 1991). Além disso, muitos autores relatam um aumento da massa da CAM que ocorre principalmente na fase mais tardia da incubação (WAGNER-AMOS; SEYMOUR, 2003; CHAN; BURGREN, 2005; AZZAM; MORTOLA, 2007; ZHANG; BURGREN, 2012) e que chega a 60%(CHAN; BURGREN, 2005). Então a estrutura primordial para as trocas gasosas embrionárias é altamente estimulada pela hipóxia, que exerce um efeito positivo sobre a mesma e proporciona um aumento da área de superfície funcional (CHAN; BURGREN, 2005) e, consequente, aumento da capacidade de difusão de oxigênio (AZZAM; MORTOLA, 2007).

Os pulmões também podem ser afetados morfofisiologicamente pela hipóxia antes ou depois da eclosão. Quanto aos embriões, os trabalhos divergem sobre o efeito da hipóxia durante a incubação sobre a massa pulmonar. Xu e Mortola (1989), expondo os embriões a hipóxia do dia 14 ao 18 da incubação observaram maior massa pulmonar nos embriões que receberam hipóxia, ao contrário dos pulmões dos embriões incubados em hiperóxia. Azzam e Mortola (2007), usando hipóxia a partir do dia 5 de incubação encontraram menor massa dos pulmões no dia embrionário 19 (E19), mas não nos outros dias (E14, E17 e E20). Chan e Burggren (2005), que utilizaram hipóxia no começo, meio e fim da incubação e Lewallen e Burggren (2015) que expuseram os embriões a hipóxia do dia 1 ao 16 da incubação não encontraram diferença na massa dos pulmões em nenhum momento da incubação e Zhang e Burggren (2012) usaram hipóxia no início, final ou durante a incubação inteira encontraram massa dos pulmões proporcional à massa do embrião.

A hipóxia muitas vezes também é relacionada a uma resposta de hipertensão do sistema respiratório, que provocaria ascite (síndrome da hipertensão pulmonar). Em resposta à hipóxia crônica, alguns autores afirmam que animais adultos podem

sofrer alterações morfológicas nos pulmões por causa de um remodelamento estrutural, que aumentaria a espessura das paredes arteriais dos pulmões (HISLOP; REID, 1976; RABINOVITCH et al., 1979; RABINOVITCH, 1999; RABINOVITCH, 2012) e diminuiria a quantidade de pequenos vasos não capilares (HISLOP; REID, 1976; RABINOVITCH et al., 1979; STENMARK; MCMURTRY, 2005), fazendo com que ocorra um aumento de resistência pulmonar. Porém pintinhos que foram incubados sob hipóxia apresentam menor incidência de ascite desde jovens até o abate (BAHADORAN; HASSANZADEH; ZAMANIMOGHADDAM, 2010). Além disso, os resultados que mostram um efeito negativo da hipóxia sobre as estruturas pulmonares são contestados por evidências da ocorrência de angiogênese; tanto morfológicas, pelo aumento de densidade e tamanho de vasos pulmonares de animais adultos expostos à hipóxia crônica (HOWELL; PRESTON; MCLOUGHLIN, 2003), quanto por evidências fisiológicas, com maior concentração de VEGF (fator de crescimento endotelial vascular) nos pulmões de embriões de galinhas incubados em hipóxia. Em mamíferos, o VEGF não está ligado somente ao desenvolvimento de vasos sanguíneo, mas também ao desenvolvimento de vias aéreas nos pulmões (LEWALLEN; BURGGREN, 2015).

Ainda sobre a influência da hipóxia sobre as estruturas de trocas gasosas é interessante lembrar que em aves que passam por hipóxia durante seu percurso migratório de altas altitudes, como o ganso de cabeça listrada (SCOTT, 2011) são relatadas adaptações que facilitam as trocas gasosas, como maior afinidade da hemoglobina ao oxigênio (PETSCHOW et al., 1977; BLACK; TENNEY, 1980), menor barreira de difusão sangue-ar (MAINA; KING, 1982), maior densidade capilar e número de mitocôndrias (FEDDE et al., 1985) e baixíssimo ou nenhum aumento na resistência vascular (FARACI; KILGORE; FEDDE, 1984) .

Objetivo

Diante do exposto acima, o objetivo do presente trabalho foi testar a hipótese de que a hipóxia durante o desenvolvimento fetal de *Gallus gallus* induz remodelamento das estruturas parabronquiais, e se este permanece após a eclosão. Assim, foi utilizado o método de estereologia para a análise das estruturas

parabronquiais de pintainhos recém-eclodidos e de dez dias de idade que foram expostos a 15% O₂ entre os dias 12 e 18 de incubação.

Referências bibliográficas

ABDALLA, M. A.; MAINA, J. N.; KING, A. S.; KING, D. Z.; HENRY, J. Morphometrics of the avian lung. 1-The domestic fowl, *Gallus domesticus*. **Respiration Physiology**. v. 47, p. 267–278, 1982.

ABDALLA, M. A. Morphometry of the avian lung. **Journal of Anatomy**. v.123, p. 262, 1977.

ABDALLA, M. A.; MAINA, J. N. Quantitative analysis of the exchange tissue of the avian lung (Galliformes). **Journal of Anatomy**. v.134, p. 677–680, 1981.

ABREU, P. G. Modelos de aquecimento. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA, 4., 2003, Chapecó. **Anais eletrônicos**, Chapecó: EMBRAPA Suínos e Aves, 2003. Disponível em: <https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/modelos_de_aquecimento_000fze3s7qt02wx5ok0cpoo6arpz5ii1.pdf> acesso em 11, jan, 2016.

ADAIR, T. H.; GUYTON, A. C.; MONTANI, J. P.; LINDSAY, H. L.; STANEK, K. A. Whole body structural vascular adaptation to prolonged hypoxia in chick embryos. **American Journal of Physiology**. v. 252 (Heart Circ. Physiol. 21), p.1228 - 1234, 1987.

ADAIR, T. H.; MONTANI, J. P.; GUYTON, A. C. Effects of intermittent hypoxia on structural vascular adaptation in chick embryos. **American Journal of Physiology**. v. 254 (Heart Circ. Physiol. 23), p. 94 - 99, 1988.

AR, A.; GIRARD, H.; RODEAU, J. L. Oxygen uptake and chorioallantoic blood flow changes during acute hypoxia and hyperoxia in the 16 day chicken embryo **Respiration Physiology**. v.83, p. 295-312, 1991.

AVISITE, Campinas, 08 de Janeiro de 2016. Disponível em <<http://www.avisite.com.br/noticias/index.php?codnoticia=16534>>. Acesso em 11 jan. 2016.

AZZAM, M. A.; SZDZUY, K.; MORTOLA, J. P. Hypoxic incubation blunts the development of thermogenesis in chicken embryos and hatchlings. **American Journal of Physiology**. v. 292, p. 2373-2379, 2007.

AZZAM M. A.; MORTOLA J. P. Organ growth in chicken embryos during hypoxia: implications on organ “sparing” and “catch-up growth”. **Respiratory Physiology and Neurobiology**. V. 159, p. 155–162, 2007.

AZIZ, T; BARNES, H. J. Harmful effects of ammonia on birds. World poultry, 25 de outubro de 2010. Disponível em: <<http://chickfliccoop.com/wp-content/uploads/2015/05/Harmful-effects-of-ammonia-on-birds.pdf>>. Acesso em: 11 jan. 2016.

BAHADORAN, S.; HASSANZADEH, M.; ZAMANIMOGHADDAM, A. K. Effect of chronic hypoxia during the early stage of incubation on prenatal and postnatal parameters related to ascites syndrome in broiler chickens. **Iranian Journal of Veterinary Research**. v. 11, n. 1, p. 64 – 71, 2010.

BAUMANN, R.; PADEKEN, S.; HALLER, E.; BRILMAYER, T. Effects of hypoxia on oxygen affinity, hemoglobin pattern, and blood volume of early chicken embryos. **American Journal of Physiology**, v. 244 (Regulatory Integrative Comp. Physiol. 13) p. R733-R741, 1983.

BELLAIRS, R.; OSMOND, M. **The Atlas of Chick Development, Third Edition**. Academic Press, 2014. P. 603 a 605.

BJØNNES, P. O.; AULIE, A.; HØIBY, M. Effects of hypoxia on the metabolism of embryos and chicks of domestic fowl. **Journal of Experimental Zoology**. v. 1, p. 209 - 212, 1987.

BLACK, C. P.; TENNEY, S. M. Oxygen transport during progressive hypoxia in high-altitude and sea-level waterfowl. **Respiration Physiology**. v. 39, p. 217 - 239, 1980.

BURGGREN, W. W. Genetic, environmental and maternal influences on embryonic cardiac rhythms. **Comparative Biochemistry and Physiology**. v. 124, n. 4, p. 423 - 427, 1999. Disponível em:< [http://dx.doi.org/10.1016/S1095-6433\(99\)00134-8](http://dx.doi.org/10.1016/S1095-6433(99)00134-8)>.

BURGGREN, W. W. Studying Physiological Development: Past, Present and Future. **The Biological Bulletin**. v. 33(2), p. 71 - 84, 1998.

CAVANAGH, D.; NAQI, S. Infectious Bronchitis. In: Calnek, B.W.; Barnes, H. J.; Beard, C. W. 11 ed. **Diseases of poultry**. Iowa State University Press, 2003. p.101-119.

CHAN, T.; BURGGREN, W. W. Hypoxic incubation creates differential morphological effects during specific developmental critical windows in the embryo of the chicken (*Gallus gallus*). **Respiratory Physiology & Neurobiology**. v. 145, p. 251–263, 2005.

DECUYPERE, E.; DEWIL, E.; KÜHN, R. The hatching process and the role of hormones. **Avian incubation**. p. 239-256, 1991.

DUNCKER, H. R. Structure of the avian lung. **Respiration Physiology**. v. 14, p. 4 – 63, 1972.

DUNCKER, H. R. Der quantitative Aufbau des Lungenluftsacksystems der Vögel. **Verhandlungen der anatomischen gesellschaft**. v. 67, p. 197–204 ,1973

DUNCKER, H. R. Structure of the avian respiratory tract. **Respiration Physiology**. v. 22, p. 1 – 19, 1974.

DUNCKER, H. R. The lung air sac system of birds. **Advances in Anatomy Embryology and Cell Biology**. v. 45, p. 7 – 171, 1971.

DZIALOWSKI, E.; PLETTENBERG, D.; ELMONOUFY, N. A.; BURGGREN, W. W. Chronic hypoxia alters the physiological and morphological trajectories of developing chicken embryos. **Comparative Biochemistry and Physiology**. v. 131, p.713 – 724, 2002.

EYAL-GILADI, H. The gradual establishment of cell commitments during the early stages of chick development. **Cell Differentiation**, v. 14, p. 245 - 255, 1984. Disponível em:< [http://dx.doi.org/10.1016/0045-6039\(84\)90013-7](http://dx.doi.org/10.1016/0045-6039(84)90013-7)>.

EYAL-GILADI, H.; KOCHAV, S. From cleavage to primitive streak formation: A complementary normal table and a new look at the first stages of the development of the chick: I. General morphology, **Developmental Biology**. v. 49, n. 2, p. 321-337, 1976. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/0012-1606\(76\)90178-0](http://dx.doi.org/10.1016/0012-1606(76)90178-0)>.

FARACI, F. M.; KILGORE, D. L. JR.; FEDDE, M. R. Attenuated pulmonary pressor response to hypoxia in bar-headed geese. **American Journal of Physiology**. v. 247 (Regulatory Integrative Comp. Physiol. 16), p. 402 - 403, 1984.

FEDDE, M. R. **Relationship of structure and function of the avian respiratory system to disease susceptibility. Poultry Science**. v. 77, p. 1130 - 1138, 1998.

FEDDE, M. R., FARACI, F. M., KILGORE, D. L., CARDINET, G. H., CHATTERJEE, A. Cardiopulmonary adaptations in birds for exercise at high altitude. In: Gilles, R. (Ed.), **Circulation, Respiration, and Metabolism**. Berlin, 1985, p. 49 - 163.

FERNER, K.; MORTOLA, J. P. Ventilatory response to hypoxia in chicken hatchlings: A developmental window of sensitivity to embryonic hypoxia. **Respiratory Physiology and Neurobiology**. v. 165, p. 49 - 53, 2009.

FLETCHER, D. L. Poultry meat quality. **World's Poultry Science Journal**. Ithaca, v. 58, n. 2, p. 131 – 145, 2002.

FREEMAN, B. M.; MISSON, B. H. Ph, pO₂, and pCO₂ of blood from the foetus and neonate of *Gallus domesticus*. **Comparative Biochemistry and Physiology**. v. 33, p. 763 - 772, 1970.

GILBERT, S. F. Early Development in Birds. **Developmental Biology, 6th edition**. Sunderland, 2000. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK10070/>>.

GIUSSANI, D. A.; SALINAS, C. E.; VILLENA, M.; BLANCO, C. E. The role of oxygen in prenatal growth: studies in the chick embryo. **The Journal of Physiology**. v. 585, n. 3, p. 911 – 917, 2007.

HASSANZADEH, M.; FARD, M. H. B; BUYSE, J.; BRUGGEMAN, V.; DECUYPERE, E. Effect of chronic hypoxia during embryonic development on physiological functioning and on hatching and post-hatching parameters related to ascites syndrome in broiler chickens. **Avian Pathology**. v. 33, n. 6, p. 558 – 564, 2004.

HISLOP, A.; REID, L. New findings in pulmonary arteries of rats with hypoxia-induced pulmonary hypertension. **British Journal of Experimental Pathology**. v. 57, p. 542 – 554, 1976.

HOWELL, K.; PRESTON, R. J.; MCLOUGHLIN, P. Chronic hypoxia causes angiogenesis in addition to remodelling in the adult rat pulmonary circulation. **The Journal of Physiology**. v. 547, n. 1, p. 133 – 145, 2003.

IWANIUK, A. N.; NELSON, J. E. Developmental differences are correlated with relative brain size in birds: a comparative analysis. **Canadian Journal of Zoology**, v. 81, n. 12, p. 1913 – 1928, 2003.

JULIAN, R. J. Production and growth related disorders and other metabolic diseases of poultry – A review. **The Veterinary Journal**. v. 169, n. 3, p. 350 - 369, 2005. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2004.04.015>>.

LEWALLEN, M. A.; BURGGREN, W. W. Chronic hypoxia and hyperoxia modifies morphology and VEGF concentration of the lungs of the developing chicken (*Gallus gallus* variant domesticus). **Respiratory Physiology and Neurobiology**. v. 219, p. 85 – 94, 2015.

LOURENS, A.; BRAND, H.; HEETKAMP, M. J. W.; MEIJERHOF, R.; KEMP, B. Effects of Eggshell Temperature and Oxygen Concentration on Embryo Growth and Metabolism During Incubation. **Poultry Science**. v. 86, p. 2194 – 2199, 2007.

MAINA, J. N.; KING, A. S. Morphometrics of the avian lung. 2. The wild mallard (*Anas platyrhynchos*) and greylag goose (*Anseranser*). **Respiration Physiology**. v. 50, p. 299 – 310, 1982.

MAINA, J. N. Development, structure, and function of a novel respiratory organ, the lung-air sac system of birds: to go where no other vertebrate has gone. **Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society**. v. 81, p. 545 - 579, 2006.

MAINA, J. N. A systematic study of the development of the airway (bronchial) system of the avian lung from days 3 to 26 of embryogenesis: a transmission electron microscopic study on the domestic fowl, *Gallus gallus* variant domesticus. **Tissue and Cell**. v. 35, n. 5, p. 375 - 391, 2003. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0040-8166\(03\)00058-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0040-8166(03)00058-2)>.

MORTOLA, J. P. Gas exchange in avian embryos and hatchlings. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A**. v. 153, p. 359 – 377, 2009.

MORTOLA, J. P.; AWAM, K. A. Growth of the chicken embryo: Implications of egg size. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part A. v. 156, p. 373 – 379, 2010.

MORTOLA, J. P.; COONEY, E. Cost of growth and maintenance in chicken embryos during normoxic or hypoxic conditions. **Respiratory Physiology and Neurobiology**. v. 162, p. 223 – 229, 2008.

MORTOLA, J. P.; LABBE, K. Oxygen consumption of the chicken embryo: interaction between temperature and oxygenation. **Respiratory Physiology and Neurobiology**. v. 146, p. 97 – 106, 2005.

OECD-FAO - OECD/FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS,. **Agricultural Outlook 2015**. Paris: OECD Publishing, 2015. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1787/agr_outlook-2015-en.

PETSCHOW, D.; WÜRDINGER, I.; BAUMANN, R.; DUHM, J.; BRAUNITZER, G. BAUER, C. Causes of high blood O₂ affinity of animals living at high altitude. **Journal of Applied Physiology**. v. 42, p. 139 - 143, 1977.

PIIPER, J.; SCHEID, P. Gas transport efficacy of gills, lungs and skin. Theory and experimental data. **Respiration Physiology**. v. 32, p. 209 – 221, 1975.

POWELL, F. L. Respiration. In: CAUSEY, W. G 5° ed. **Sturkie`s Avian Physiology**. 2000, p. 233 - 342.

RABINOVITCH, M.; GAMBLE, W.; NADAS, A. S.; MIETTINEN, O. S.; REID, L. Rat pulmonary circulation after chronic hypoxia: hemodynamic and structural features. **American Journal of Physiology**. v. 236, p. 818 – 827, 1979.

RABINOVITCH, M. EVE and beyond, retro and prospective insights. **American Journal of Physiology**. v. 277, p. 5–12, 1999.

RABINOVITCH, M. Molecular pathogenesis of pulmonary arterial hypertension. **The Journal of Clinical Investigation**. v. 122, n. 12, p. 4306 – 4313, 2012.

RAMIREZ, J-M; FOLKOW, L. P.; BLIX, A. S. Hypoxia tolerance in mammals and birds: From the wilderness to the clinic. **Annual Review of Physiology** .v. 69, p. 113 – 43, 2007.

RUIJTENBEEK, K., LE NOBLE, F. A. C; JANSEEN, G. M. J.; KESSELS, C. G. A.; FAZZI, G. E.; BLANCO, C. E.; DE MEY, J. G. R. Chronic hypoxia stimulates periarterial sympathetic nerve development in chicken embryos. **Circulation**. v. 102, p. 2892 – 2897, 2000.

SCOTT, G. R. Elevated performance: the unique physiology of birds that fly at high altitudes. **The Journal of Experimental Biology**. v. 214, p. 2455 – 2462, 2011.

SEMENZA, G. L. HIF-1: mediator of physiological and pathophysiological responses to hypoxia. **Journal of Applied Physiology**. v. 88, p. 1474 – 1480, 2000.

HAMBURGER, V.; HAMILTON, H. L. A series of normal stages in the development of the chick embryo. **Journal of Morphology**, v. 88, n. 1, 1951. Reprinted by **Developmental Dynamics**. v. 195, p. 231 - 272, 1992.

STENMARK, K. R.; MCMURTRY, I. F. Vascular Remodeling Versus Vasoconstriction in Chronic Hypoxic Pulmonary Hypertension A Time for Reappraisal ? **Circulation Research**. v. 97, p. 95-98, 2005.

STRICK, D. M.; WAYCASTER, R. L.; MONTANI, J. P.; GAY, W. J.; ADAIR, T. H. Morphometric measurements of chorioallantoic membrane vascularity: effects of hypoxia and hyperoxia. **American Journal of Physiology**. v. 260 (Heart Circ. Physiol. 29), p. 385 - 389, 1991.

SZDZUY, K.; MORTOLA, J. P., Ventilatory chemosensitivity of the 1-day-old chicken hatchling after embryonic hypoxia. **American Journal of Physiology**. v. 293, p. 1640 – 1649, 2007.

SZDZUY, K.; FONG, L. M.; MORTOLA, J. P. Oxygenation and establishment of thermogenesis in the avian embryo. **Life Sciences**. v. 82, p. 50–58, 2008.

TAZAWA, H.; HASHIMOTO, Y.; NAKAZAWA, S.; WHITTOW, G. C. Metabolic responses of chicken embryos and hatchlings to altered O₂ environments. **Respiration Physiology**. v. 88, p. 37 – 50, 1992.

TAZAWA, H.; MIKAMI, T.; YOSHIMOTO, C. Effect of reducing the shell area on the respiratory properties of chicken embryonic blood. **Respiration Physiology**. v. 13, p. 352–360, 1971.

UNITED NATIONS, Department of Economic and Social Affairs, Population Division. **World Population Prospects: The 2015 Revision, Key Findings and Advance Tables**. 2015, p. 241.

USDA - FOREIGN AGRICULTURAL SERVICE/USDA. **Livestock and poultry: World markets and Trade. Production and Trade of All Meats to Expand in 2016**. United States Department of Agriculture Foreign Agricultura, 2015. Disponível em: <http://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock_poultry.PDF>, acesso em 11, jan. 2016.

USDA FINDING: INTERNATIONAL MARKETS & TRADE. Brazil Emerges As Major Force in Global Meat Markets. 2006. Disponível em: <<<http://www.ers.usda.gov/amber-waves/2006-april/brazil-emerges-as-major-force-in-global-meat-markets.aspx#.VpgGdfkrLIU>>.

VIDYADARAN, M. K.; KING, A. S.; KASSIM, H. Deficient anatomical capacity for oxygen uptake of the developing lung of the female domestic fowl when compared with red-jungle fowl. **Schweischr Arch Tiere**. v. 129, p. 225–237, 1987.

VIDYADARAN, M. K.; KING A. S; KASSIM, H. Quantitative Studies of the Lung of the Domestic Fowl (*Gallus gallus* var. *domesticus*). **Pertanika**. v. 11, n. 2, p. 229-238, 1988.

VILLAMOR, E.; RUIJTENBEEK, K.; PULGAR, V.; DE MEY, J. G. R.; BLANCO, C. E. Vascular reactivity in intrapulmonary arteries of chicken embryos during transition to ex ovo life. **American Journal of Physiology**. v. 282, p. 917 – 927, 2002.

VISSCHEDIJK, A. H. J. The air space and embryonic respiration. **British Poultry Science**, v. 9, n. 2, p. 197 - 210, 1968.

WAGNER-AMOS, K.; SEYMOUR, R. S. Effect of local shell conductance on the vascularisation of the chicken chorioallantoic membrane. **Respiratory Physiology and Neurobiology**. v. 134, p. 155 – 167, 2003.

WANGENSTEEN, O. D.; RAHN, H.; BURTON, R. R.; SMITH, A. H. Respiratory gas exchange of high altitude adapted chick embryos. **Respiration Physiology**. v. 21, p. 61 - 70, 1974.

XU, L.; MORTOLA, J. Effects of hypoxia or hyperoxia on the lung of the chick embryo. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**. v. 67, p. 515 - 519, 1989.

ZHANG H.; BURGGREN W. W. Hypoxic level and duration differentially affect embryonic organ system development of the chicken (*Gallus gallus*). **Poultry Science**. v. 91, p. 3191 – 3201, 2012.