

UFRRJ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

DISSERTAÇÃO

**AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL DA INGESTÃO HÍDRICA E
MECANISMOS NEUROENDÓCRINOS ENVOLVIDOS NO CONTROLE
DO BALANÇO HIDROELETROLÍTICO EM CODORNAS JAPONESAS**
(Coturnix coturnix japonica)

MAYRA DIAS SILVEIRA

2019



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

**AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL DA INGESTÃO HÍDRICA E
MECANISMOS NEUROENDÓCRINOS ENVOLVIDOS NO CONTROLE
DO BALANÇO HIDROELETROLÍTICO EM CODORNAS JAPONESAS**
(Coturnix coturnix japonica)

MAYRA DIAS SILVEIRA

Sob orientação de
Prof. Dr. Luís Carlos Reis

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no curso de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Seropédica, RJ
Agosto de 2019

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S587a Silveira, Mayra Dias, 1990-
AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL DA INGESTÃO HÍDRICA E
MECANISMOS NEUROENDÓCRINOS ENVOLVIDOS NO CONTROLE DO
BALANÇO HIDROELETROLÍTICO EM CODORNAS JAPONESAS
(Coturnix coturnix japonica) / Mayra Dias Silveira. -
Pinheiral, 2019.
41 f.: il.

Orientador: Luís Carlos Reis.
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro, PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS, 2019.

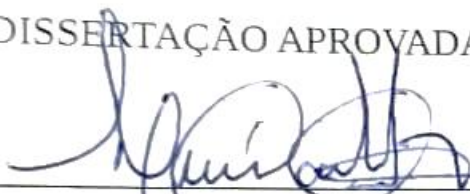
1. Comportamento Ingestivo. 2. Osmorregulação. 3.
Controle Neuroendócrino. 4. Aves. I. Reis, Luís Carlos,
1952-, orient. II Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro. PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FISIOLÓGICAS III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

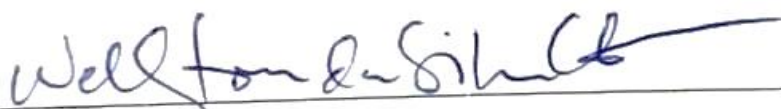
MAYRA DIAS SILVEIRA

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências Fisiológicas** no Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas área de Concentração em: Fisiologia e Farmacologia.

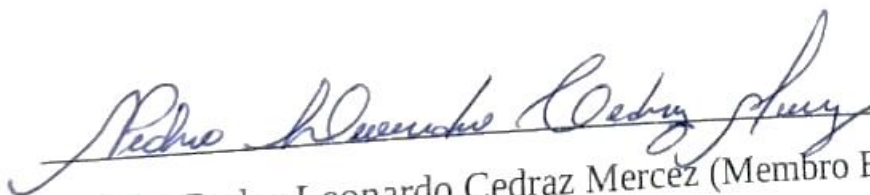
DISSERTAÇÃO APROVADA EM 30/08/2019



Prof Dr Luis Carlos Reis (Membro Interno – Orientador – UFRRJ).



Prof Dr Wellington da Silva Côrtes (Membro Interno – UFRRJ).



Prof Dr Pedro Leonardo Cedraz Mercéz (Membro Externo – UNESA).

*Dedico essa dissertação à minha mãe,
Maria Aparecida Dantas Mattos Dias,
por ser meu alicerce, confiando e
apoiando sempre em meus projetos e
objetivos.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Pai Olorum, Yansã, Xangô e a todos os Orixás e guias espirituais por terem me auxiliado e me dado saúde e forças para superar as dificuldades durante o período de mestrado. *Aquele que tem fé, nunca se encontra solitário.*

A minha mãe Maria Aparecida e meus irmãos Júnior, Filippi e Alice, pela confiança, suporte e amor dados nos melhores e piores momentos nesta etapa de minha vida. Meu amor por vocês será eterno.

Agradeço imensuravelmente ao meu orientador Prof. Dr. Luís Carlos Reis por toda contribuição neste trabalho, pelo incentivo em busca do conhecimento, pela compreensão e empatia nos momentos de insegurança, deslizes e dificuldades. Muito obrigada, Mestre.

Ao Prof. Dr. André de Sousa Mecawi, agradeço pela atenção e oportunidade dada desde o início, antes do processo seletivo, a uma simples aluna “forasteira”, recém formada em Medicina Veterinária. Sem sua intermediação, isso tudo não seria possível. Também agradeço por toda colaboração durante a pós-graduação, do início ao fim.

Ao meu amigo José Edgard de Oliveira Alves, que carrego comigo desde a graduação, por me aturar nos meses de convívio diário, tanto no departamento quanto dividindo o mesmo teto. Obrigada por colaborar sempre, direta ou indiretamente, com a minha formação profissional e acadêmica.

A todos os colegas de departamento que tive o prazer de conhecer e trabalhar, principalmente do Laboratório de Neuroendocrinologia Básica e Comportamental. Desejo um futuro promissor e que transmitam o conhecimento por onde estiverem.

Agradeço ao Departamento de Fisiologia da Universidade de São Paulo, da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Um agradecimento especial ao Prof. Dr. José Antunes Rodrigues, fisiologista que tive a honra e o prazer de conhecer. Agradeço por terem me recebido em seus laboratórios e colaborado para a realização desta pesquisa.

Finalmente, agradeço à Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e a todo corpo docente, demais funcionários e a todos, que de forma direta ou indireta, fizeram parte deste trabalho e de minha formação. Muito obrigada.

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

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001.

RESUMO

SILVEIRA, Mayra Dias. Avaliação Comportamental da Ingestão Hídrica e Mecanismos Neuroendócrinos Envolvidos no Controle do Balanço Hidroeletrólítico em Codornas Japonesas (*Coturnix coturnix japonica*). 2019. 42 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) Instituto de Biologia - Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2019.

A diminuição dos fluidos corporais pode ser ocasionada pela privação hídrica e com isso, mecanismos de controle e regulação são ativados de forma a garantir a manutenção do equilíbrio hidroeletrólítico, dentre eles a secreção de hormônios neurohipofisários. A privação hídrica em aves é um importante estímulo estressor que provoca uma ampliação da atividade dos neurônios dos NPV e NSO, denominados magnocelulares, e conseqüentemente um aumento no comportamento da ingestão de água em aves. Com isso, a privação hídrica se torna um modelo experimental conveniente para os estudos da atividade vasotocinérgica e mesotocinérgica, assim como estudos da interação desses peptídeos com seus respectivos receptores e sua ação central e sistêmica. Desta forma, o presente estudo investigou as possíveis correlações entre a atividade vasotocinérgica e mesotocinérgica em aves com as alterações comportamentais entre o mecanismo de sede e da ingestão de água, através de modelo experimental desenvolvido com codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*), submetendo os grupos experimentais à privação hídrica. Foram utilizados codornas machos de aproximadamente 50 dias, mantidos sob temperatura controlada de $26\pm 2^{\circ}\text{C}$, ciclo claro-escuro de 12/12 horas, subdivididas em três grupos distintos (n=6): i.Grupo Controle (CTRL), ii.Grupo Privado Hidricamente por 36 horas (PvH) e iii.Grupo Privado Hidricamente por 36 horas com Reapresentação de água durante duas horas (IH-2h). Verificamos que a privação hídrica foi capaz de aumentar a ingestão hídrica do grupo IH-2h, para todos os intervalos de tempo observados, quando comparado ao grupo CTRL e ao grupo IH-2 antes da privação (IH-2h após privação vs CTRL, $p < 0,0001$; IH-2h após privação vs IH-2 antes da privação, $p < 0,0001$). O grupo PvH demonstrou diferença estatisticamente significativa quando comparado ao grupo CTRL na ingestão basal de água no tempo de 120 minutos (PvH $3,56\pm 1,36$ vs CTRL $0,79\pm 0,29$; $p = 0,002$). Houve redução do peso corporal de maneira significativa dos grupos PvH e IH-2h, quando considerada a variação de ganho de peso antes e após privação (PvH após privação vs CTRL, $p < 0,0001$ e IH-2h após privação vs CTRL, $p < 0,0001$). Deste modo, o presente estudo foi capaz de demonstrar resultados positivos com relação ao comportamento ingestivo de água e suas possíveis influências no ganho de peso corporal da espécie após privação hídrica. Embora os resultados dos parâmetros plasmáticos avaliados neste estudo não permitam afirmar que mecanismos de controle neuroendócrino vasotocinérgico e mesotocinérgico estejam envolvidos na privação hídrica, sugerimos que a ação dos hormônios AVT e MT tem importância impar no controle de líquidos corporais. Estudos posteriores são necessários, para que se possa elucidar o papel desses e outros hormônios envolvidos da osmorregulação de codornas japonesas.

Palavras Chave: Comportamento Ingestivo, Osmorregulação, Controle Neuroendócrino

ABSTRACT

SILVEIRA, Mayra Dias. Behavioral Evaluation of Water Intake and Neuroendocrine Mechanisms Involved in Hydroelectrolytic Balance Control in Japanese Quails (*Coturnix coturnix japonica*). 2019. 42 p. Dissertation (MS in Physiological Sciences) Institute of Biology - Department of Physiological Science, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2019

The decrease of the body fluids can be caused by water deprivation and, therefore, control and regulation mechanisms are activated in order to ensure the maintenance of hydroelectrolytic balance, among them the secretion of neurohypophyseal hormones. Water deprivation in birds is an important stress stimulus that causes an increase in the activity of NPV and NSO neurons, called magnocellular cells, and consequently an increase in water intake behavior in birds. Thus, water deprivation becomes a convenient experimental model for studies of vasotocinergic and mesotocinergic activity, as well as studies of the interaction of these peptides with their respective receptors and their central and systemic action. Thus, the present study investigated the possible correlations between vasotocinergic and mesotocinergic activity in birds with behavioral changes between thirst mechanism and water intake, through an experimental model developed with Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*), submitting the experimental groups an water deprivation. Male quails of approximately 50 days were used, maintained at a controlled temperature of $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$, under a photoperiod of 12/12 hours, subdivided into 3 distinct groups (n = 6): Control Group (CTRL), Water Deprivation for 36 hours (PvH) and Water Deprivation for 36 hours with 2 hours of water presentation (IH-2h). We found that water deprivation was able to increase the water intake of the IH-2h group for all observed time intervals when compared to the CTRL group and the IH-2 group before deprivation (IH-2h after deprivation vs CTRL, p IH-2h after deprivation vs IH-2h before deprivation, p <0.0001). The PvH group showed a statistically significant difference when compared to the CTRL group in basal water intake at 120 minutes (PvH $3,56 \pm 1,36$ vs CTRL $0,79 \pm 0,29$; p = 0,002). There was a significant reduction in body weight in the PvH and IH-2h groups when considering the variation in weight gain before and after deprivation (PvH after deprivation vs CTRL, p <0.0001 and IH-2h after deprivation vs CTRL, p <0.0001). Thus, the present study was able to demonstrate positive results regarding water ingestive behavior and its possible influences on species body weight gain after water deprivation. Although the results of the plasma parameters evaluated in this study do not allow us to confirm that the vasotocinergic and mesotocinergic neuroendocrine control mechanisms are involved in water deprivation, but we suggest that the action of the hormones AVT and MT is extremely important in the body fluids control. Further studies are needed to elucidate the role of these and other hormones involved in the osmoregulation of Japanese quails.

Key-words: Ingestive Behavior, Osmoregulation, Neuroendocrine Control

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Presença de órgãos osmorregulatórios em vertebrados.....	14
Figura 2. O rim aviário e seus tipos de néfrons.....	15
Figura 3. Modelo do sistema de contracorrente dos túbulos renais aviários.....	16
Figura 4. Esquematização do intestino inferior de aves, retroperistaltismo e trocas de água e NaCl.....	17
Figura 5. Sistemas neurais que ocupam o <i>Subpallium</i> das aves.....	18
Figura 6. Órgãos circunventriculares associados ao septo aviário.....	18
Figura 7. Diagrama esquemático que mostra a estrutura do hipotálamo e hipófise aviária.	20
Figura 8. Diferenças entre as cadeias de aminoácidos dos hormônios arginina vasotocina (AVT) e mesotocina (MT) e seus homólogos, arginina vasopressina (AVP) e ocitocina (OT).....	20
Figura 9. Gaiola metabólica adaptada para o experimento com codornas japonesas (<i>Coturnix coturnix japonica</i>).....	23
Figura 10. Linha do tempo do experimento realizado em gaiola metabólica.....	23
Figura 11. Ingestão basal de água por grupos experimentais.....	25
Figura 12. Ingestão basal de ração por grupos experimentais.....	26
Figura 13. Ingestão de ração nos períodos de 24 horas e 36 horas após a após privação hídrica.....	26
Figura 14. Ingestão de ração basal comparado à ingestão no período de 24 horas após privação hídrica.....	27
Figura 15. Ingestão basal hídrica em duas horas pelos grupos experimentais.....	27
Figura 16. Ingestão hídrica em duas horas pelos grupos experimentais CTRL e IH-2h (Antes e após privação hídrica).....	28
Figura 17. Ganho de peso cumulativo dos animais durante o experimento.....	29
Figura 18. Peso total de antes e após privação hídrica dos animais.....	30
Figura 19. Variação de peso (Δ - Peso Corporal) dos animais antes e após a privação hídrica.....	30
Figura 20. Sódio plasmático dos grupos após período de privação hídrica.....	31
Figura 21. Potássio plasmático dos grupos após período de privação hídrica.....	31
Figura 22. Hematócrito dos grupos após período de privação hídrica.....	32

Figura 23. AVT plasmática dos grupos após período de privação hídrica.....	32
Figura 24. MT plasmática dos grupos após período de privação hídrica.....	33

LISTA DE ABREVIACOES

ACTH	Hormônio Adrenocorticotrófico
ANGII	Angiotensina II
AP	rea Postrema
AQP	Aquaporina
AQPs	Aquaporinas
AVP	Arginina Vasopressina
AVT	Arginina Vasotocina
CRH	Hormônio Liberador De Corticotrofina
CTRL	Grupo Controle
DC	Ducto Coletor
FEC	Fluidos Corporais Extracelulares
FIC	Fluidos Corporais Intracelulares
IH-2h	Grupo Privado Hidricamente Com Reapresentao De gua
MT	Mesotocina
NaCL	Cloreto De Sódio
NOS	Núcleo Supraptico
NPV	Núcleo Paraventricular
OCVs	rgos Circunventriculares
OSF	rgo Subfornical
OSL	rgo Septal Lateral
OSS	rgo Subseptal
OT	Ocitocina
OVLt	rgo Vasculoso Da Lamina Terminal
PvH	Grupo Privado Hidricamente
RA	Ramo Ascendente
RD	Ramo Descendente
SCC	Septo Caudocentral
SHpS	Septo Septohipocampal

SL	Septo Lateral
SM	Septo Medial
TFG	Taxa De Filtração Glomerular
TM	Néfron Do Tipo Mamífero
TR	Néfron Do Tipo Reptiliano

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1 Osmorregulação em Aves.....	14
2.1.1 O rim das Aves e seu papel na filtração, absorção e excreção de água e solutos.....	14
2.1.2 Intestino Inferior Aviário e sua função osmorregulatória.....	16
2.2 O Sistema Neuroendócrino das Aves.....	17
2.3 Neurohipófise e Seus Hormônios.....	19
2.4 Ações Centrais e Sistêmicas da AVT e MT.....	21
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	22
3.1 Apreciação Bioética da Experimentação Animal.....	22
3.2 Grupos Experimentais.....	22
3.3 Protocolos Experimentais.....	22
3.3.1 Gaiola Metabólica.....	22
3.3.2 Análise das Amostras de Sangue Coletadas.....	24
3.4 Análise Estatística.....	24
4 RESULTADOS.....	25
4.1 Ingestão de água, ração e ganho de peso corporal.....	27
4.2 Parâmetros de Sódio, Potássio e Hematócrito.....	31
4.3 AVT e MT (Radioimunoensaio).....	32
5 DISCUSSÃO.....	34
6 CONCLUSÕES.....	37
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38

1 INTRODUÇÃO

A osmorregulação permite que os organismos desempenhem suas funções corporais de maneira regular e esta é mantida, sobretudo, pela ingestão e excreção de sal e água. Alguns aspectos da homeostase hidroeletrolítica são comuns a todos os vertebrados, como nos mamíferos, onde o balanço entre o ganho e perda de líquidos determina o grau de hidratação dos fluidos corporais intracelulares e extracelulares (FIC e FEC).

Com relação aos órgãos que contribuem para a osmorregulação, as aves possuem um aspecto particular, pois não possuem um órgão separado onde a urina pode ser armazenada ou modificada até ser excretada, utilizam os rins, trato gastrointestinal inferior e glândulas salinas nasais ou orbitais. Os rins, por si só, não conservam grandes quantidades de água, produzindo urinas significativamente mais concentradas que o plasma. Na ausência de vesícula urinária, o débito renal entra no trato gastrointestinal inferior, onde pode ser significativamente modificado. Algumas aves possuem glândulas de sal funcionais que são capazes de eliminar o excesso de íons, geralmente cloreto de sódio, e no processo produzem água livre.

A diminuição dos fluidos corporais pode ser ocasionada pela privação hídrica e com isso, mecanismos de controle e regulação são ativados de forma a garantir a manutenção do equilíbrio hidroeletrolítico, dentre eles a secreção de hormônios neurohipofisários. A arginina vasotocina (AVT) e a mesotocina (MT) são os hormônios produzidos no hipotálamo aviário pelo núcleo paraventricular (NPV) e supraóptico (NSO). São secretados pela neurohipófise e pertencem a uma família de peptídeos estrutural e funcionalmente relacionados, como a vasopressina e ocitocina, seus homólogos em mamíferos. Possuem funções essenciais, incluindo a regulação do sal e equilíbrio dos fluidos, pressão sanguínea, resposta ao estresse, funções reprodutivas e uma variedade de comportamentos. Estas funções se dão pela interação desses hormônios com seus receptores distribuídos no sistema nervoso central, hipófise e tecido muscular liso.

A privação hídrica em aves é um importante estímulo estressor que provoca uma ampliação da atividade dos neurônios dos NPV e NSO, denominados magnocelulares, e conseqüentemente um aumento no comportamento da ingestão de água em aves. Com isso, a privação hídrica se torna um modelo experimental conveniente para os estudos da atividade vasotocinérgica e mesotocinérgica, assim como estudos da interação desses peptídeos com seus respectivos receptores e sua ação central e sistêmica.

As codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*), espécie de galináceo pertencente à família *Phasianidae*, são aves de rápido desenvolvimento embrionário (16 dias) e maturação sexual (08 semanas), quando comparadas aos frangos. Ainda, o seu pequeno tamanho corporal reduz o espaço e o custo de criação e manutenção. Ao longo das últimas décadas, tem sido utilizada em numerosos campos de pesquisa como um modelo experimental conveniente em estudos de fisiologia (HUSS *et al.*, 2008). Desta forma, o presente estudo investigou as possíveis correlações entre a atividade vasotocinérgica e mesotocinérgica em aves com as alterações comportamentais entre o mecanismo de sede e da ingestão de água, utilizando indivíduos da espécie *Coturnix coturnix japônica*, submetendo o grupo experimental à privação hídrica.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Osmorregulação em Aves

A maioria dos vertebrados, incluindo as aves, são osmorreguladores, com exceção de algumas espécies de ambientes marinhos, como peixes cartilagosos, ditos como osmoconformadores, pois não controlam ativamente a concentração osmótica do sangue (SOMERO, 1986).

Várias vias de osmorregulação se desenvolveram através do processo de evolução para permitir que os vertebrados habitem uma grande variedade de ambientes (**Figura 1**). Com relação aos órgãos que contribuem para a osmorregulação, as aves ficam entre os mamíferos e outros grupos não mamíferos, porque três órgãos podem funcionar para esse fim. Semelhante aos répteis, muitas espécies de aves possuem rins, glândulas de sal funcionais e trato gastrointestinal inferior atuando como um sistema osmorregulatório em aves, desempenhando um papel importante no controle hidroeletrólítico se comparado a outros vertebrados (BRAUN, 2015).

Órgão	Peixes	Anfíbios	Répteis	Aves	Mamíferos
Rins	X	X	X	X	X
Intestino	X	X	X	X	
Vesícula Urinária	X	X	X		
Guelras	X	X			
Glândulas de Sal			X	X	
Pele		X			

Figura 1. Presença de órgãos osmorregulatórios em vertebrados. (Adaptado de BRAUN, 2015).

2.1.1 O rim das Aves e seu papel na filtração, absorção e excreção de água e solutos

São descritos dois tipos de néfrons em aves, os do tipo reptiliano (TR), caracterizado pela ausência de alças de Henle e do tipo mamífero (TM), como ilustrado na **Figura 2**. Ainda, néfrons do tipo intermediário, que apresentam características entre o TM, com alças de Henle bem curtas, e os TR, com segmentos intermediários alongados.

A taxa de filtração glomerular (TFG) das aves é mais variável do que em mamíferos, tendo como principal fator determinante para sua variação o estado de hidratação do animal. Em estados de privação hídrica, a TFG pode declinar a aproximadamente 65% do valor em animais normohidratados. Essa variação aparenta ser regulada em parte pela ação da arginina vasotocina (AVT), devido a um possível mecanismo de “antidiurese vascular”, em estudos realizados por Braun e Dantzer (1972), após infusão parenteral de cloreto de sódio. Em contrapartida, a administração de quantidade significativa de AVT em galinhas conscientes por Stalone e Braun (1985) revelou um efeito primário do hormônio nos túbulos renais, presumivelmente nos ductos coletores (DC).

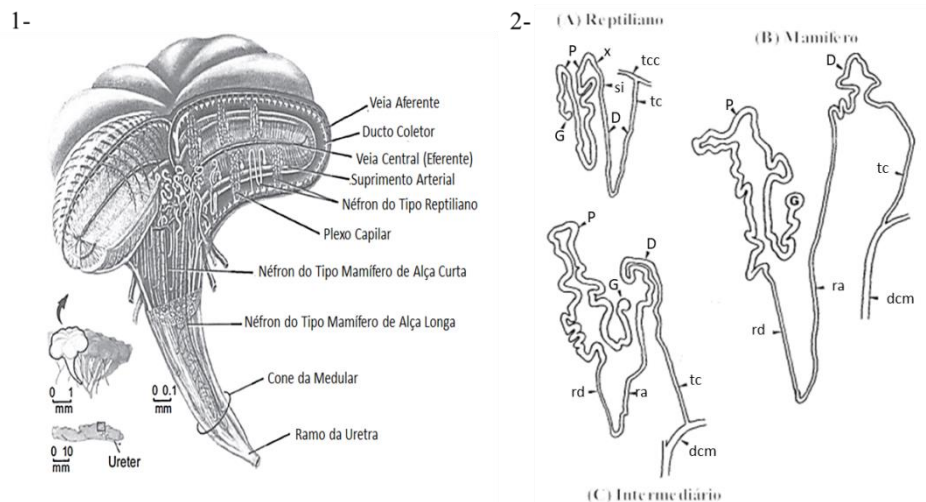


Figura 2. O rim aviário e seus tipos de néfrons. 1- O rim aviário. 2- TR, TM e néfrons do tipo intermediário de *Gallus gallus domesticus*. (A) Nota-se uma abrupta transição (x) entre o túbulo proximal (P) e o segmento intermediário (si) ao túbulo distal (D), além de ausência das alças de Henle. Presença de túbulo conector (tc) conectado a um túbulo coletor cortical (tcc). (B) Presença de alças de Henle, com seus respectivos ramos descendente (rd) e ascendente (ra), e túbulo conector, conectando-se a ductos coletores medulares (dcm). (C) Alças de Henle encurtadas e segmentos intermediários alongados. G - glomérulo (Adaptado de WIDEMAN, 1988; e BRAUN, 2015).

O principal produto nitrogenado da excreção renal das aves é ácido úrico, que não desempenha nenhum papel na composição do soluto presente nos cones medulares, pois é pouco solúvel em soluções aquosas. Além disso, as aves excretam muito pouco nitrogênio como uréia (principal produto nitrogenado de mamíferos). O rim aviário possui um gradiente de soluto desde a base dos cones medulares até suas extremidades, composto inteiramente de cloreto de sódio (NaCl) (SKADHAUGE; SCHMIDT-NIELSEN, 1967). O NaCl é transportado ativamente no interstício medular pelo transporte ativo do segmento ascendente da alça de Henle. A partir do interstício, o NaCl entra passivamente no ramo descendente da alça de Henle e é assim reciclado dentro do cone medular (**Figura 3**). (BRAUN, 2015). Na região cortical do rim, o fluido tubular pode se equilibrar com o interstício pela remoção de água antes que o mesmo adentre nos ductos coletores (DC), voltando ao cone medular.

Nos DC, o fluido tubular isosmótico é exposto a um gradiente osmótico crescente e se torna hiperosmótico, uma vez que perde água para o interstício do cone. O movimento da água através dos túbulos nos cones pode ser controlado pela ação da AVT. O fluxo de água através dos túbulos dentro dos cones medulares se dá através dos canais de água ou aquaporinas (AQPs). As AQPs do tipo 3 e 4 foram localizados na membrana basolateral de células do ducto coletor e o AQP do tipo 2, sensível ao AVT, foi identificada subapicalmente em células do ducto coletor. Em contraste com o tecido medular renal de mamíferos, os ductos coletores de aves são menos sensíveis ao hormônio antidiurético AVT na promoção do fluxo de água (NISHIMURA, 2008).

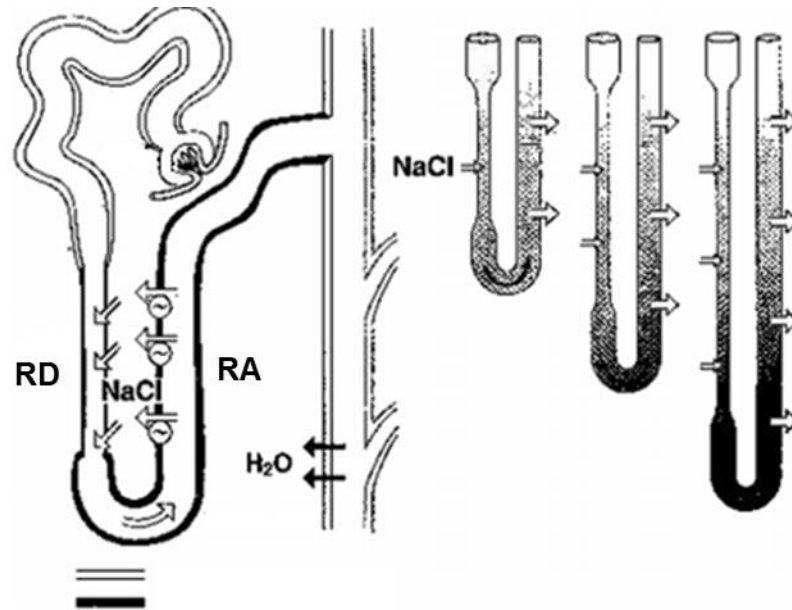


Figura 3. Modelo do sistema de contracorrente dos túbulos renais aviários. O NaCl é transportado ativamente no ramo ascendente (*RA*) da alça de Henle e absorvido passivamente no ramo descendente (*RD*) a partir das altas concentrações de soluto no interstício medular. Este processo torna o fluido no *RA* mais diluído em relação ao interstício. O movimento da água através dos ductos coletores (*DC*) é controlado pela AVT. (Adaptado de GOLDSTEIN; SKADHAUGE, 2000).

2.1.2 Intestino Inferior Aviário e sua Função Osmorregulatória

A capacidade reduzida dos rins das aves em concentrar urina, em comparação com os rins de mamíferos, está relacionada à arquitetura de seus rins, conforme descrito anteriormente, e também à falta de vesícula urinária, na qual a urina é armazenada até que possa ser excretada convenientemente. A saída dos rins aviários desemboca na cloaca, porção terminal do trato gastrointestinal. Ao chegar à cloaca, a urina é movida para o trato gastrointestinal por um mecanismo de “peristaltismo retrógrado” no cólon e no ceco, na junção ílaco-cecal. A urina então entra em contato com um segundo epitélio transportador (**Figura 4**) (BRAUN, 2015).

Há evidências claras de que o intestino inferior das aves possui papéis osmorregulatórios, além de nutricionais. Em geral, estudos indicam que o transporte de íons Na⁺ no trato intestinal inferior é principalmente regulado na menor faixa de ingestão dietética, em resposta a pequenas alterações na aldosterona plasmática, enquanto outros hormônios osmorreguladores conhecidos, como prolactina e AVT, são recrutados em níveis muito elevados de ingestão. Isso não exclui necessariamente um papel desses hormônios na indução do alto padrão de transporte de sal (LAVERTY; SKADHAUGE, 1999).

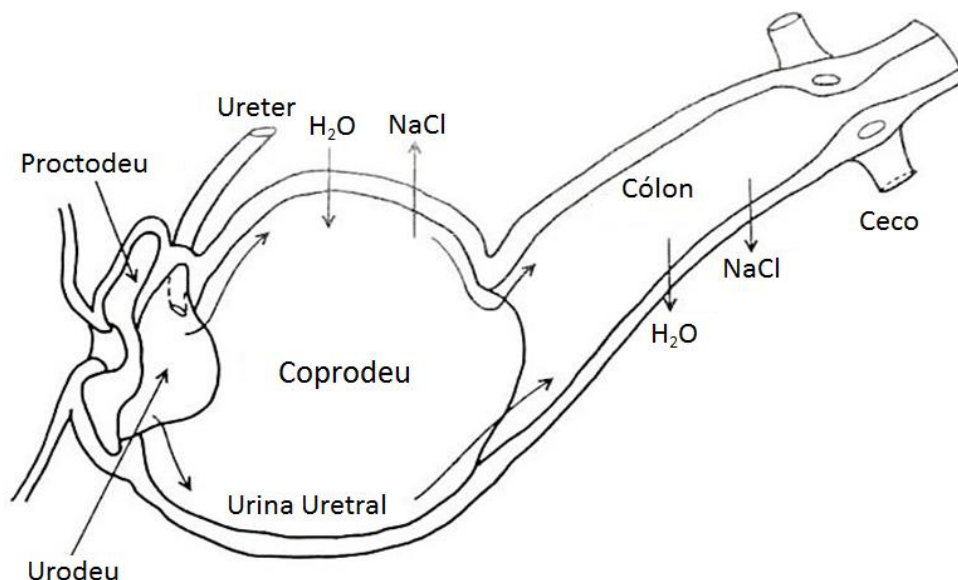


Figura 4. Esquematisação do intestino inferior de aves, retroperistaltismo e trocas de água e NaCl. (Adaptado de GOLDSTEIN; SKADHAUGE, 2000)

2.2 O Sistema Neuroendócrino das Aves

Ao final do século XX, uma nova terminologia foi desenvolvida para refletir com maior clareza a compreensão atual do encéfalo aviário e suas homologias com o encéfalo de mamíferos (JARVIS *et al.*, 2005). As estruturas que residem na região externa ou áreas corticais do telencéfalo contêm agora o sufixo *pallium*. Desde então, novos dados e avanços ocorreram, particularmente para outra região neuroanatômica do prosencéfalo chamada *subpallium* (KUENZEL, 2015).

Segundo Kuenzel (2015), a região do *subpallium* compreende os gânglios da base e inclui importantes estruturas que ajudam a regular os movimentos motores e comportamentos ingestivos, reprodutivos e defensivos, como o septo e sistemas neuroendócrinos septais. O septo aviário localiza-se dorsal e anteriormente ao diencéfalo (**Figura 5**) e pode ser dividido em maneira similar ao de mamíferos em: septo lateral (SL), septo medial (SM), septo septohipocampal (SHpS) e septo caudocentral (SCC). Órgãos circunventriculares (OCVs) são encontrados no cérebro de todas as classes de vertebrados e, como o nome indica, ocorrem adjacentes aos ventrículos do encéfalo em regiões específicas. Três OCVs estão associados ao septo aviário, incluindo o órgão septal lateral (OSL), órgão vasculoso da lamina terminal (OVLt) e órgão subseptal (OSS) (**Figura 6**).

Os OCVs são caracterizados pela ausência da barreira hematoencefálica e atuam na manutenção da homeostase do corpo através da comunicação do sangue com encéfalo. Em mamíferos, o órgão subfornical (OSF), homólogo ao OSS em aves, a área postrema (AP) e OVLt tem característica sensorial, o que permite que informações passem através deles para outras regiões encefálicas e para o sistema nervoso autônomo através da detecção de moléculas plasmáticas (KAUR; LING, 2017).

Sunn *et al.* (2003) propuseram que o OSF e o OVLt estão envolvidos não somente no comportamento ingestivo e conservação da água, mas também na função da homeostase

osmótica e de fluidos corporais em mamíferos. Em estudos com galinhas (*Gallus gallus*), demonstrou-se que o OVLT e o OSS funcionam na osmorregulação de maneira similar, sugerindo que esses OCVs desempenham um papel importante na ingestão de água (AMAN, 2016).

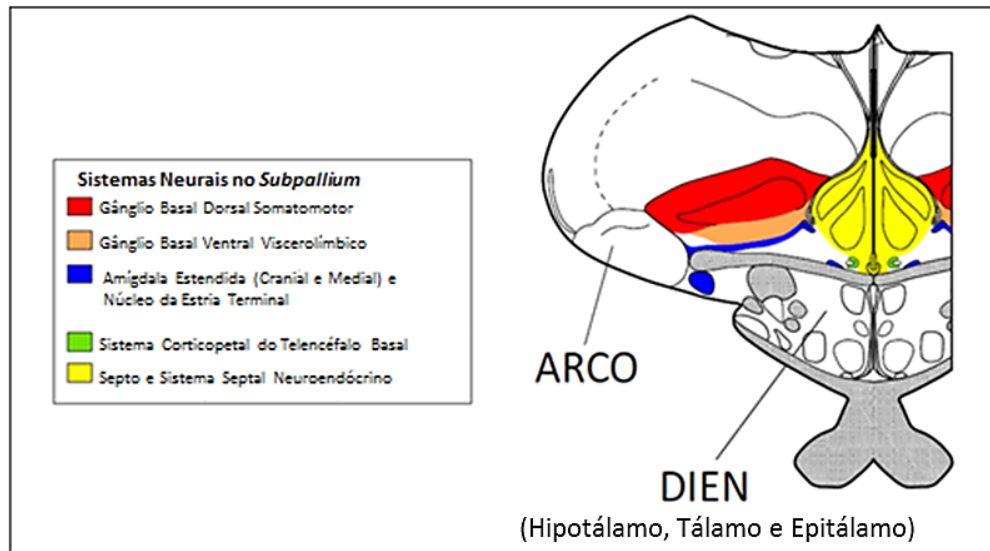


Figura 5. Sistemas neurais que ocupam o *Subpallium* das aves. DIEN – Diencefalo; ARCO-Arcopallium. (Adaptado de KUENZEL, 2015).

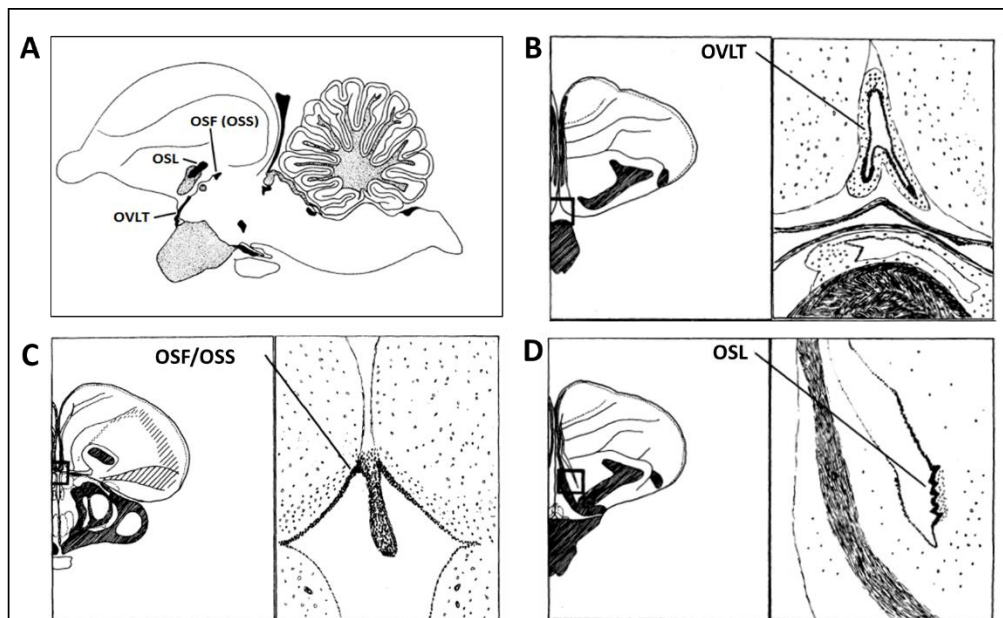


Figura 6. Orgãos circumventriculares associados ao septo aviário. (A) Vista lateral; Cortes transversais: (B) OVLT aparece entre o quiasma óptico e a base do encéfalo, continuando na porção dorsal do quiasma óptico. (C) OSF/OSS ocorre na região dorsal do terceiro ventrículo caudal à comissura anterior. Também inclui uma pequena projeção do teto dorsal do terceiro ventrículo. (D) OSL ocorre no ventrículo lateral, lateralmente ao trato septo mesencefálico. (Adaptado de KUENZEL, 1982).

Os OCVs são caracterizados pela ausência da barreira hematoencefálica e atuam na manutenção da homeostase do corpo através da comunicação do sangue com o cérebro. Em mamíferos, o órgão subfornical (OSF), homólogo ao OSS em aves, a área postrema (AP) e OVLT tem característica sensorial, o que permite que informações passem através deles para outras regiões encefálicas e para o sistema nervoso autônomo através da detecção de moléculas plasmáticas (KAUR; LING, 2017). O OVLT e OSS/OSF foram descritos pela primeira vez na espécie codorna japonesa por Mikami (1976) e Takei (1977), respectivamente.

Sunn et al. (2003) propuseram que o OSF e o OVLT estão envolvidos não somente no comportamento ingestivo e conservação da água, mas também na função da homeostase osmótica e de fluidos corporais em mamíferos. Em estudos com galinhas (*Gallus gallus*), demonstrou-se que o OVLT e o OSS funcionam na osmorregulação de maneira similar, sugerindo que esses OCVs desempenham um papel importante na ingestão de água (AMAN, 2016).

Sabe-se que o hipotálamo avião está localizado ventralmente ao tálamo e dorsalmente ao quiasma óptico e à hipófise. Seus limites são determinados por tratos de fibras e núcleos hipotalâmicos que se organizam em três regiões: (1) preopticohipotalâmica (anterior); (2) tuberal (média); e (3) mamilar (posterior). A região anterior possui núcleos neurosecretórios: o núcleo supraóptico (NSO) – subdividido em ventral (SOV) e externo (SOE) – e o núcleo paraventricular (NPV). (KUENZEL; TIENHOVEN, 1982).

A topografia dos sistemas neurosecretores do cérebro que produzem mesotocina e arginina vasotocina em codornas japonesas foram descritos primeiramente por Bons (1980). Na região preóptica anterior, incluindo o OVLT, e em diferentes níveis do NSO e NPV, foram identificados neurônios vasotocinérgicos e mesotocinérgicos, que também se localizavam na área tuberomamilar, entre as fibras do trato ectomamilar.

Em aves, a hipófise está intimamente ligada, tanto anatômica como funcionalmente, ao hipotálamo. Ao contrário de mamíferos, não possui *pars intermedia*. Em sua formação embrionária, forma a *pars distalis*, *pars nervosa* e a *pars tuberalis* (SCANES, 2015).

2.3 Neurohipófise e Seus Hormônios

A neurohipófise forma a *pars nervosa*, a haste infundibular e a eminência mediana. A *pars nervosa* consiste em terminais neurosecretórios que liberam AVT, um homólogo da arginina vasopressina (AVP) em mamíferos, e mesotocina (MT), homólogo da ocitocina (OT) (**Figura 7**). Esses hormônios são sintetizados como parte de uma mesma molécula de neurofisinas. A AVT e MT se diferem de seus homólogos pela substituição da isoleucina em suas cadeias de aminoácidos, como ilustrado na **Figura 8**.

Os neurônios que expressam a AVT dividem-se em dois grupos principais: magnocelulares e parvocelulares. Os neurônios magnocelulares são agrupados nas várias subdivisões do NPV e NSO, e estão envolvidos principalmente na regulação osmótica (PANZICA *et al.*, 2001). Estudos tem demonstrado que a privação hídrica causa um aumento significativo na atividade dos neurônios hipotalâmicos magnocelulares vasotocinérgicos do núcleo NSO e NPV em aves (NAGARAJAN *et al.*, 2014).

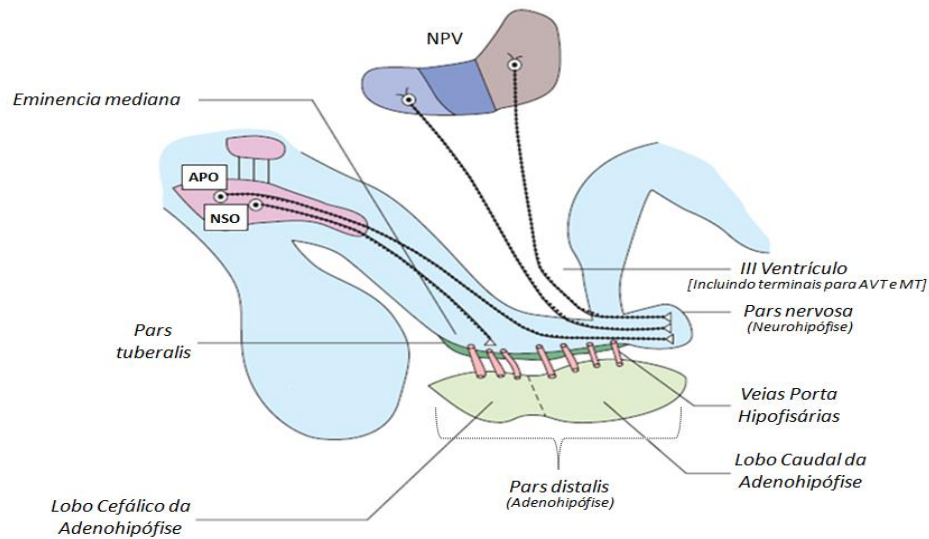


Figura 7. Diagrama esquemático que mostra a estrutura do hipotálamo e hipófise aviária. Verde escuro: pars tuberalis; azul claro: tecido nervoso no hipotálamo; verde claro: pars distalis (tecido adenohipofisário); vermelho: vasos sanguíneos do sistema porta hipofisário; APO - área pré-óptica (Adaptado de SCANES, 2015).

AVP	Cys - Tyr - Phe - Glu - Asp - Cys - Pro - Arg - Gly(NH ₂)
AVT	Cys - Tyr - Ile - Glu - Asp - Cys - Pro - Arg - Gly(NH ₂)
OT	Cys - Tyr - Ile - Glu - Asp - Cys - Pro - Leu - Gly(NH ₂)
MT	Cys - Tyr - Ile - Glu - Asp - Cys - Pro - Ile - Gly(NH ₂)

Figura 8. Diferenças entre as cadeias de aminoácidos dos hormônios arginina vasotocina (AVT) e mesotocina (MT) e seus homólogos, arginina vasopressina (AVP) e ocitocina (OT). (Fonte: SCANES, 2015)

A AVT possui uma função antidiurética e, assim como a vasopressina em mamíferos, a sua secreção é induzida pela desidratação, aumento da osmolaridade plasmática e a presença de angiotensina II (ANGII) (ROBINZON *et al.*, 1988). Em aves e mamíferos, o OSS/OSF e outros órgãos circunventriculares possuem receptores que se ligam especificamente ao ANGII. As ações sistêmicas de AVT e ANGII em aves mostraram-se similares aos seus homólogos em mamíferos atuando como mediadores específicos dos sistemas neuronais intrínsecos que controlam o sal e o equilíbrio de fluidos (SIMON-OPPERMANN *et al.*, 1988). Além disso, o OVLT e OSF possuem terminações nervosas serotoninérgicas, além de outras regiões que possuem densos sítios de ligação para ANGII (BRUN *et al.*, 2001).

Campanella *et al.* (2009) em seus estudos, demonstraram que núcleos localizados no *Arcopallium* (no Complexo Amigdalóide) de pombos desempenham papéis importantes no controle dos mecanismos de saciedade, tanto de alimento quanto de água, e sugerem que circuitos que conectam o complexo amigdalóide à área préóptica-hipotalâmica podem ser cruciais para os mecanismos que coordenam ações envolvidas no consumo e gasto de energia, no balanço hidroeletrólítico e na expressão de emoções nesses vertebrados.

A função da MT não é clara, uma vez que desempenha papéis semelhantes à AVP e OT na regulação da pressão sanguínea, contratilidade uterina e comportamento. (TAKAHASHI et al., 1995). No entanto, em estudos de Chaturvedi et al. (2001) demonstraram que os níveis de mesotocina em galinhas privadas de água não se elevaram.

Em mamíferos, os peptídeos neurohipofisários exercem seus efeitos reguladores através de quatro receptores específicos acoplados à proteína G (JURKEVICH et al., 2008). Existem quatro tipos de receptores AVT em aves, todos originalmente identificados em galinhas. Foram nomeados como VT1R, VT2R, VT3R e VT4R, correspondendo aos receptores V2, V1b, OT e V1a de mamíferos, respectivamente (LEUNG et al., 2011).

VT1R, o primeiro receptor de peptídeo neurohipofisário a ser caracterizado em aves, é expresso no encéfalo e no útero (shell gland). Assim como a V1b e V1a, os receptores VT2R e VT4R são expressos em corticotrófos hipofisários, mediando efeitos da AVT sobre a secreção de hormônio adrenocorticotrófico durante o estresse. O VT2R é escassamente detectado no encéfalo aviário e a sua expressão na glândula pituitária anterior em frangos é aumentada por privação de água ou administração de testosterona (SHARMA; CHATURVEDI, 2011) (AMAN et al., 2016).

O receptor VT3R é referido como análogo ao receptor OT (LEUNG et al., 2011) (AMAN et al., 2016). Estudos demonstram que a exposição de aves à solução salina hipertônica promove diferença na expressão gênica de receptores VT4R em dois órgãos circumventriculares (OCVs) OVLT e SSO, demonstrando que possuem função na osmorregulação semelhante a dos mamíferos (AMAN et al., 2016). Nas galinhas, as concentrações plasmáticas de MT aumentam tanto nos casos de desidratação como nas situações de hiperosmolalidade. Alguns receptores para MT tem sido observados nas membranas renais, no oviduto, útero e vagina (BARTH, 2003).

2.3.1 Ações Centrais e Sistêmicas da AVT e MT

Em mamíferos, a ação periférica da AVP regula principalmente o equilíbrio hidroeletrólítico e a osmolaridade plasmática, mas também tem papéis na manutenção da pressão arterial sistêmica particularmente em resposta à hemorragia, na manutenção dos níveis de glicose no sangue estimulando a glicogenólise hepática e na estimulação da liberação de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) durante o estresse (BAEYENS; CORNETT, 2006). Estudos envolvendo rins de aves demonstraram efeito antidiurético da AVT através de um mecanismo tubular e os níveis de AVT aumentaram em situações de privação hídrica, porém um efeito direto da AVT no DC não foi investigado nos rins aviários (NISHIMURA et al., 1996). O equilíbrio dos efeitos vasculares e tubulares da AVT pode depender da dose do hormônio, do estado fisiológico do animal e das espécies (GOLDSTEIN, 2006).

Sabe-se que a OT em mamíferos estimula a contração do músculo liso uterino e dos ductos mamários durante a amamentação. Tanto a OT quanto a AVP possuem efeitos centrais nos comportamentos sexuais, maternos e sociais, bem como na memória e no aprendizado (BAEYENS; CORNETT, 2006). AVT possui tanto ações vasopressinérgicas quanto mesotocinérgicas, estando envolvida inclusive na oviposição. Esta ação ocitocítica secundária sugere que ao menos em aves, a MT pode ainda ter funções ainda não esclarecidas (BARTH, 2003).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Apreciação Bioética da Experimentação Animal

A metodologia deste projeto foi submetida à análise (sob nº 20538/2017-10) da Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CEUA-ICBS/UFRRJ), sendo adaptada às recomendações da mesma, encontrando-se em consonância com a legislação vigente. Foram utilizados codornas da espécie *Coturnix coturnix japonica*, machos jovens (aproximadamente 50 dias de vida), provenientes de criatório comercial localizado no município de Seropédica - RJ, mantidos em caixas individuais, em ambiente com temperatura controlada de $26\pm 2^{\circ}\text{C}$, sob ciclo claro-escuro de 12/12 horas, com livre acesso à água e ração.

3.2 Grupos Experimentais

Após identificação, animais foram selecionados em três grupos experimentais distintos (n=6):

Grupo Controle (CTRL): animais com livre acesso à ração e água durante todo o experimento.

Grupo Privado Hidricamente (PvH): animais com livre acesso à ração, com restrição ao acesso à água durante o período de 36 horas.

Grupo Privado Hidricamente com Reapresentação de água (IH-2h): animais com livre acesso à ração, com restrição ao acesso à água durante o período de 36 horas e posterior reapresentação à água durante 2 horas.

3.3 Protocolos Experimentais

3.3.1 Gaiola Metabólica

Os animais foram distribuídos em gaiolas metabólicas individuais (**Figura 8**), por um período de ambientação de três dias, onde dados basais de ingestão de água e ração, assim como o ganho de peso diário foram coletados. No dia precedente ao início da fase de privação, o comportamento basal de ingestão hídrica em 2 horas de todos os animais foi aferido, nos intervalos de tempo de 15 minutos, 30 minutos, 60 minutos, 90 minutos e 120 minutos.

Após ambientação, os animais foram submetidos ao protocolo de privação hídrica de 36 horas, exceto Grupo CTRL. Após privação, o Grupo IH-2 foi reapresentado a bebedouros com água e após 2 horas, foi aferido o volume ingerido de água pelas aves nos intervalos de tempo de 15 minutos, 30 minutos, 60 minutos, 90 minutos e 120 minutos, como demonstrado na linha do tempo representada na **Figura 9**.

Findado tempo máximo de privação e reapresentação de água do Grupo IH-2, todos os animais foram eutanasiados por decaptação para coleta de material biológico (sangue, rins, intestino grosso, cérebro e hipófise).



Figura 9. Gaiola metabólica adaptada para o experimento com codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*).

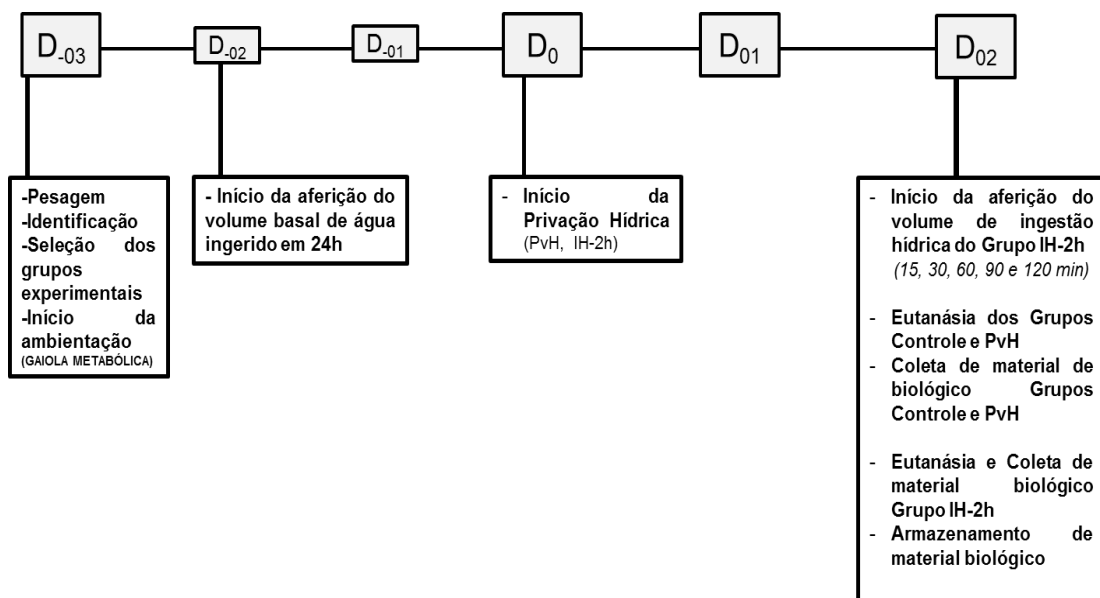


Figura 10. Linha do tempo do experimento realizado em gaiola metabólica

3.3.2 Análise das Amostras de Sangue Coletadas

Sódio e Potássio

A análise de sódio e potássio foi realizada através de fotometria de chama com o fotômetro de chama (modelo MICRONAL b262), utilizando plasma diluído na proporção de 1:100. A fotometria de chama consiste numa técnica de espectroscopia atômica, onde a amostra a ser analisada é aquecida por uma chama, e ao receber esta energia, os elementos ali presentes se excitam, liberando energia, que será lida pelo aparelho de acordo com o comprimento de onda. Quando as amostras são ricas em potássio, o aparelho emite uma cor azulada, e quando ricas em sódio, a chama se torna amarelada.

Hematócrito

Após eutanásia, o sangue total foi coletado em tubos de microhematócrito e centrifugado durante cinco minutos. Posteriormente, foi utilizada uma escala de microhematócrito para determinação da porcentagem dos elementos figurados do sangue.

Dosagem Hormonal de AVT e MT

Todas as dosagens hormonais foram realizadas através de radioimunoensaios para os hormônios homólogos a AVT e MT, seguindo as técnicas descritas por Robertson et al. (1973) para arginina vasopressina (AVP) e Gutkowska et al. (1984) para ocitocina (OT).

3.4 Análise Estatística

As análises foram realizadas utilizando o software *GraphPad Prism 6* (*GraphPad Software, San Diego, CA, USA*). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de uma ou duas vias, empregando-se o teste de *Tukey* como *post hoc*. Todos os dados estão expressos como a média \pm o erro padrão da média (EPM). Para todas as análises são adotados valores de p bicaudais, assumindo-se significância estatística quando $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

Todos os dados abaixo relacionados estão descritos como média \pm erro padrão da média (EPM). Foram considerados significativos os valores de p menores que 0,05.

4.1 Ingestão de água, ração e ganho de peso corporal

Os resultados apresentados na **Figura 11** são referentes ao comportamento basal de água ingerida (mL/100g) do grupo CTRL (20,33 \pm 4,30, n=6), grupo PvH (23,5 \pm 3,61, n=6) e grupo IH-2h (24,17 \pm 2,55, n=6). Nenhum dos grupos demonstrou diferenças estatisticamente significativas entre si.

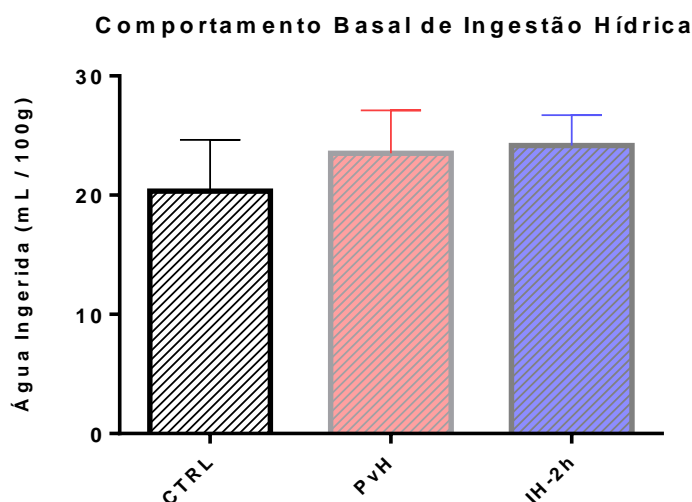


Figura 11. Ingestão basal de água por grupos experimentais.

Na **Figura 12**, estão representados os resultados referentes ao comportamento basal de ração ingerida (g/100g) do grupo CTRL (14,67 \pm 2,01, n=6), grupo PvH (17,33 \pm 1,20, n=6, e grupo IH-2h (15,17 \pm 3,42, n=6). Nenhum grupo demonstrou diferenças estatisticamente significativas entre si.

Os resultados que se referem ao comportamento de ingestão de ração (g/100g) do grupo após período de privação hídrica estão na **Figura 13**. Os valores para média \pm EPM da ingestão em 24 horas após privação: grupo CTRL (18,5 \pm 2,43, n=6), grupo PvH (15,67 \pm 1,89, n=6) e grupo IH-2h (13,33 \pm 1,98, n=6); e 36 horas: CTRL (9,5 \pm 0,76, n=6), grupo PvH (8,5 \pm 0,67, n=6) e grupo IH-2h (8,0 \pm 1,71, n=6). Nenhum grupo demonstrou diferenças estatisticamente significativas entre si. Na **Figura 14**, estão representados os dados comparativos entre a ingestão basal de ração e após período de privação de 24 horas. Não houve diferenças estatísticas significativas entre os grupos nos períodos avaliados.

Os resultados referentes ao comportamento de ingestão hídrica basal (mL/100g) no período de duas horas dos grupos experimentais estão representados na **Figura 15**. Os valores para média \pm EPM da ingestão em 15 minutos: grupo CTRL (0,39 \pm 0,18, n=6), grupo PvH (0,39 \pm 0,20, n=6) e grupo IH-2h (0,10 \pm 0,10, n=6); em 30 minutos: CTRL (0,39 \pm 0,18, n=6), grupo PvH (0,39 \pm 0,20, n=6) e grupo IH-2h (0,35 \pm 0,16, n=6); em 60 minutos: CTRL

($0,66 \pm 0,25$, $n=6$), grupo PvH ($1,40 \pm 0,48$, $n=6$) e grupo IH-2h ($1,15 \pm 0,41$, $n=6$) e em 120 minutos: CTRL ($0,79 \pm 0,29$, $n=6$), grupo PvH ($3,56 \pm 1,36$, $n=6$) e grupo IH-2h ($2,63 \pm 1,03$, $n=6$). O grupo PvH demonstrou diferença estatisticamente significativa quando comparado ao grupo CTRL na ingestão de água no tempo de 120 minutos (PvH $3,56 \pm 1,36$ vs CTRL $0,79 \pm 0,29$; $p = 0,002$).

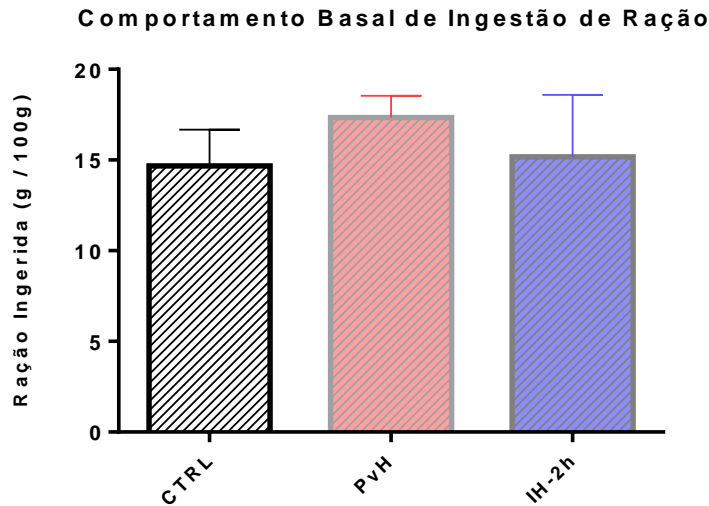


Figura 12. Ingestão basal de ração por grupos experimentais.

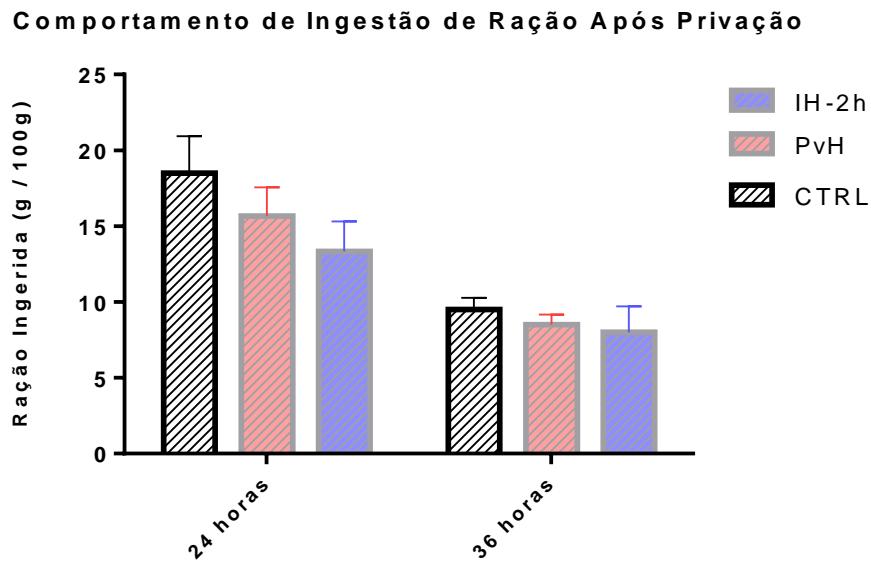


Figura 13. Ingestão de ração nos períodos de 24 horas e 36 horas após a após privação hídrica.

Ingestão de Ração (Antes vs Após Privação 24h)

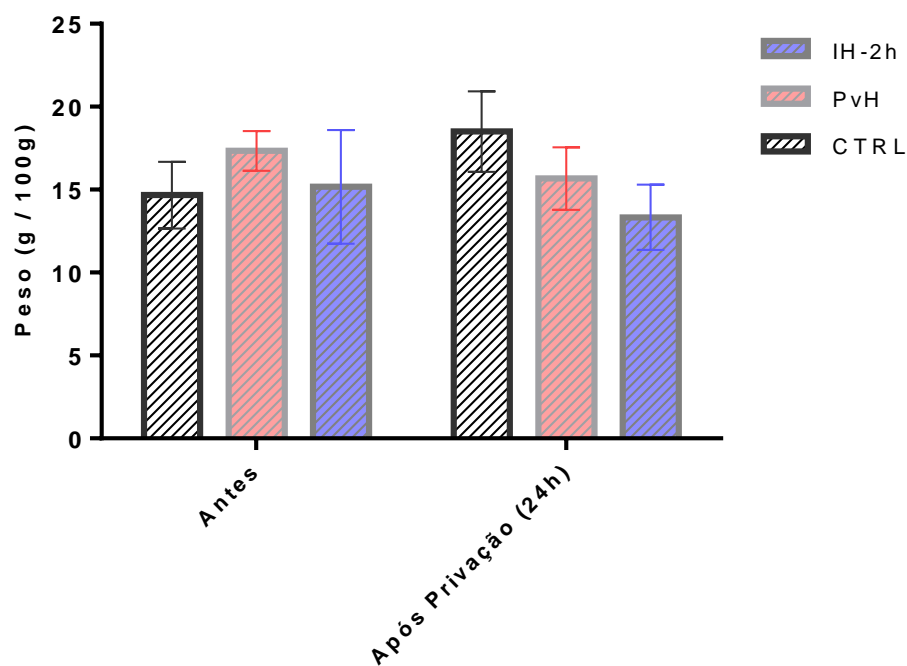


Figura 14. Ingestão de ração basal comparado à ingestão no período de 24 horas após privação hídrica.

Comportamento de Ingestão Hídrica (2h)

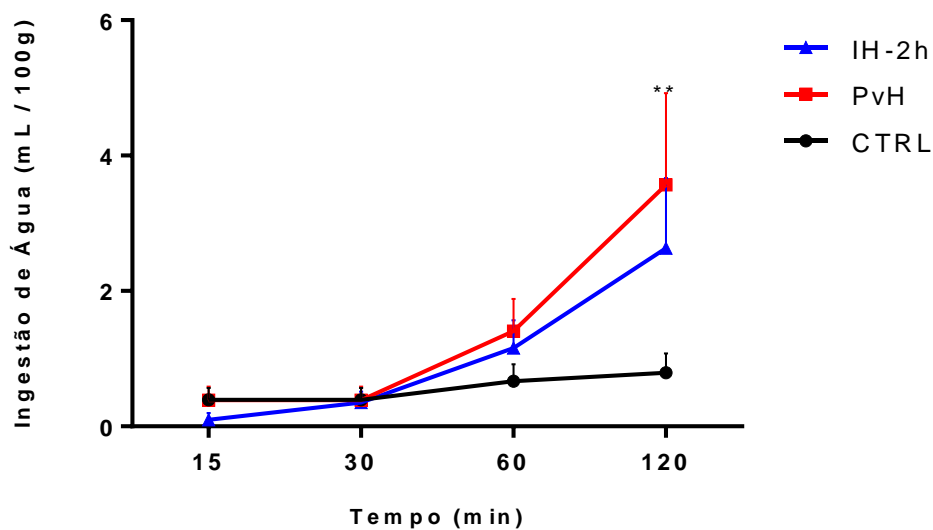


Figura 15. Ingestão basal hídrica em duas horas pelos grupos experimentais. ** p < 0,005 quando em comparação ao grupo CTRL.

Os resultados referentes ao comportamento de ingestão hídrica (mL/100g) do grupo que após a privação foi reapresentado durante duas horas a bebedouros com água (Grupo IH-2h) estão representados na **Figura 16**. Os valores para média \pm EPM seguem abaixo:

15 minutos: Grupo CTRL (0,39 \pm 0,18, n=6); grupo IH-2h antes da privação (0,10 \pm 0,10, n=6); e grupo IH-2h após privação (6,92 \pm 0,75, n=6);

30 minutos: Grupo CTRL (0,39 \pm 0,18 n=6); grupo IH-2h antes da privação (0,35 \pm 0,16, n=6); e grupo IH-2h após privação (7,41 \pm 0,73, n=6);

60 minutos: Grupo CTRL (0,66 \pm 0,25, n=6); grupo IH-2h antes da privação (1,15 \pm 0,41, n=6); e grupo IH-2h após privação (9,47 \pm 0,99, n=6);

120 minutos: Grupo CTRL (0,79 \pm 0,29, n=6); grupo IH-2h antes da privação (2,63 \pm 1,03, n=6); e grupo IH-2h após privação (12,25 \pm 1,28, n=6).

Foram demonstradas diferenças estatisticamente significativas para todos os intervalos de tempo do protocolo experimental do grupo IH-2h após privação, quando comparados ao grupo CTRL e ao grupo IH-2 antes da privação (IH-2h após privação vs CTRL, $p < 0,0001$; IH-2h após privação vs IH-2h antes da privação, $p < 0,0001$).

Os resultados apresentados na **Figura 17** são referentes ao ganho de peso dos animais durante o experimento do grupo CTRL (Dia 1, 134,33 \pm 8,04, n=6; Dia 2, 133,50 \pm 7,26, n=6; Dia 3, 134,17 \pm 6,87, n=6; Dia 4, 136,17 \pm 7,49, n=6; Dia 5, 136,33 \pm 7,43, n=6), grupo PvH (Dia 1, 142,33 \pm 11,22, n=6; Dia 2, 144,00 \pm 11,90, n=6; Dia 3, 147,00 \pm 12,09, n=6; Dia 4, 142,00 \pm 13,84, n=6; Dia 5, 136,17 \pm 13,72, n=6) e grupo IH-2h (Dia 1, 131,17 \pm 10,67, n=6; Dia 2, 128,17 \pm 8,32, n=6; Dia 3, 131,00 \pm 8,23, n=6; Dia 4, 122,67 \pm 9,23, n=6; Dia 5, 120,17 \pm 9,24, n=6). Nenhum dos grupos demonstrou diferença estatisticamente significativa entre si.

Comportamento de Ingestão Hídrica (Grupo IH-2h) Antes e Após a Privação

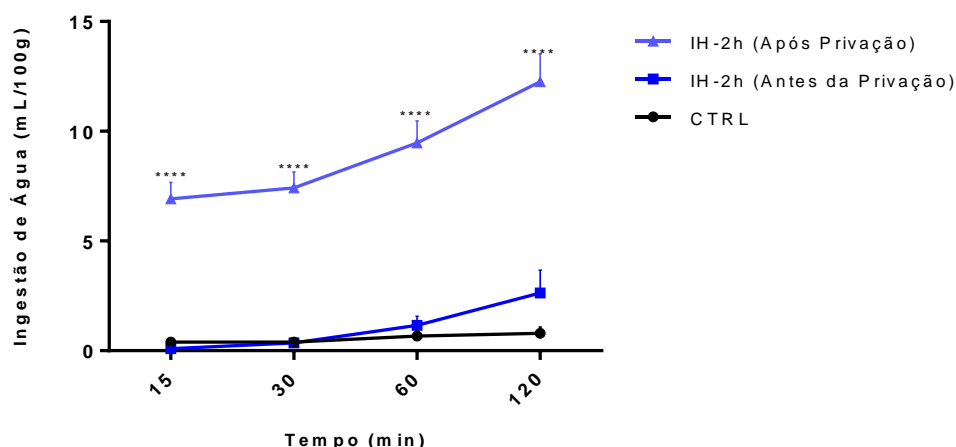


Figura 16. Ingestão hídrica em duas horas pelos grupos experimentais CTRL e IH-2h (Antes e após privação hídrica). **** $p < 0,0001$ quando IH-2h (Após Privação) é comparado a grupo CTRL e IH-2h (Antes da Privação).

Os valores para peso total de antes e após privação estão descritos na **Figura 18**. Os valores para a média \pm EPM antes da privação foram: grupo CTRL (134,17 \pm 6,86, n=6); grupo PvH (147,00 \pm 12,09, n=6); e grupo IH-2h (131,00 \pm 8,23, n=6), e após privação: grupo CTRL (136,33 \pm 7,43, n=6); grupo PvH (136,17 \pm 13,72, n=6); e grupo IH-2h (120,17 \pm 9,24, n=6). Nenhum dos grupos demonstrou diferenças estatisticamente significativas entre si.

Na **Figura 19**, está representada graficamente a diferença da variação de peso (Δ - Peso Corporal) dos animais antes e após a privação hídrica, expressos em porcentagem. Para antes da privação, os valores para a média \pm EPM obtidos foram: grupo CTRL (0,12 \pm 1,15, n=6); grupo PvH (3,14 \pm 1,43, n=6); e grupo IH-2h (0,51 \pm 1,61, n=6), e após privação: grupo CTRL (1,54 \pm 0,68, n=6); grupo PvH (-8,08 \pm 1,93, n=6); e grupo IH-2h (-8,60 \pm 1,23, n=6). Foi demonstrada diferença estatisticamente significativa dos grupos PvH e IH-2h, quando comparados ao grupo CTRL após a privação (PvH após privação vs CTRL, $p < 0,0001$ e IH-2h após privação vs CTRL, $p < 0,0001$).

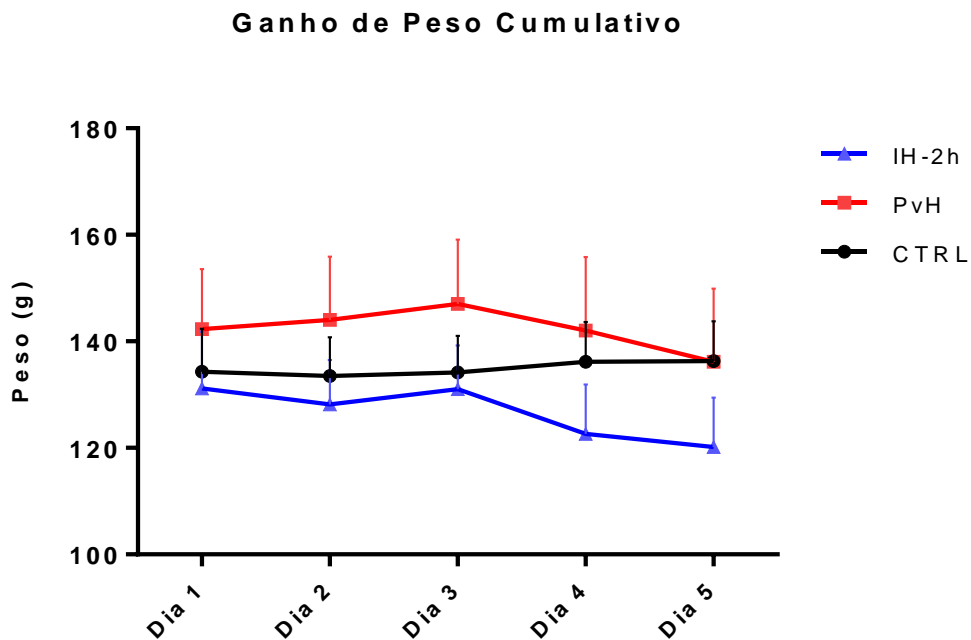


Figura 17. Ganho de peso cumulativo dos animais durante o experimento.

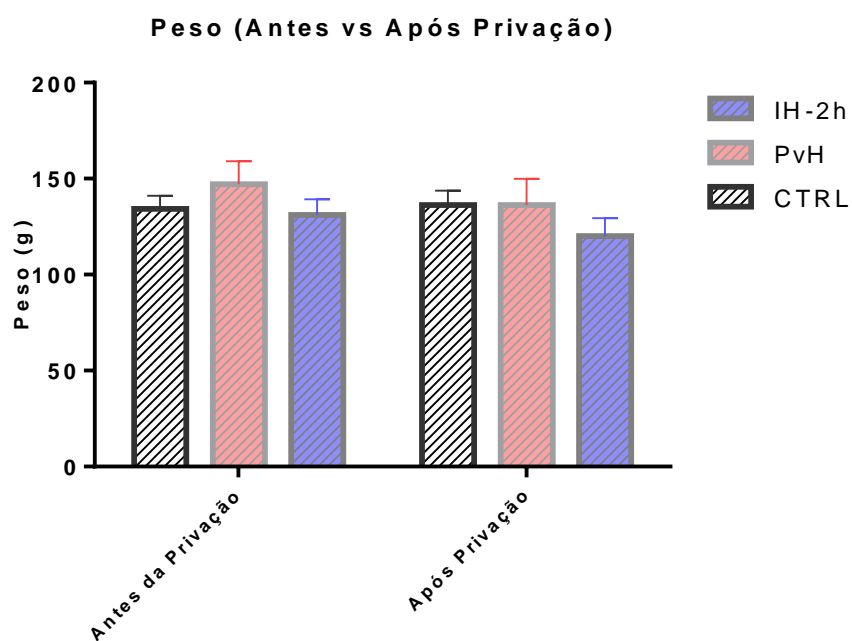


Figura 18. Peso total de antes e após privação hídrica dos animais.

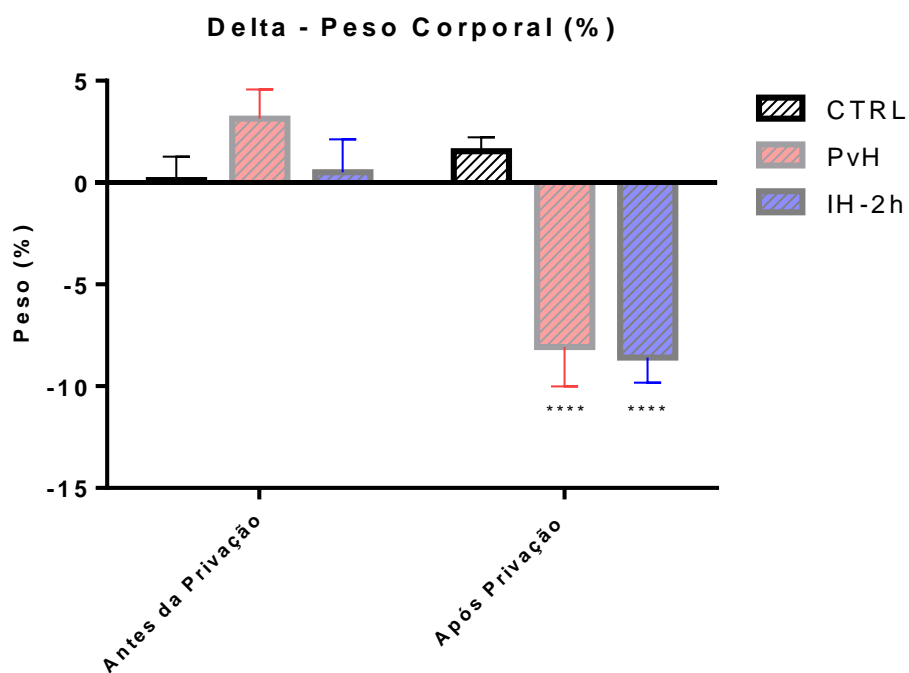


Figura 19. Variação de peso (Δ - Peso Corporal) dos animais antes e após a privação hídrica. **** $p < 0,0001$ quando comparado a grupo CTRL.

4.2 Parâmetros de Sódio, Potássio e Hematócrito

Os resultados que se referem ao sódio plasmático (mEq/L) dos grupos após período de privação hídrica estão representados na **Figura 20**. Os valores para média \pm EPM foram: grupo CTRL ($153,00 \pm 8,25$, n=6), grupo PvH ($165,17 \pm 2,52$, n=6) e grupo IH-2h ($144,00 \pm 18,34$, n=5). Nenhum grupo demonstrou diferenças estatisticamente significativas entre si.

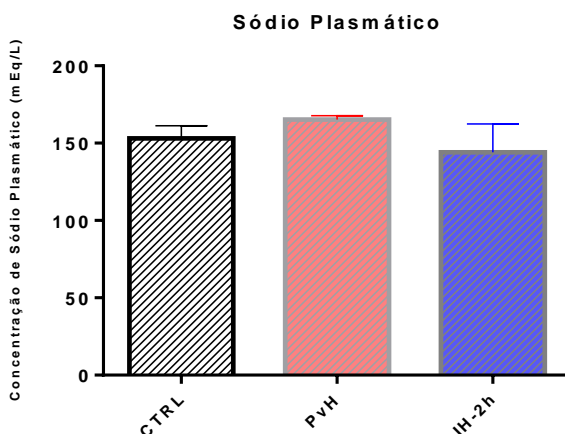


Figura 20. Sódio plasmático dos grupos após período de privação hídrica.

Os resultados que se referem ao potássio plasmático (mEq/L) dos grupos após período de privação hídrica estão representados na **Figura 21**. Os valores para média \pm EPM foram: grupo CTRL ($9,83 \pm 1,35$, n=6), grupo PvH ($7,67 \pm 0,71$, n=6) e grupo IH-2h ($11,8 \pm 3,09$, n=5). Nenhum grupo demonstrou diferenças estatisticamente significativas entre si.

Os valores obtidos para hematócrito estão representados na **Figura 22**. Os valores para a média \pm EPM antes da privação foram: grupo CTRL ($50,40 \pm 0,93$, n=5), grupo PvH ($49,50 \pm 1,18$, n=6) e grupo IH-2h ($42,80 \pm 4,98$, n=5). Nenhum grupo demonstrou diferenças estatisticamente significativas entre si.

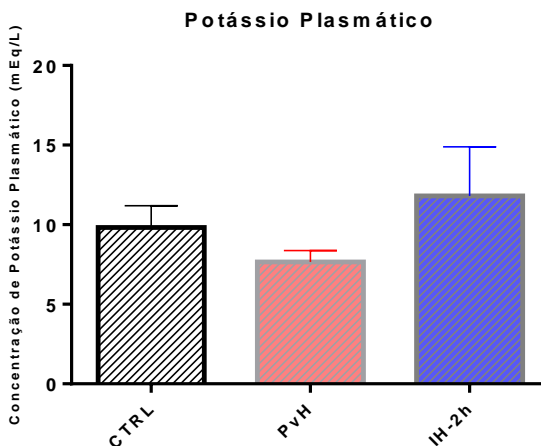


Figura 21. Potássio plasmático dos grupos após período de privação hídrica.

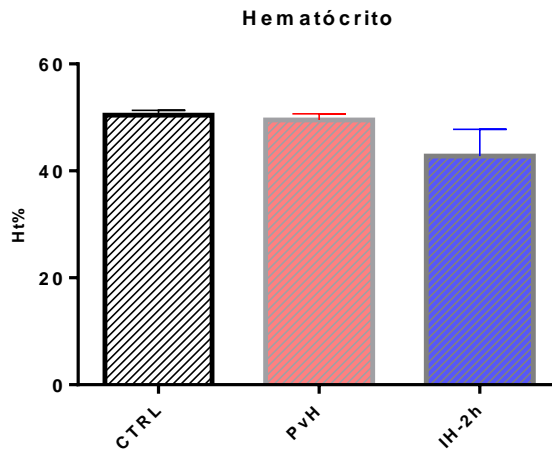


Figura 22. Hematócrito dos grupos após período de privação hídrica.

4.3 AVT e MT (Radioimunoensaio)

Os resultados apresentados na **Figura 23** são referentes ao valor de AVT plasmática (pg / mL) após privação hídrica do grupo CTRL ($0,85 \pm 0,23$, n=6), grupo PvH ($0,92 \pm 0,25$, n=6) e grupo IH-2h ($0,71 \pm 0,21$, n=6). Nenhum dos grupos demonstrou diferenças estatisticamente significativas entre si.

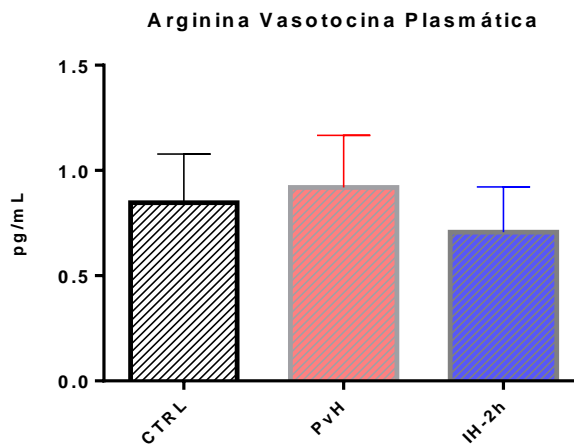


Figura 23. AVT plasmática dos grupos após período de privação hídrica.

Os resultados apresentados na **Figura 24** são referentes ao valor de MT plasmática (pg/ mL) após privação hídrica do grupo CTRL ($0,99 \pm 0,29$, n=6), grupo PvH ($0,38 \pm 0,13$, n=6) e grupo IH-2h ($0,47 \pm 0,26$, n=5). Nenhum dos grupos demonstrou diferenças estatisticamente significativas entre si.

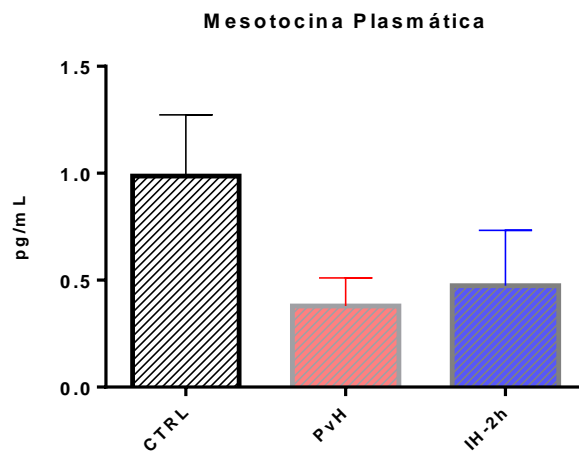


Figura 24. MT plasmática dos grupos após período de privação hídrica.

5 DISCUSSÃO

Estudos envolvendo o comportamento de ingestão hídrica demonstram que assim como nos mamíferos, a ingestão de água pode ser induzida por diferentes mecanismos fisiológicos, dentre eles a desidratação. A desidratação parece ser importante e relevante fator indutor do aumento de consumo de líquidos, tornando a metodologia experimental de privação hídrica uma ferramenta eficaz em estudos comportamentais, visto que se aproxima do que relativamente ocorre naturalmente, quando o desequilíbrio dos fluidos corporais está evidente, produzindo sede e revelando mudanças fisiológicas que podem agir para estimular o consumo de água em situações normais.

Foi demonstrado que o consumo de água pode ser induzido em pombos e em codornas em balanço hídrico normal como resultado de qualquer um dos seguintes: injeções periféricas ou centrais de soluções hipertônicas de solutos incapazes de penetrar na membrana celular (HAWKINS; CORBIT, 1973; THORNTON, 1986); hemorragia ou injeção periférica de solução colóide hiperoncótica (KAUFMAN *et al.*, 1980; KOBAYASHI; TAKEI, 1982); injeções periféricas ou centrais de angiotensina II (TAKEI *et al.* 1977; EVERED; FITZSIMONS, 1981) e através da privação hídrica (TAKEI *et al.* 1988).

No presente estudo, foram demonstradas diferenças estatisticamente significativas em relação a todos os intervalos de tempo avaliados após privação hídrica de 36 horas e posterior reapresentação de água para o grupo experimental IH-2h, quando comparado ao comportamento basal de ingestão do grupo controle e ao mesmo grupo IH-2h, porém anteriormente à privação (IH-2h após privação vs CTRL, $p < 0,0001$; IH-2h após privação vs IH-2h antes da privação, $p < 0,0001$).

Takei *et al.* (1988), após submeter codornas japonesas à privação hídrica por 48 horas, observou que a quantidade de água ingerida pelas aves foi dependente da duração do período de privação, e a quantidade ingerida de água após privação foi significativamente maior do que a quantidade consumida pelas aves em balanço hídrico normal. Ainda, o comportamento de ingestão ocorreu imediatamente após as aves privadas terem acesso à água novamente, corroborando com as observações obtidas neste estudo. Takei e seus colaboradores observaram também que após reapresentação de água, a ingestão da mesma pelos indivíduos dos grupos amostrais que não foram submetidos à privação cessou em aproximadamente uma hora, o oposto que ocorrera em nossos estudos, onde o comportamento basal de ingestão hídrica se fez presente nos grupos experimentais durante as duas horas observadas. No entanto, a ingestão continuou no grupo submetido à privação por mais tempo (48 horas), assim como observado no grupo experimental IH-2h após 36 horas de privação.

Ainda que os resultados deste estudo não tenham demonstrado diferença estatística que comprovasse que a ingestão de ração tivesse sido reduzida após privação hídrica, como observado nas **Figuras 12 e 13**, Denbow e Cline (2015) afirmam que o controle neuroquímico da ingestão de alimentos é realizado de forma complexa no sistema nervoso central (SNC). Dentro do SNC, muitos neurotransmissores demonstraram agir alterando os padrões de ingestão de alimentos, e isto acontece, de maneira geral, de forma semelhante entre mamíferos e algumas espécies de aves. Um mecanismo conhecido e presente nas aves é o que envolve o eixo hipotalâmico hipofisário adrenal (HHA), onde o hormônio liberador de corticotropina (CRF) age centralmente diminuindo a ingestão de alimentos, como em estudos com frangos de corte da raça Leghorns (FURUSE *et al.*, 1997). A injeção de homólogo do CRF também teve ação semelhante, reduzindo a ingestão de comida e água em pintinhos e frangos de corte da raça

White Leghorn. Esse efeito anorexigênico foi mediado via receptores de CRF. Além do CRF, a arginina vasotocina (AVT), também compõe o eixo HHA (KUENZEL; JURKEVICH, 2010). A administração central de CRH ou AVT aumenta a secreção plasmática de corticosterona (CORT) em aves (MADISON *et al.*, 2008). Em aves, vários estudos mostraram que os neurônios magnocelulares da AVT estão envolvidos no estresse osmótico. Os neurônios vasotocinérgicos do NSO e PVN mostraram um aumento significativo (CHATURVEDI *et al.*, 1994) e regulação positiva da expressão do gene da AVT (JACCOBY *et al.*, 1997) após estresse por desidratação ou estresse hiperosmótico.

Chaturvedi *et al.* (2000), em seus estudos, observou que o peso corporal de codornas japonesas machos submetidas à 96 horas de privação hídrica reduziu estatisticamente $21,6 \pm 0,4\%$, quando comparado ao peso corporal inicial, corroborando com os dados obtidos neste estudo, onde variação de peso (Δ - Peso Corporal) dos animais após a privação hídrica (**Figura 18**) foi de $-8,08 \pm 1,93\%$ e $-8,60 \pm 1,23\%$, nos grupos PvH e IH-2h, respectivamente. Concomitantemente a redução de peso corporal, Chaturvedi e seus colaboradores também constataram em seus estudos que tanto a osmolaridade plasmática, quanto as concentrações de AVT e MT, mostraram-se aumentados, demonstrando uma relação entre esses dois parâmetros plasmáticos. Sabe-se que em mamíferos, o aumento da osmolaridade é capaz de inibir a ingestão de alimentos (SCHWARTZBAUM. & WARD, 1958), assim como estimular a liberação de AVT e MT para corrente sanguínea.

Os resultados obtidos para AVT e MT não obtiveram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos. Se comparado a estudos prévios, onde a metodologia utilizada para quantificação plasmática para esses hormônios se deu através da utilização de antígenos sintéticos específicos para os mesmos (GRAY; SIMON, 1983, GOTO *et al.*, 1986; KOIKE *et al.*, 1986), não é possível afirmar que a perda de peso dos grupos experimentais desse estudo possa ter sido ocasionada pelo mecanismo previamente descrito acima, pois os resultados obtidos foram inexpressivos.

No entanto, é possível sugerir que o comportamento de ingestão hídrica possa ter sido diretamente relacionado à presença desses hormônios e interação de seus receptores centrais e periféricos, pois o equilíbrio dos efeitos vasculares e tubulares renais da AVT pode depender disso (GOLDSTEIN, 2006), assim como as possíveis interações da MT e seus receptores, uma vez que desempenha papéis semelhantes à AVP regulação da pressão sanguínea e uterina e comportamento. Existem motivos para atribuir um papel osmorregulatório a esse hormônio, pois em galinhas injetadas com MT após o recebimento de uma carga salina, baixas doses do hormônio eram antidiuréticas, enquanto doses mais elevadas eram diuréticas (TAKAHASHI *et al.*, 1995). Esse efeito bifásico pode refletir duas populações distintas de receptores de mesotocina, localizadas no córtex e medula renais (TAKAHASHI *et al.*, 1997).

O hematócrito normal das aves varia de 35 a 55%. Valores superiores a 55% sugerem desidratação ou policitemia (BOUNOUS, STEDMAN, 2000). Não houve diferenças estatisticamente significativas nos resultados referentes à hematócrito em nenhum grupo experimental. Takei *et al.* (1988) afirma que as alterações no hematócrito de aves privadas por 48 horas está altamente correlacionada com a alteração no volume sanguíneo, podendo assim ser usado como um parâmetro em casos onde há alteração no volume sanguíneo.

Tanto sódio quanto potássio plasmáticos também não apresentaram diferenças estatísticas significativas neste trabalho, embora a osmolaridade plasmática aumente linearmente a partir de 10 horas e a concentração de sódio no plasma mude paralelamente à osmolaridade plasmática após a privação de água em codornas. Quando as aves privadas de

água por 48 horas puderam ter acesso à água, a concentração plasmática de sódio diminuiu rapidamente em direção ao nível medido antes da privação de água (TAKEI et al., 1988).

As concentrações plasmáticas de sódio nas aves variam entre 130 a 170 mEq/L e de potássio de 2,5 a 6 mEq/L (ROSS et al., 1978; LEWANDOSWIKI et al., 1986; CAMPBELL, 2004). As concentrações de potássio para os grupos grupo CTRL ($9,83 \pm 3,31$ mEq/L), grupo PvH ($7,67 \pm 1,75$ mEq/L) e grupo IH-2h ($11,8 \pm 6,90$ mEq/L) foram maiores do que os valores de referencia, sugerindo que talvez as amostras possam ter sofrido processo de hemólise, pois já é sabido que a concentração desse íon no interior da célula é mais abundante do que no meio externo. Com relação ao sódio plasmáticos dos grupos CTRL ($153,00 \pm 20,22$ mEq/L), grupo PvH ($165,17 \pm 6,18$ mEq/L) e grupo IH-2h ($144,00 \pm 41,00$ mEq/L), as concentrações estiveram abaixo dos valores de referência.

O modelo experimental com codornas japonesas submetidas à privação hídrica foi capaz de demonstrar resultados positivos com relação ao comportamento ingestivo de água e suas possíveis influências no ganho de peso corporal da espécie, bem como ingestão de alimento quando submetidas a longos períodos sem acesso à água. Embora os resultados dos parâmetros plasmáticos avaliados neste estudo não permita que se afirme que mecanismos de controle neuroendócrino vasotocinérgico e mesotocinérgico estejam envolvidos na privação hídrica, a literatura preexistente permite sugerir que a ação dos hormônios AVT e MT tem importância ímpar no controle de líquidos corporais. Estudos posteriores são necessários, para que se possa elucidar o papel desses e outros hormônios envolvidos da osmorregulação de codornas japonesas.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMAN, N.A.; NAGARAJAN, G.; KANG, S.W.; HANCOCK, M.; KUENZEL, W.J. **Differential responses of the vasotocin 1a receptor(V1aR) and osmoreceptors to immobilization and osmotic stress in sensory circumventricular organs of the chicken (*Gallus gallus*) brain.** Brain Research. v. 1649. p. 67-78. 2016.
- BAEYENS, D.A; CORNETT, L.E. **The cloned avian neurohypophysial hormone receptors.** Comparative Biochemistry and Physiology. v.143. p.12-19. 2006.
- BARTH, S.W.; BATHGATE, R.A.D.; MESS, A.; PARRY, L.J.; IVELL,R.; GROSSMANN, R. **Mesotocin Gene Expression in the Diencephalon of Domestic Fowl: cloning and sequencing of the MT cDNA and distribution of MT gene expressing neurons in the chicken hypothalamus.** Journal of Neuroendocrinology. v. 9. p. 777-787. 1997.
- BONS, N. **The Topography of Mesotocin and Vasotocin Systems in the Brain of the Domestic Mallard and Japanese Quail: Immunocytochemical Identification.** Cell Tiss. Res. v. 213, p. 35-51. 1980.
- BOUNOUS, D. I.; STEDMAN, N.L. **Normal Avian Hematology: Chicken and Turkey.** In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. Schalm's Veterinary Hematology. Philadelphia, Lippincot, Williams & Wilkins. e.5. p.1147-1154. 2000.
- BRAUN, E.J. **Osmoregulatory Systems of Birds.** In: Sturkie's Avian Physiology. (Ed. C.G. Scanes). Academic Press. e. 6. p. 285-300. 2015.
- BRAUN, E.J.; DANTZLER, W.H. **Function of mammalian-type and reptilian type nephrons in kidney of desert quail.** Am. J. Physiol. v. 222. p.617-629. 1972.
- BRUN, S.R.M.; LUZ, V.; FERNANDEZ, M.F.; PASCHOALINI, M.A.; MARINO-NETO, J. **Atypical angiotensin receptors may mediate water intake induced by central injections of angiotensin II and of serotonin in pigeons.** Regul Pept. v.98. p.127-135. 2001.
- CAMPANELLA, L.C.A.; SILVA, A.A.S.; GELLERT, D.S.; PARREIRA. C.; RAMOSA, M.C.; PASCHOALINI, M.A.; MARINO-NETO, J. **Tonic serotonergic control of ingestive behaviours in the pigeon (*Columba livia*): The role of the arcopallium.** Behavioural Brain Research. v. 205. p. 396-405. 2009.
- CAMPBELL, T.W. **Clinical Chemistry of Birds.** In: THRALL, M.A. Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. Philadelphia, Lippincott, Williams & Wilkins. p. 479-492. 2004.
- CHATURVEDI, C. M.; NEWTON, B. W.; CORNETT, L. E.; KOIKE, T. I. **An in situ hybridization and immunochemical study of vasotocin neurons in the hypothalamus of water-deprived chickens.** Peptides. v.15. p.1179-1187. 1994.
- CHATURVEDI, C.M.; CHOWDHURY, A.; CORNET, L.E. **Water deprivation and circadian changes in plasma arginine vasotocin and mesotocin in the domestic hen (*Gallus domesticus*).** Chronobiol. Int. v. 18, p. 947-956. 2001.
- DENBOW, D. M.; CLINE, M. A. **Food intake regulation.** . In: Sturkie's Avian Physiology. (Ed. C.G. Scanes). Academic Press. e. 6. p. 469-485. 2015.
- FURUSE, M.; MATSUMOTO, M.; SAITO, N.; SUGAHARA, K.; HASEGAWA, S. **The central corticotrophin-releasing factor and glucagon-like peptide-1 in food intake of the neonatal chick.** Eur. J. Pharmacol. v.339. p. 211-213. 1997

- GOLDSTEIN, D. L.; SKADHAUGE, E. **Renal and extrarenal regulation of body fluid composition.** In *Sturkie's Avian Physiology* (Ed. G. C. Whittow). Academic Press. e. 5. p. 285-300. 2000.
- GOLDSTEIN, D.V. **Regulation of the avian kidney by arginine vasotocin.** *General and Comparative Endocrinology.* v. 147. p. 78–84. 2006.
- GOTO, K.; KOIKE, T. I.; NELDON, H. L.; MCKAY, D. W. **Peripheral angiotensin II stimulates release of vasotocin in conscious chickens.** *Am. J. Physiol.* v.251, p. 333–340. 1986.
- GRAY, D. A.; SIMON, E. **Mammalian and avian antidiuretic hormone, studies related to possible species variation in osmoregulatory system.** *J. Comp. Physiol. B.* v.151. p. 241-246. 1983.
- GUTKOWSKA J, THIBAUT G, JANUSZEWICZ P, CANTIN M, GENEST J. **Direct radioimmunoassay of atrial natriuretic factor.** *Biochem Biophys Res Commun.* v. 122 p. 593-601. 1984;
- HAWKINS R.; CORBIT, J.D. **Drinking in response to cellular dehydration in the pigeon.** *J Comp Physiol Psychol.* v.84. p. 265-267. 1973.
- HUSS, D.; POYNTER, G.; LANSFORD, R. **Japanese quail (*Coturnix japonica*) as a laboratory animal model.** *Lab Animal.* v. 37. p. 513-519. 2008.
- HUSS, D.; POYNTER, G.; LANSFORD, R. **Japanese quail (*Coturnix japonica*) as a laboratory animal model.** *Lab Animal.* v.37. p. 513-519. 2008.
- JACCOBY, S.; SINGH, A. B.; CORNETT, L. E.; KOIKE, T. I. **Arginine vasotocin gene expression and secretion during osmotic stimulation and hemorrhagic hypotension in hens.** *Gen. Comp. Endocrinol.* v.106. p. 327-337. 1997.
- JARVIS, E.D.; GUNTURKUN, O.; BRUCE, L.; CSILLAG, A.; KARTEN, H.; KUENZEL, W.; MEDINA, L.; PAXINOS, G.; PERKEL, D.J.; SHIMIZU, T.; STRIEDTER, G.; WILD, J.M.; BALL, G.F.; DUGAS-FORD, J.; DURAND, S.E.; HOUGH, G.E.; HUSBAND, S.; KUBIKOVA, L.; LEE, D.W.; MELLO, C.V.; POWERS, A.; SIANG, C.; SMULDERS, T.V.; WADA, K.; WHITE, S.A.; YAMAMOTO, K.; YU, J.; REINER, A.; BUTLER, A.B. **Avian brains and a new understanding of vertebrate brain evolution.** *Nat. Rev. Neurosci.* v.6. p. 151–159. 2005.
- KAUFMAN S.; KAESERMANN, H.P; PETERS, G. **The mechanism of drinking induced by parenteral hyperosmotic solutions in the pigeon and in the rat.** *J Physiol (Lond).* v.301. p. 91-99. 1980.
- KAUR, C; LING, E. **The Circumventricular organs.** *Histol Histopathol.* v. 11881. 2017.
- KOBAYASHI, H.; TAKEI, Y. **Mechanisms for induction of drinking with special reference to angiotensin II.** *Comp Biochem Physiol.* v. 71a. p. 485-494. 1982.
- KOIKE, T. I.; PRYOR, L. R.; NELDON, H. L.; VENABLE, R. S. **Effect of water deprivation on plasma radioimmunoassayable arginine vasotocin in conscious chickens (*Gallus domesticus*).** *Gen. Comp. Endocrinol.* v.33. p. 359–364. 1977.

- KUENZEL, W.J. **The Avian Subpallium and Autonomic Nervous System.** In: Sturkie's Avian Physiology. (Ed. C.G. Scanes). Academic Press. e. 6. p. 135-163. 2015.
- KUENZEL, W.J.; JURKEVICH, A. **Molecular neuroendocrine events during stress in poultry.** *Poult Sci.* v.89. p. 832-840. 2010.
- KUENZEL, W.J.; TIENHOVEN, A.V. **Nomenclature and Location of Avian Hypothalamic Nuclei and Associated Circumventricular Organs.** *J. Comp. Neurol.* v. 31. p. 206-293. 1982.
- LAVERTY, G.; SKADHAUGE, E. **Physiological Roles and Regulation of Transport Activities in the Avian Lower Intestine.** *J. Exp. Zoology.* v. 494. p. 283-480. 1999.
- LAVERTY, G.; SKADHAUGE, E. **Physiological roles and regulation of transport activities in the avian lower intestine.** *J. Exp. Zool.* v.283. p.480– 494. 1999.
- LEUNG, C.H.; ABEBE, D.F.; EARP, S.E.; GOODE, C.T.; GROZHIK, A.V.; MIDIDODDI, P.; MANEY, D.L. **Neural Distribution of Vasotocin Receptor mRNA in two Species of Songbird.** *Endocrinology.* v. 152. p. 4865–4881. 2011.
- Lewandowski, A.H.; Campbell, T.W.; Harrison, G.J. **Clinical Chemistries.** In: Harrison, G.J.; Harrison, L.R. *Clinical Avian Medicine*, Philadelphia, W. B. Saunders. 717p . 1986.
- MADISON, F.N.; JURKEVICH, A.; KUENZEL, W.J. **Sex differences in plasma corticosterone release in undisturbed chickens (*Gallus gallus*) in response to arginine vasotocin and corticotropin releasing hormone.** *General and Comparative Endocrinology.* v. 155 (3). p. 566-573. 2008.
- MIKAMI, S. **Ultrastructure of the Organum vasculosum of the Lamina terminalis of the Japanese Quail, *Coturnix coturnix japonica*.** *Cell Tiss. Res.* v.172. p. 227-243. 1976.
- NAGARAJAN, G.; TESSARO, B.A.; KANG, S.W.; KUENZEL, W.J. **Identification of arginine vasotocin (AVT) neurons activated by acute and chronic restraint stress in the avian septum and anterior diencephalon.** *General and Comparative Endocrinology.* v. 202. p. 59–68. 2014.
- NISHIMURA, H. **Urine concentration and avian aquaporin water channels.** *Pflugers Arch.* v.456, p.755–768. 2008.
- NISHIMURA, H.; KOSEKI, C.; PATEL, T.B. **Water transport in collecting ducts of Japanese quail.** *Am. J. Physiol.* v. 271. p. 1535 – 1543. 1996.
- PANZICA, G.C.; ASTE, N.; CASTAGNA, C.; VIGLIETTI-PANZICA, C.; BALTHAZART, J. **Steroid-induced plasticity in the sexually dimorphic vasotocinergic innervation of the avian brain: behavioral implications.** *Brain Research Reviews.* v. 37. p. 178–200. 2001
- ROBERTSON GL, MAHR EA, ATHAR S, SINHA T. **Development and clinical application of a new method for the radioimmunoassay of arginine vasopressin in human plasma.** *J Clin Invest.* v.52. p. 2340-2352. 1973;
- ROBINZON, B.; HOIKE, T.I.; NELDON, H.L.; KINZLER, S.L.; HENDRY, I.R.; HALAWANI, M.E.E. **Physiological effects of arginine vasotocin and mesotocin in cockerels.** *British Poultry Science.* v. 29. p. 639-652. 1988.

- ROSS, J.G.; CHRISTIE, W.G.; HALLIDAY, W.G.; MORLEY JONES, R. **Haematological and blood chemistry “comparison values” for clinical pathology in poultry.** *Veterinary Record* v. 102, p. 29-31, 1978.
- SCANES, C.G. **Pituitary Gland.** In: *Sturkie's Avian Physiology.* (Ed. C.G. Scanes). Academic Press. e. 6. p. 497-533. 2015
- SHARMA, D.; CHATURVEDI, C.M. **Testosterone modulates pituitary vasotocin receptor expression and adrenal activity in osmotically stressed chicken.** *Comparative Biochemistry and Physiology.* v.158. p. 87–93. 2011.
- SIMON-OPPERMANN, C; SIMON, E.; GRAY, D.A. **Central and systemic antidiuretic hormone and angiotensin ii in salt and fluid balance of birds as compared to mammals.** *Comp. Biochem. Physiol.* v. 90. p. 789-803. 1988.
- SKADHAUGE, E.; SCHMIDT-NIELSEN, B. **Renal medullary electrolyte and urea gradient in chickens and turkeys.** *Am. J. Physiol.* v.212, p.1313–1318. 1967.
- SOMERO, G.N. **From dogfish to dog: trimethylamines protect proteins from urea.** *NIPS* v. 1, p. 9–12. 1986.
- STALLONE, J.N.; BRAUN, E.J.. **Contributions of glomerular and tubular mechanisms to antidiuresis in conscious domestic fowl.** *Am. J. Physiol.* v. 249, p. 842. 1985
- SUNN, N.; MCKINLEY, M.J.; OLDFIELD, B.J. **Circulating Angiotensin II Activates Neurones in Circumventricular Organs of the Lamina Terminalis That Project to the Bed Nucleus of the Stria Terminalis.** *J. of Neuroendocrinology.* v. 15. p. 725-731. 2003.
- TAKAHASHI, T.; KAWASHIMA, M.; YASUOKA, T. KAMIYOSHI, M.; TANAKA, K.; **Diuretic and antidiuretic effects of mesotocin as compared with the antidiuretic effect of arginine vasotocin in the hen.** *Poult. Sci.* v. 74. p. 890–892. 1995.
- TAKAHASHI, T.; KAWASHIMA, M.; YASUOKA, T. KAMIYOSHI, M.; TANAKA, K.; **Appearance of an arginine vasotocin receptor of large molecular size in the uterus (shell gland) of the hen at oviposition.** *J. Reprod. Fertil.* v. 110 p. 245-248. 1997
- TAKEI, Y.; OKAWARA, Y.; KOBAYASHI, H. **Water intake induced by water deprivation in the quail, *Coturnix coturnix japonica*.** *J Comp Physiol B.* v.158. p. 51-525. 1988.
- TAKEI, Y. **The Role of the Subfornical Organ in Drinking Induced by Angiotensin in the Japanese Quail, *Coturnix coturnix japonica*.** *Cell Tiss. Res.* v. 185, p. 175-181. 1977.
- THORNTON, S.N. **Osmoreceptor localization in the brain of the pigeon (*Columba livia*).** *Brain Res.* v.377. p. 96-104. 1986
- WIDEMAN JR, R.F. **Avian kidney anatomy and physiology.** In: *CRC Critical Reviews in Poultry Biology,* CRC Press, Boca Raton, FL, v. 1. p. 133–176. 1988.