UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

IMUNOLOCALIZAÇÃO DE HORMÔNIOS EM CÉLULAS ENDÓCRINAS DO ESÔFAGO, ESTÔMAGO E DUODENO DO MUÇUÃ *Kinosternon scorpioides* (Kinosternidae).

José Gomes Pereira
Médico Veterinário

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
Maio de 2010

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

IMUNOLOCALIZAÇÃO DE HORMÔNIOS EM CÉLULAS ENDÓCRINAS DO ESÔFAGO, ESTÔMAGO E DUODENO DO MUÇUÃ *Kinosternon scorpioides* (Kinosternidae).

José Gomes Pereira

Orientador: Prof. Dr. Celio Raimundo Machado

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV, Universidade Estadual Paulista - UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária (Patologia Animal).

JABOTICABAL

Maio de 2010

Pereira, José Gomes
P436i Imunolocalização de hormônios em células endócrinas do esôfago, estômago e duodeno do muçuã *Kinosternon scorpioides* (Kinosternidae) / José Gomes Pereira. – – Jaboticabal, 2010
xv, 69 f. : il. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2010
Orientador: Célio Raimundo Machado
Banca examinadora: Ana Lucia Abreu-Silva, Cláudio César Fonseca, Márcia Rita Fernandes Machado, Nadia Delistoianov
Bibliografia

1. Duodeno. 2. Esôfago. 3. Gastrina. 4. Imunohistoquímica. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:616-06:639.15

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

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

JOSÉ GOMES PEREIRA, nascido em São Luís, MA 14/05/1959, graduado em Medicina Veterinária pela Universidade Estadual do Maranhão em 1990. Professor Substituto (1992/1996) no Curso de Medicina Veterinária em São Luís, MA. Prestou Concurso Público em 1996 para o Curso de Medicina Veterinária do Centro de Ciências Agrárias e foi admitido em 1997. Especialista em Metodologia de Ensino Superior na UEMA, (1993/1994). Foi membro da Comissão Permanente para Assuntos de Vestibular. Chefe da Divisão de Operação de Concursos Vestibulares (1995/1998). Membro do Colegiado do Curso de Medicina Veterinária (1997/1998). Mestre em Medicina Veterinária na Universidade Federal de Viçosa (1998/2000). Chefe do Laboratório de Anatomopatologia e Membro do Comitê de Pesquisa PPG/UEMA, (2001/2004). Avaliador do Curso de Medicina Veterinária INEP/MEC (2002-2006). Avaliador Institucional e de Curso de Graduação em Medicina Veterinária pelo INEP/MEC desde 2006. Foi Membro da Comissão Estadual de Ensino e Educação Continuada no Conselho Regional de Medicina Veterinária/MA, (2004/2007). Foi Orientador de Iniciação Científica do CNPq, FAPEMA, (2000/2004). Orientador de Iniciação Científica da FAPEMA, (2007/2008). Orientador de Iniciação Científica da FAPEMA, BIC UEMA (2009/2010). Assistente da Pró-Reitoria de Graduação em 2003. Pró-Reitor de Graduação na UEMA no período de 01/09/2003 a 26/08/2004. Foi Vice-Presidente do Conselho Regional de Medicina Veterinária/MA, (2004/2007). É Coordenador da Comissão Própria de Avaliação - CPA/UEMA. Foi Diretor do Curso de Medicina Veterinária (2005/2006). Exerceu o cargo de Pró-Reitor de Graduação na UEMA, (2006/2007). É Pró-Reitor de Planejamento na UEMA desde julho de 2007. Cursou doutorado em Medicina Veterinária no período de outubro de 2006 a maio de 2010 na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade Estadual Paulista (UNESP) – Câmpus de Jaboticabal, no Programa do Doutorado Interinstitucional (DINTER), entre a UNESP/Jaboticabal e a Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), com financiamento da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES.

Concedei-nos Senhor, Serenidade necessária para aceitar as coisas que não podemos modificar, Coragem para modificar aquelas que podemos e Sabedoria para distinguirmos umas das outras.

(Reihold Niebuhr)

A Deus, pela presença constante em minha vida, sempre iluminando meu caminho.

Aos meus pais **José** e **Rosa**, por acreditarem que a educação seria a melhor herança para seus filhos.

Aos meus irmãos Odilon, Rosa, Angela, Derval e Márcia, pelos exemplos, pelos constantes incentivos e por serem especiais em minha vida.

Aos meus sobrinhos Marco Jr., Tatiana, Roseane, Rosana, Anderson, Guilherme e Glauber.

À minha sobrinha-neta Mariana.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) e à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV, Universidade Estadual Paulista - UNESP, Câmpus de Jaboticabal, pela oportunidade oferecida para a realização do Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária.

Ao Professor e orientador Dr. Celio Raimundo Machado, pela oportunidade de convivência sob sua competente orientação, pela compreensão e pelo empenho durante a realização deste trabalho.

Ao Professor Dr. César Roberto Esper, pela coordenação e implantação inicial da primeira turma do Programa do DINTER junto a UEMA.

À Professora Dra. Rosangela Zacarias Machado, pelo grande apoio como Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - FCAV da Universidade Estadual Paulista - UNESP, Câmpus de Jaboticabal, e pelo carinho e amizade.

À Professora Dra. Ana Lucia Abreu Silva, pela amizade, pelo apoio, pelo incentivo e pelos ensinamentos e cooperação durante a realização do curso.

Ao Professor Dr. Ferdinan Almeida Melo, pelo aconselhamento, pelo apoio, pelo incentivo e pelo grande empenho durante a realização deste trabalho.

Aos meus pais José Pereira Neto e Rosa Gomes Pereira, pelo apoio incansável, pelo incentivo constante e pelos ensinamentos de vida.

Aos meus irmãos Odilon, Rosa, Angela, Derval e Márcia, pela sincera amizade, pelo apoio e pelo incentivo.

Aos cunhados Ambrósio Reis e Swami Martins, pelo apoio e incentivo durante a realização deste trabalho.

Às cunhadas Ana Maria e Karina, pela amizade, pelo apoio e pelo incentivo.

Aos amigos Felipe e Kaká, pela amizade, apoio e incentivo.

À Professora. Dra. Maria Inez Santos Silva, pela amizade, pelo apoio, pelo incentivo e pelos ensinamentos e participação na minha formação antes e durante a realização do curso.

Ao Professor Dr. Fábio Henrique, pela amizade, pelo apoio e cooperação.

Ao Professor Ms. José Augusto Silva Oliveira, Reitor da UEMA, pela confiança, amizade e incentivo.

À Professora Francinete Nunes, pela amizade, pelo apoio e incentivo ao longo da minha vida profissional.

Às amigas da UEMA: Luzinete Lopes, Laura Rodrigues, Lúcia Saraiva, Graça Nery, pela amizade, pelo apoio, pelo incentivo e pelos ensinamentos de vida antes e durante para o nosso aperfeiçoamento profissional.

Aos meus amigos da Pró-Reitoria de Planejamento da UEMA pelo apoio e incentivo durante a realização do curso.

Ao Professor Ms. Francisco Nóbrega, pela confiança, pela amizade, pelo apoio, pelo incentivo e pelos ensinamentos antes e durante a realização do curso, sendo fonte de inspiração e exemplo de competência e profissionalismo.

Ao meu amigo Professor Dr. Porfirio Candanedo Guerra, então Pró-Reitor de Graduação da UEMA, pelo incentivo e amizade.

À Professora. Maria Cristiane Pestana C. Miranda, pela amizade, pelo incentivo, pelo apoio e pelo companheirismo durante a realização do curso.

À Professora Dra. Rita Guerra, pela amizade e incentivo.

Ao Professor Ms. Gustavo Pereira da Costa, Vice-Reitor da UEMA, pela amizade, pelo incentivo e compeenssão nos momentos dificies.

À Professora Euda Batista, pelos exemplos de profissionalismo e seriedade, pelo apoio nas várias fases desse trabalho, pela amizade, exemplos e lições de vida.

Aos Professores Dr. Antonio Carlos Alessi, Dra. Márcia Rita Gonçalves Machado, Dra. Isabel Bolelli e Dra. Nádia Delistoianov, pelas criticas e sugestões durante o exame de qualificação para o enriquecimento deste trabalho.

Ao Professor Dr. Cláudio César Fonseca, pelo aconselhamento, pelo apoio, pelo incentivo e durante a realização deste trabalho.

Às graduandas do Curso de Medicina Veterinária da UEMA, bolsistas de Iniciação Científica: Mysa, Silvana e Mayra, pela grande ajuda durante a realização do experimento.

Ao meu amigo Paulo Miranda, pela amizade, pelo apoio e confiança.

À amiga Sheila Barros, pela amizade, pelo incentivo e sugestões para o enriquecimento deste trabalho.

Ao meu amigo Professor José Domingues “in memorian”, pela amizade, pelo apoio e incentivo na minha trajetória administrativa na UEMA.

Aos companheiros de pós-graduação da turma do DINTER: Cristiane, Lucia Alves, Antonia Santos, José Filho, Evaldo, Daniel, Débora, Socorro, Júnior, Rejeane e Washington, pelas trocas de experiências no decorrer do curso.

A todos que contribuíram de forma direta ou indireta com este trabalho.

LISTAS DE ABREVIATURAS

A	=	Glucagon
A - like	=	Imunoreatividade semelhante ao glucagon
APP	=	Polipeptídeo pancreático aviário
APP-like	=	Imunoreatividade semelhante ao polipeptídeo pancreático aviário
aPY		Polipeptídeo do peixe angler
B	=	Insulina
BPP	=	Polipeptídeo pancreático bovino
CCK	=	Colecistoquinina
CGRP	=	Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina
D	=	Somatostatina
D_1	=	Imunoreatividade semelhante ao Peptídeo intestinal vasoativo
D_1-like	=	Imunoreatividade semelhante a somatostatina
EC	=	Célula enterocromafim, Serotonina
EC_2	=	Motilina
ECL	=	Imunoreatividade semelhante a célula enterocromafim
EG	=	Enteroglucagon
PP	=	Polipeptídeo pancreático
G	=	Gastrina
G/I	=	Co-existência do peptídeo gastrina e colecistoquinina
GIP	=	Peptídeo inibidor gástrico
GLP-1	=	Peptídeo semelhante ao glucagon -1
GTPP	=	Peptídeo pentagastrina
H	=	Peptídeo intestinal vasoativo
I	=	Colecistoquinina
IINS	=	Insulina de lampreia
K	=	Peptídeo inibidor gástrico
L	=	Enteroglucagon
LES	=	Esfíncter esofágico caudal
MENK8	=	Arg^{6}, Gly^{7}, Leu^{8} - Metionina-encefalina
M	=	Motilina
N	=	Neurotensina
NPY	=	Neuropeptídeo Y
PAP	=	Técnica da peroxidase anti-peroxidase
PAS	=	Ácido Periódico de Schiff
PHI	=	Peptídeo histidina isoleucina ou metionina
PP	=	Polipeptídeo pancreático
PP-like	=	Imunoreatividade semelhante ao polipeptídeo pancreático
PYY	=	Peptídeo tirosina tirosina
S	=	Secretina
SP	=	Substância P
VIP	=	Peptídeo intestinal vasoativo
X	=	Substância P

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1 Fotomicrografia da região caudal do esôfago de *K. scorpioides* com células imunorreativas à serotonina .....25.

Figura 2 Fotomicrografia da região caudal do esôfago de *K. scorpioides* com células imunorreativas à serotonina .....26.

Figura 3 Fotomicrografia da região cranial do esôfago de *K. scorpioides* com marcação para glucagon na superfície dos cílios .....27.

Figura 4 Fotomicrografia da região cranial do esôfago de *K. scorpioides* com marcação para glucagon na lâmina própria e submucosa .....28.

Figura 5 Fotomicrografia da região caudal do esôfago de *K. scorpioides* com marcação para motilina na lâmina própria e submucosa .....29.

Figura 6 Fotomicrografia da região média do esôfago de *K. scorpioides* com marcação para motilina nas fibras nervosas das túnicas muscular e adventícia.....30.

Figura 7 Fotomicrografia da região cárdica do estômago de *K. scorpioides* com células imunorreativas à serotonina.....31.

Figura 8 Fotomicrografia da região fúndica do estômago de *K. scorpioides* com células imunorreativas à serotonina.....32.

Figura 9 Fotomicrografia da região pilórica do estômago de *K. scorpioides* com células imunorreativas à serotonina.....33.

Figura 10 Fotomicrografia da região cárdica do estômago de *K. scorpioides* com células imunorreativas à gastrina.....34.

Figura 11 Fotomicrografia de células imunorreativas à gastrina nas glândulas da região pilórica do estômago de *K. scorpioides*.....35.

Figura 12 Fotomicrografia de células imunorreativas ao enteroglucagon nas glândulas da região cárdica do estômago de *K. scorpioides*.....36.

Figura 13 Fotomicrografia de células imunorreativas ao enteroglucagon nas glândulas da região fúndica do estômago de *K. scorpioides.*.....37.
Figura 14 Fotomicrografia com células imunorreativas ao enteroglucagon nas glândulas da região pilórica do estômago de *K. scorpioides.*.....38.
Figura 15 Fotomicrografia com célula imunorreativa à serotonina no epitélio de revestimento do duodeno de *K. scorpioides.*.....39.
Figura 16 Fotomicrografia das vilosidades do duodeno de *K. scorpioides* com marcação para gastrina nas células epitelias de revestimento.....40.
Figura 17 Fotomicrografia das vilosidades do duodeno de *K. scorpioides* com células imunorreativas à gastrina nas células epiteliais de revestimento.....41.
Figura 18 Fotomicrografia das vilosidades do duodeno de *K. scorpioides* com células imunorreativas ao enteroglucagon nas superfícies das células epiteliais de revestimento, e das fibras nervosas na lâmina própria e submucosa.....42.
Figura 19 Fotomicrografia das vilosidades do duodeno de *K. scorpioides* com marcação para motilina nas fibras nervosas na lâmina própria e submucosa.....43.

SUMÁRIO

Página

RESUMO.....xiv
SUMMARY.....xv
1. INTRODUÇÃO.....1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....3
2.1 Sistema endócrino difuso do tubo digestivo de vertebrados.....3
2.1.1 Esôfago.....4
2. 1.1.1 Mamíferos.....4
2.1.1.2 Aves.....5
2.1.1.3 Anfíbios.....5
2.1.1.4 Peixes.....5
2.2.1.5 Répteis.....6
2.1.2 Estômago.....6
2.1.2.1 Mamíferos.....6
2.1.2.2 Aves.....7
2.1.2.3 Anfíbios.....9
2.1.2.4 Peixes.....10
2.1.2.5 Répteis.....11
2.1.3 Intestinos.....13
2.1.3.1 Mamíferos.....13
2.1.3.2 Aves.....15
2.1.3.3 Anfíbios.....16
2.1.3.4 Peixes.....17
2.1.3.5 Répteis.....18
3. MATERIAL E MÉTODOS.....19
3.1 Animais.....19
3.2 Processamento histológico do material.....19
3.2.1 Descrição das técnicas de coloração utilizadas.....20
3.2.1.1 Técnica de Peroxidase Anti-Peroxidase – PAP (STENBERGER et al., 1970).....20

3.2.1.2 Técnica de Estreptoavidina-Peroxidase para detecção de gastrina (TAFURI et al., 2004) 21
3.2.1.3 Técnica de Estreptoavidina-Peroxidase para detecção de enteroglucagon (TAFURI et al., 2004) 22
3.3.1.4 Técnica de Estreptoavidina-Peroxidase para detecção de motilina (TAFURI et al., 2004) 23
4. RESULTADOS 25
4.1 Esôfago 25
4.1.1 Células imunorreativas à serotonina 25
4.1.2 Células imunorreativas à gastrina 26
4.1.3 Células imunorreativas ao enteroglucagon 26
4.1.4 Células imunorreativas à motilina 29
4.2 Estômago 31
4.2.1 Células imunorreativas à serotonina 31
4.2.2 Células imunorreativas à gastrina 34
4.2.3 Células imunorreativas ao enteroglucagon 35
4.3 Intestino delgado – Duodeno 39
4.3.1. Células imunorreativas à serotonina 39
4.3.2 Células imunorreativas à gastrina 40
4.3.3 Células imunorreativas ao enteroglucagon 42
4.3.4 Células imunorreativas à motilina 43
5. DISCUSSÃO 44
5. 1 Esôfago 44
5.1.1 Células imunorreativas à serotonina 44
5.1.2 Células imunorreativas à gastrina 44
5.1.3 Células imunorreativas ao enteroglucagon 44
5.1.4 Células imunorreativas à motilina 45
5. 2 Estômago 45
5.2.1 Células imunorreativas à serotonina 45
5.2.2 Células imunorreativas à gastrina 46
5.2.3 Células imunorreativas ao enteroglucagon 47

5.3 Intestino delgado – Duodeno 48
5.3.1 Células imunorreativas à serotonina 49
5.3.2 Células imunorreativas à gastrina 50
5.3.3 Células imunorreativas ao enteroglucagon 51
5.3.4 Células imunorreativas à motilina 52
6. CONCLUSÕES 53
7. REFERÊNCIAS 54

IMUNOLOCALIZAÇÃO DE HORMÔNIOS EM CÉLULAS ENDÓCRINAS DO ESÔFAGO, ESTÔMAGO E DUODENO DO MUÇUÃ *Kinosternon scorpioides* (Kinosternidae).

RESUMO - O *Kinosternon scorpioides* é uma tartaruga de água doce conhecida como jurará. O objetivo do presente trabalho foi identificar serotonina, gastrina, enteroglucagon e motilina em esôfago, estômago e duodeno de *K.scorpioides* por meio da técnica de imunohistoquímica. Os resultados mostraram que as células imunorreativas à serotonina estavam presentes no epitélio na região caudal do esôfago, nas glândulas gástricas das regiões cárdica, fúndica e pilórica. As células produtoras de gastrina foram identificadas em grande quantidade entre as células da região pilórica e no epitélio de revestimento do duodeno, e em número reduzido na região cárdica. O enteroglucagon foi identificado na superfície dos cílios, no epitélio de revestimento da mucosa esofágica, nas fibras nervosas da lâmina própria e submucosa; no estômago estava localizado entre as células das glândulas cárdicas e fúndicas em número moderado, e aparentemente em maior quantidade nas pilóricas. No duodeno, o enteroglucagon foi identificado na superfície dos microvilos, no epitélio de revestimento, nas fibras nervosas da lâmina própria e submucosa. A motilina foi identificada apenas entre as fibras nervosas dos órgãos estudados. Em conclusão, as células imunorreativas à serotonina, gastrina, enteroglucagon e motilina foram identificadas em todos os órgãos estudados. Entretanto, nos diferentes segmentos houve diferença quanto à distribuição e frequência dessas células.

Palavras-chave: Duodeno; Enteroglucagon; Esôfago; Estômago; Gastrina; Imunohistoquímica; Motilina,

IMMUNOLOCALIZATION OF HORMONES IN ENDOCRINE CELLS OF ESOPHAGUS, STOMACH AND DUODENUM OF THE MUÇUÃ *Kinosternon scorpioides* (Kinosternidae).

SUMMARY - *Kinosternon scorpioides* is a freshwater turtle known as “jurará”. The aim of this work was to identify peptides serotonin, enteroglucagon, gastrin and motilin in esophagus, stomach and duodenum by immunohistochemical techniques. The results showed that immunoreactive cells for serotonin were presented in the epthitelium of distal region of the esophagus, in glands of cardiac, fundic and pyloric region of the stomach and in the surface of duodenum epithelium. These cells were classified as open and closed type. The cells immunoreactive for gastrin were abundant in pyloric region and duodenum epitheliun, few numerous in cardiac region and absent in the esophagus. Cells rich in enteroglugagon were identified in the cilia surface, in the epithelium of esophagus, among nervous fibers of lamina propria and submucosa; in the stomach, these cells were observed in small number cardiac and fundic glands, however in pyloric region they were abundant. In duodenum, they were observed in microvillus surface, epithelium and nervous fibers of both lamina propria and submucosa. On the other hand, cells that produce motilin were observed just among lamina propia and submucosa. In conclusion, cells rich in serotonin, gastrin, enteroglugagon and motilin were found in all studied organs. However it was observed differences in the segments regarding distribution and frequency of these cells.

Palavras-chave: Duodenum; Enteroglucagon; Esophagus; Gastrin; Immunohistochemical; Motilin; Stomach;.

1. INTRODUÇÃO

O réptil *Kinosternon scorpioides* (LINNAEUS, 1766) pertencente à classe Reptilia, ordem Testudines, família Kinosternidae, é uma tartaruga semi-aquática de água-doce, encontrada desde a Costa Rica até o norte da Argentina, a leste dos Andes (ROCHA & MOLINA, 1987; ACUÑA-MESEN, 1994). No Maranhão, esta tartaruga é denominada jurará (VON IHERING, 1968) ou muçuã. Esta espécie, encontrada à beira dos rios e em campos da Baixada Maranhense, é usada como alimento pelas populações ribeirinhas. Apesar de sua importância econômica regional, são pouco numerosas e fragmentárias as informações sobre a biologia, a ecologia e o comportamento dessa espécie (ALFINITO, 1980; ROCHA & MOLINA, 1987).

Poucos autores relataram a estrutura microscópica do tubo digestivo das tartarugas. Dentre eles, podem ser citados ZAMITH (1952), que fez estudo comparativo do esôfago de vertebrados além dele, GAPP et al. (1985), MADRID et al. (1989) e BEISSER et al. (1998), cujos trabalhos foram direcionados para o estudo da língua e do esôfago. Menor número de pesquisadores voltaram sua atenção para o estudo das células endócrinas do pâncreas (GARCIA AYALA et al., 1987), dos intestinos e do estômago (MUNIZ et al., 1991; IVANOVA et al., 1997) destes animais. Entretanto, o tubo digestivo de *K. scorpioides* foi estudado morfologicamente e histoquimicamente por PEREIRA (2000).

Conclui-se dos estudos realizados que as células do sistema endócrino foram inicialmente localizadas no intestino e pâncreas, às quais receberam a denominação de sistema endócrino difuso. As células do referido sistema foram denominadas de: células claras, argentafins e argirófilas e tal denominação se deu por sua afinidade a tais corantes (POLAK et al., 1993).

Por sua vez, as células endócrinas descritas no tubo digestivo podem apresentar formatos que variam do triangular ao oval e piriforme, com citoplasma claro, em cuja superfície apical observam-se, frequentemente, microvilos desenvolvidos. Conforme a comunicação da região apical com o lúmen, estas células foram classificadas em dois

grupos: um de células cujo ápice atinge a luz do órgão (tipo aberto) e outro grupo sem continuidade com a luz (tipo fechado) (SANTOS & ZUCOLOTO, 1996).

Sendo assim, com a finalidade de preencher a lacuna proporcionada pela escassez de dados biológicos e morfológicos sobre *K. scorpioides*, e visando consolidar a linha de pesquisa sobre a morfologia do muçuã realizada na UEMA, e o fornecimento de dados científicos que contribuam para a preservação da espécie, objetivou-se com a presente pesquisa identificar, mediante utilização de imunohistoquímica, os seguintes peptídeos: serotonina, gastrina, enteroglucagon e motilina no esôfago, estômago e duodeno da espécie.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Sistema endócrino difuso do tubo digestivo de vertebrados

De acordo com SANTOS & ZUCOLOTO (1996), as células endócrinas do aparelho digestório cujas conformações variam de triangular, oval ou piriforme caracterizam-se por apresentarem numerosos grânulos secretores, comumente concentrados na região infranuclear. Elas contêm citoplasma claro, e na superfície apical há, frequentemente, microvilos desenvolvidos. Conforme a comunicação da região apical dessas células com o lúmen, classificam-se em tipo aberto nas quais o ápice da célula atinge a luz do órgão e em tipo fechado, onde o ápice celular não mantém continuidade com a luz. Estão distribuídas difusamente ao longo da mucosa, intercaladas com células exócrinas, compartilhando diversas características, dentre elas a capacidade de produzir uma série de peptídeos.

As células endócrinas podem exercer funções regulatórias autócrinas, parácrinas e endócrinas sobre outros elementos celulares endócrinos e exócrinos do tubo digestivo (POLAK et al., 1993; TOWSEND et al.,1994).

Conforme a capacidade de reter sais de prata as células endócrinas podem ser classificadas em dois grandes grupos. Assim, segundo NIKONOV & KHOMERIKI (1977) e POLAK et al. (1993), as células argirófilas apresentam imunorreatividade a vários peptídeos: gastrina (G), somatostatina (D), glucagon (A), peptídeo inibidor gástrico (GIP), peptídeo intestinal vasoativo (VIP), neurotensina (N), bombesina, secretina (S) e colecistoquinina (CCK), e as células argentafins são imunorreativas a motilina (M), substância P (X, SP) e serotonina (EC).

2.1.1 Esôfago

2.1.1.1 Mamíferos

Células endócrinas são encontradas em ductos excretores e na região terminal das glândulas cárdicas do esôfago do homem. Essas células são classificadas em argentafins e argirófilas nas reações de Grimelius e Servier-Munger e somente argirófilas na reação de Grimelius. A quantidade de células argentafins nas glândulas cárdicas esofágicas parece ser cinco vezes maior que nas glândulas cárdicas gástricas, porém, estão ausentes nas glândulas mucosas do esôfago (NIKONOV & KHOMERIKI, 1977). A região distal do esôfago humano apresenta glândulas contendo células argirófilas, que foram subdivididas, com o auxílio da microscopia eletrônica, em sete tipos celulares conhecidos e duas formas não-identificadas: EC, ECL, D, D_1, A-like, I - M e S (KADUK & BARTH, 1978).

Estudos imunocitoquímicos e de radioimunoensaio detectaram peptídeos regulatórios no esfíncter esofágico caudal (LES) do suino e do homem. Imunorreatividades a VIP, substância P, encefalina e neuropeptídeo Y (NPY) foram identificadas nos gânglios intramurais, nas camadas de músculo liso e nas fibras nervosas do LES (AGGESTRUP et al., 1986).

WATTCHOW et al. (1987) relataram, no esôfago humano, a ocorrência de células e fibras nervosas imunorreativas aos peptídeos SP, D, VIP, G, NPY e encefalina associada a enzima tirosina hidroxilase. Esses autores descreveram, ainda, que no músculo liso da camada muscular longitudinal externa da muscular da mucosa e sob o epitélio as fibras contendo VIP e NPY foram em maior número, em contraste com a escassez de SP, D, G e encefalina.

Ocorrência de células endócrinas nas glândulas cárdicas do esôfago humano foram verificadas nos ductos e ácinos secretores por VDOVTSEVA et al. (1988). Estes autores relataram, ainda, que os principais tipos celulares encontrados foram as células G, EC e ECL, e seus grânulos secretores são muito semelhantes aqueles observados nas células G, EC e ECL do estômago.

2.1.1.2 Aves

A origem e distribuição de elementos imunorreativos a serotonina, cromogranina A, cromogranina B, galanina, neurotensina, bombesina e neuropeptídeo Y foram estudadas no esôfago de pintos durante a vida pré e pós-incubatória. As primeiras células imunorreativas a serotonina e cromogranina surgiram aos 12 dias de idade, nas porções cervicais e torácicas do esôfago (SALVI et al., 1998). Esses mesmos autores verificaram a ocorrência de raras células imunorreativas a bombesina e neurotensina, na região caudal do esôfago, positivas para o método de Grimelius.

2.1.1.3 Anfíbios

A mucosa esofágica de *Rana catesbeiana*, rã-touro Americana, denominada *Lithobates catesbeianus*, provavelmente apresenta um novo tipo celular, que contém serotonina. Essa célula apresentou argentafinidade, mas foi negativa para a coloração pelo método de Grimelius (NADA et al., 1984).

HONG et al. (1988) utilizaram o método de PAP para identificar, na mucosa esofágica de rã, a presença de duas variedades de células com imunorreatividade semelhante à somatostatina. Uma variedade dessas células localiza-se difusa e individualmente dentro dos ductos intercalares, enquanto outro grupo se situa no interior dos septos interlobulares das glândulas pépticas.

Em *Bombina orientalis*, células imunorreativas à serotonina foram demonstradas em quase todo o epitélio do tubo digestivo, sendo numerosas em frequência na região esofágica (KU et al., 2000).

KU et al. (2003), relataram que, células imunorreativas à serotonina foram encontradas, em quase todo tubo digestivo da *Rana rugosa*, incluindo o esôfago, entretanto, eram mais frequentes no antro pilórico.

2.1.1.4 Peixes

ANDREOZZI et al. (1997) identificaram células e fibras nervosas reativas a polipeptídeo pancreático distribuídas ao longo da mucosa intestinal de

Hypophthalmicchtys molitrix (carpa) e *Carassius auratus*, mas foram encontradas apenas no intestino anterior de *Lepomis gibbosus*.

KAREN & YOUSON (1997), constataram no epitélio do intestino anterior de Le*pisosteus osseus* L. uma grande quantidade de células imunorreativas anti-NPY, anti-lamprey-INS, anti-GLP e moderado para anti-aPY.

2.1.1.5 Répteis

PEREZ-TOMAS et al. (1989a), em estudos imuno-histoquímicos, na região caudal do esôfago de *Testudo graeca*, descreveram células imunorreativas à serotonina (EC) e ao peptídeo inibidor vasoativo (VIP).

Células endócrinas do tipo argirófila e argentafim foram identificadas nas regiões cranial, média e caudal do esôfago do *K. scorpioides*, atingindo a luz do órgão sendo denominadas “tipo aberto”, e as de localização próximo à membrana basal “tipo fechado (PEREIRA, 2000; PEREIRA et al., 2005).

2.1.2 Estômago

2.1.2.1 Mamíferos

SEKIZUKA et al. (1975), descreveram células imunorreativas à serotonina na mucosa gástrica das regiões fúndica e pilórica do estômago do homem. Por outro lado, células epiteliais da mucosa oxíntica do estômago de gato e de cão apresentaram imunorreatividade ao glucagon pancreático.

De acordo com BAETENS et al. (1976), a mucosa oxíntica de cão apresenta células que contêm glucagon. Essas células foram denominadas células A gástricas, as quais são responsáveis pela produção de glucagon gástrico.

ZAVIACIC et al. (1976) observaram células endócrinas imunorreativas a serotonina, enterocromafim-like (ECL), peptídeo intestinal vasoativo (D1), imunorreatividade semelhante ao glucagon (A-like) e gastrina (G) na mucosa gástrica

de rato, e A, G e D na mucosa do estômago de macaco (HELMSTAEDTER et al., 1977).

Na mucosa gástrica da região fúndica do estômago da *Llama guanacoe,* foram demonstrados quatro tipos de células endócrinas: A-like, ECL, D e EC (LUCIANO et al., 1980).

OHARA et al. (1986) relataram a presença de células endócrinas D, EC, A-like, X, S, N, BPP, G, D_1 e colecistoquinina (I) , de glicentina e de insulina (B) no estômago do rato-japonês de campo.

VAN ASWEGEN et al. (1994) identificaram, na mucosa do estômago do elefante africano, células imunorreativas à cromogranina A, gastrina, somatostatina e serotonina. Já as células imunorreativas à somatostatina, VIP, PHI, CGRP e bombesina foram detectadas apenas na submucosa e em plexos mioentéricos do estômago.

AGUNGPRIYONO et al. (2000), verificaram a presença de células endócrinas imunorreativas à cromogranina, serotonina, somatostantina, gastrina, metionina-encefalina-Arg^6-Gly^7-Leu^8(MENK8), glucagon e polipeptídeo pancreático bovino (BPP) no estômago de Babirusa, *Babyrousa babyrussa*.

Segundo NISA et al. (2005), células endócrinas imunorreativas à cromogranina, serotonina, somatostatina, gastrina, polipeptideo pancreático bovino (BPP) e ao glucagon ocorrem nas glândulas gástricas do Pangolin, *Manis javanica*.

2.1.2.2 Aves

ANDREW (1976a) verificou, ultra-estruturalmente, que a mucosa do proventrículo, moela e antropilórico de embriões de pintos com 18 dias de incubação e de pintos com 30 horas de eclosão, apresentavam células endócrinas D, EC, G, D_1 e A-like.

RAWDON & ANDREW (1981) observaram, em proventrículo, moela e piloro de pintos, a distribuição de células reativas a gastrina, colecistoquinina, glucagon, secretina, polipeptídio intestinal vasoativo, substância P, bombesina, neurotensina,

motilina, somatostatina e polipeptídeo pancreático aviário-like. A região do piloro apresentou-se rica em células endócrinas G, N e D-like.

YAMADA et al. (1985) identificaram a distribuição topográfica e a frequência de células endócrinas no proventrículo de pardal-dos-castanheiros, pombo, codorna, pinto, pato, gaivota e águia-de-asa-redonda. As células encontradas apresentaram reatividade a gastrina, somatostatina, polipeptídio pancreático aviário, glucagon, serotonina e neurotensina.

De acordo com YAMANAKA et al. (1989), as células imunorreativas à gastrina estão presentes na região pilórica do estômago de aves, sendo estas localizadas principalmente na base das glândulas.

MARTINEZ et al. (1993) investigaram o desenvolvimento de células endócrinas no proventrículo de pintos, utilizando microscopia de luz e eletrônica, em combinação com técnicas de impregnação pela prata e imunohistoquímicas. Substâncias imunorreativas apareceram na seguinte ordem: serotonina aos 14 dias, polipeptídeo pancreático aviário, glucagon e somatostatina aos 16 dias, bombesina e neurotensina aos 18 dias e met-encefalina aos 21 dias.

CASTALDO & LUCINI (1994) relataram que células imunorreativas à somatostatina surgem no duodeno de pato aos nove dias de incubação, aparecendo progressivamente em outros órgãos aos 19 dias de incubação. A região do antro gástrico contém grande quantidade de células de somatostatina, enquanto na moela raras células. Células imunorreativas à neurotensina foram detectadas aos 21 dias no proventrículo e antro, enquanto as de bombesina foram observadas aos 17 dias no proventrículo e, aos 23 dias, na moela e antro. Já as células de gastrina e colecistoquinina aparecem primeiro aos 17 dias, na região do antro, e, aos 21 dias, no intestino delgado. Células imunorreativas à serotonina aparecem aos 21 dias no proventrículo.

MENDES et al. (2009) indicaram células imunorreativas à serotonina, somatostatina, glucagon, motilina, polipetideo pancreatico e insulina no proventrículo e moela do pardal.

2.1.2.3 Anfíbios

EL-SALHY et al. (1981) relataram a existência de células produtoras de somatostatina, glucagon, polipeptídeo pancreático, secretina, peptídeo inibidor gástrico e peptídeo pentagastrina (GTPP) na mucosa do estômago do sapo *Bufo regularis*.

A mucosa gástrica de *Bufo marinus* contém três distintas populações de células endócrinas. Essas células mostram-se estruturalmente semelhantes às células gástricas armazenadoras de hormônios, observadas em vertebrados superiores (GIRAUD & YEOMANS, 1981).

HOLMGREN et al. (1985), utilizando métodos imunohistoquímicos, detectaram no estômago de *Necturus maculosus*, células endócrinas imunorreativas a N, X, D, D_1, G/I e de bombesina.

DIAZ de RADA et al. (1987), por meio da combinação de métodos histoquímicos, imunohistoquímicos e ultraestruturais, para identificar a presença de células endócrinas na mucosa gástrica de *Rana temporaria*, confirmaram seis tipos celulares: G, A, EC, ECL, D e P.

MICHELANGELI et al. (1987) estudaram a mucosa gástrica de *Rana catesbeiana*, atualmente denominada *Lithobates catesbeianus*, com o auxílio de microscopia eletrônica, demonstrando a ocorrência de células endócrinas classificadas de acordo com o aspecto dos seus grânulos secretores e outras organelas. Esses autores relataram, ainda, que as células endócrinas de anfíbios lembram as células EC, ECL e D observadas em mamíferos.

GALLEGO-HUIDOBRO & PASTOR (1996) descreveram que a mucosa do estômago de *Rana perezi* adulta possui glândulas fúndicas e glândulas pilóricas. As primeiras são compostas de células mucosas, oxintopépticas e endócrinas, enquanto as glândulas pilóricas são, principalmente, do tipo secretor de muco e com células endócrinas dispersas. Os tipos de células endócrinas encontradas nessas glândulas foram X, D, G, A, EC e ECL.

BODEGAS et al. (1997) combinaram técnicas imunohistoquímicas e de microscopia eletrônica para estudarem a presença de células endócrinas no intestino

larval de *Rana temporaria*. Raras células endócrinas foram encontradas na região não-absortiva, imediatamente seguindo o estômago e o restante do intestino anterior.

KU et al. (2000), alegaram que na *Bombina orientalis*, células imunorreativas à serotonina, somatostatina, foram demonstradas em quase todo o epitélio do tubo digestivo, sendo numerosas em regiões esofágica e gástrica e com moderada frequência nos intestinos.

2.1.2.4 Peixes

NOAILLAC-DEPEYRE & HOLLANDE (1981) identificaram, na mucosa gástrica de *Perca fluviatilis* (perca) e *Ameirus nebulosus* (bagre), células imunorreativas à gastrina e somatostatina, difusamente distribuídas entre as células superficiais e as células do colo das glândulas.

ELBAL & AGULLEIRO (1986) encontraram no estômago de *Sparus auratus* (pargo-dourado) células imunorreativas à somatostatina e à gastrina no fundo de criptas gástricas e na região do colo de glândulas gástricas, enquanto células reativas ao peptídeo somatostatina estavam presentes entre as células epiteliais da superfície das criptas gástricas.

KRALJ-KLOBUCAR (1987) utilizou métodos histoquímicos e imunohistoquímicos para demonstrar a presença de células enteroendócrinas em larvas de *Cyprinus carpio* (carpa), *Aristichthys nobilis Richardison* (carpa-cabeça-grande), *Hypophthalmichthys molitrix Valcenciennes* (carpa-prata) e *Salmon salar* (salmão-atlântico). Células argirófilas foram detectadas na mucosa de apêndices pilóricos e do estômago, enquanto células imunorreativas à gastrina foram identificadas na região pilórica do estômago de todas as espécies estudadas, exceto *Salmon salar*.

ELBAL et al. (1988), em estudos imunohistoquímicos e de microscopia eletrônica, identificaram nas regiões cárdica e cecal de *Mugil saliens* (teleosteo) células reativas a gastrina, glucagon e somatostatina, sendo localizadas principalmente nas regiões da base das criptas gástricas e no colo das glândulas. Já as células de

substância P, somatostatina e polipeptídeo pancreático estão presentes entre as células epiteliais da região pilórica.

GARCIA HERNÁNDEZ et al. (1994) constataram a presença de células endócrinas durante a ontogênese da mucosa do estômago de *Dicentrarchus labrax* L. (perca-do-mar). Essas células são secretoras dos peptídeos insulina, glucagon e polipeptídeo pancreático.

GARGIULO et al. (1997), estudando ultraestruturalmente a mucosa gástrica de *Tilapia* spp. demonstraram a ocorrência de células endócrinas. E imunohistoquimicamente, foi comprovado que essas células são secretoras de gastrina, somatostatina e serotonina.

GOMEZ-VISUS et al. (1998) relataram a ocorrência de células imunorreativas ao glucagon, glicentina, peptídeo tirosina e neuropeptídeo YY no estômago de *Dicentrarchus labrax* (perca-do-mar).

2.1.2.5 Répteis

De acordo com GIRAUD et al.(1979), três tipos de células endócrinas estão presentes na mucosa gástrica do lagarto *Tiliqua scincoides*, e duas delas mostraram similaridade com as células EC e ECL de mamíferos.

Segundo PEREZ-TOMAS et al. (1989a), o estômago de *Testudo graeca* apresenta células ECL, L e D na região cárdica e células D_1 e G na região pilórica.

PEREZ-TOMAS et al. (1989b), estudando o sistema endócrino gastroenteropancreático do *Testudo graeca, Mauremys caspica e Lacerta lepida,* por meio imuno-histoquímico, constataram a presença de células endócrinas imunorreativas a bombesina, gastrina, glucagon, somatostatina, serotonina, insulina, neurotensina, polipeptídeo pancreático, substância P e PPY.

MUNIZ et al. (1991) identificaram, imunohistoquimicamente, células reativas à insulina na região do antro gástrico de Chrysemys *dorbigni* e *Phrynops hilarii*.

Grande parte das células endócrinas observadas no estômago e intestino de *Hydromantes ambrosii* (salamandra) era do tipo aberto. As células endócrinas

produtoras de gastrina e substância P, localizadas na região do fundo do estômago, e as células de bombesina, localizadas na porção intestinal, foram classificadas como do tipo fechado (FARALDI et al., 1993).

IVANOVA et al. (1997) estudaram o estômago de *Testudo horsfieldi*. Nesse estudo, verificaram a diferença na localização de células endócrinas, que estão acumulados predominantemente nas regiões superior e média das glândulas, podendo ocorrer também na superfície epitelial. De acordo com o tamanho e a estrutura, foram identificados oito tipos celulares: EC, ECL, G, D, D_1, A-like, X e P. Conforme a comunicação do processo apical desses endocrinócitos com o lúmen da glândula, foram classificados como sendo do ‘‘tipo aberto’’ (EC e G), enquanto aqueles sem continuidade com a luz o foram como do ‘‘tipo fechado’’ (ECL, D, D_1, A-semelhante, X e P).

KU et al. (2001) descreveram que as células imunorreativas à serotonina podem ser encontradas em todo o aparelho digestório da *Trachemys scripta elegans*, porém, com frequência variada concentrando-se comumente no piloro.

LEE & KU (2004), verificaram células imunorreativas à serotonina ao longo de todo tubo digestivo da *Takydromus wolteri Fischer*, com maior frequência em estômago e piloro, respectivamente.

TERAKÇI et al. (2005) observaram células endócrinas imunorreativas a serotonina e insulina nas glândulas fúndicas e pilórica do estômago da *Mauremys caspica caspica*. Relataram ainda, a ausência de gastrina, substância P, glucagon, CGRP e somatostatina.

Estudos histoquímicos realizados por PEREIRA (2000) fazem referência à presença de células endócrinas argirófilas e argentafins entre as células que formam as glândulas das regiões cárdica, fúndica e pilórica do estômago do *K. scorpioides*, ocorrendo em maior número na pilórica, e número reduzido nas regiões cárdica e fúndica.

2.1.3 Intestinos

2.1.3.1 Mamíferos

Células endócrinas imunorreativas à serotonina foram evidenciadas na mucosa do duodeno, jejuno e íleo humano, sendo numerosas na região terminal do íleo (SEKIZUKA et al., 1975).

De acordo com HEITZ et al. (1978), por meio da técnica de Masson-Fontana, foi observado um tipo de célula enterocromafim na mucosa duodenal humana. A célula produtora do polipeptídeo motilina (EC_2) foi identificada com auxílio de microscopia imunoeletrônica, sendo verificada sua presença principalmente no duodeno e na região inicial do íleo.

Células endócrinas do duodeno e jejuno de embriões de camundongos foram classificadas, baseado nas características morfológicas e na época de surgimento, em cada segmento: as células EC surgem aos 16 dias de gestação em ambos os segmentos; algumas células G foram observadas no duodeno e células K no íleo; células ECL e S foram identificadas no duodeno aos 17 dias. Já as células D foram identificadas aos 18 dias de gestação no duodeno e no íleo (CALVERT, 1978).

USPENSKII & GOLOFREEVSKII (1980), utilizando métodos histoquímicos, identificaram a presença de células endócrinas G, EC e ECL na mucosa duodenal humana.

TSUMURAYA et al. (1986), combinando métodos imuno-histoquímicos e de microscopia eletrônica, perceberam na mucosa duodenal humana células endócrinas reativas a CCK e, ou, G. Pelo método imuno-histoquímico, três tipos de células endócrinas foram distintas na mucosa duodenal: células positivas para CCK, positivas para CCK e G e aquelas positivas somente para G.

LARSSON et al. (1975) verificaram células endócrinas imunorreativas ao glucagon na mucosa intestinal de gato e de cão. Essas células foram predominantes nas regiões do íleo e do cólon.

Já IATSKOVSKII & BORONIKHINA (1989), investigando as glândulas duodenais de carnívoros, detectaram células imunorreativas à serotonina. As referidas células foram localizadas nos ductos e na parte terminal das glândulas.

JABLONSKI & GOSSRAU (1989) relataram a ocorrência de células endócrinas no aparelho digestório de saguis recém-nascidos, as quais correspondem às dos epitélios gástrico e intestinal de animais adultos, ocorrendo em todo o tubo digestivo inferior e divididas em células EC, ECL, D, L e EG.

De acordo com KITAMURA et al. (1984), a mucosa do intestino delgado de equino apresentou células imunorreativas à somatostatina em todo o intestino delgado, células de gastrina exclusivamente na porção inicial do duodeno.

Estudos referentes à mucosa duodenal do equino revelaram presença de poucas células endócrinas EC produtoras de serotonina, enquanto que na região das glândulas pilóricas o número dessas células foi maior (CECCARELLI et al., 1995a).

RIZZOTTI & DOMENEGHINI (1976), estudando a mucosa do duodeno de bezerros de três a quatro meses de idade, identificaram células endócrinas EC e G, com base nas características morfológicas e histoquímicas.

BALTAZAR et al. (1998), por meio de estudos imuno-histoquímicos da mucosa do estômago e intestinos de *Philippine carabao* (búfalo), verificaram células endócrinas imunorreativas a somatostatina, gastrina, colecistoquinina no abomaso e no intestino delgado; e motilina, neurotensina, secretina, peptídeo inibidor gástrico e substância P apenas no intestino delgado.

CALINGASAN et al. (1984) demonstraram na mucosa do intestino delgado de carneiro a presença de células endócrinas D, G, I, EC_2, N, S, X, L, polipeptídeo pancreático bovino (BPP) e glicentina, mais numerosas no duodeno.

CECCARELLI et al. (1995b) relataram a presença de células endócrinas imunorreativas à serotonina na mucosa do duodeno de *Dama dama* (cervo) adulto.

AGUNGPRIYONO et al. (2000), observaram a presença de células endócrinas imunorreativas à cromogranina, serotonina, somatostantina, gastrina, secretina, colecistoquinina, metionina-encefalina-Arg^6-Gly^7-Leu^8(MENK8), motilina, glucagon, polipeptideo inibidor gastrico (GIP) e polipeptideo tirosina tirosina (PYY), e ausência de

neurotensina e polipeptideo pancreatico bovino no duodeno de Babirusa, *Babyrousa babyrussa*.

ZHANG et al. (2009) descreveram a distribuição e as características morfológicas de células imunorreativas à serotonina no intestino delgado de suino. As células imunorreativas à serotonina foram localizadas no duodeno, jejuno e íleo desses animais.

2.1.3.2 Aves

ANDREW (1976b) constatou, na mucosa do duodeno e íleo de embriões de pintos com 18 dias de incubação e de pintos com 30 horas após a eclosão, a presença de células endócrinas D, EC, G, D_1 e A-like.

Para SUNDLER et al. (1977), as células imunorreativas à neurotensina ocorrem difusamente no epitélio da mucosa do jejuno e íleo. Em galinhas, as células N são abundantes na junção da moela com o duodeno (antro), em meio às numerosas células G e D.

De acordo com YAMADA et al. (1979), a mucosa da região pilórica e do intestino delgado da codorna-japonesa apresenta células imunorreativas à gastrina.

YAMANAKA et al. (1989), analisando a mucosa do tubo digestivo da galinha, verificaram numerosas células endócrinas imunorreativas à serotonina em toda a região do intestino, exceto no ceco; número reduzido de células G e D no jejuno e íleo; poucas células EG no intestino delgado, que aumentam em número, em direção ao íleo; e raras células EC_2.

Células endócrinas também se fazem presentes na mucosa do tubo digestivo do pombo doméstico. Os principais tipos celulares identificados foram: D, G, EC, N, A e L (SAITO et al., 1989).

BEZUIDENHOUT & van ASWEGEN (1990), por meio de estudos de microscopia de luz e imuno-histoquímico do trato gastrointestinal de avestruz, constataram células endócrinas imunorreativas à somatostatina, glucagon, gastrina, bombesina, neurotensina, substância P e polipeptídeo pancreático. Esses autores destacaram,

ainda, que a distribuição das células imunorreativas a glucagon, bombesina, neurotensina e substância P difere daquela observada em galinhas.

RAWDON & ANDREW (1994) apontaram que no intestino de pintos recém-eclodidos existem células EC, sendo abundantes no duodeno e na região cranial do íleo.

A ocorrência de células endocrinas imunorreativas à serotonina, somatostantina, motilina e PYY foram detectadas no duodeno de pardal por MENDES et al. (2009)

2.1.3.3 Anfíbios

Células endócrinas reativas à somatostatina, glucagon, polipeptídeo pancreático, secretina, polipeptídeo inibidor gástrico e peptídeo pentagastrina (GTPP) foram identificadas na mucosa do intestino delgado de *Bufo regularis*, enquanto células para neurotensina foram vistas apenas na mucosa do íleo (EL-SALHY et al., 1981).

PUZYREV et al. (1986) afirmaram, por meio da utilização dos métodos de microscopias de luz e eletrônica, que células endócrinas da mucosa duodenal de rã se encontram distribuídas entre os enterócitos do revestimento da superfície mucosa. Seis tipos de células endócrinas foram identificados com base no tamanho e em características granulares.

RAJJO et al. (1988), estudando o tubo digestivo de *Rana catesbeiana* (rã-touro), atualmente denominada *Lithobates catesbeianus*, comprovaram a presença de células endócrinas contendo colecistoquinina no antro e duodeno.

No intestino de *Rana temporaria,* foram identificadas numerosas células endócrinas imunorreativas à serotonina, somatostatina e peptídeo semelhante ao glucagon-1 (GLP-1), número moderado de células de PYY, L, VIP e G/CCK e poucas células imunorreativas a polipeptídeo pancreático (PP), bombesina, substância P e neurotensina (VALVERDE et al., 1993).

Utilizando os métodos imuno-histoquímico e ultraestrutural, foi possível encontrar no intestino delgado de *Rana esculenta*, a presença de células imunorreativas à somatostatina. Essas células diminuem, em número, em direção ao cólon e apresentam

processos citoplasmáticos apicais em direção ao lúmen (TRANDABURU & NURNBERGER, 1995).

MATVEEVA (1998), também combinou métodos de microscopias de luz, eletrônica e histoquímica para identificar células endócrinas no epitélio da mucosa do intestino delgado de *Rana temporaria*. A microscopia eletrônica revelou sete tipos de células endócrinas, nos quais as células EC foram as mais numerosas.

Ao pesquisar sobre o sistema enteropancreático difuso em nove espécies de anfíbios (salamandra, rãs) e répteis (tartaruga, lagartos e cobras), TRANDABURU & TRANDABURU (2007) identificaram a distribuição topográfica de células endócrinas imunorreativas à serotonina no epitélio do intestino de anfíbios e répteis. Relataram ainda, que a ocorrência das células imunorreativas à serotonina nos anfíbios prevaleceu entre as células mucosas e epiteliais.

2.1.3.4 Peixes

NOAILLAC-DEPEYER & HOLLANDE (1981) verificaram imunohistoquimicamente, na mucosa intestinal de perca, peixe-gato e carpa, a presença de células endócrinas G e PP-like.

ELBAL & AGULLEIRO (1986), combinando métodos imunocitoquímicos e de microscopia eletrônica, demonstraram na mucosa do intestino de *Sparus auratus* (pargo-dourado) a presença de células reativas a gastrina, substância P, polipeptídeo pancreático, colecistoquinina e me metionina-encefalina.

ANDREOZZI et al. (1997) reportaram a presença de células e fibras nervosas reativas a polipeptídeo pancreático distribuídas ao longo da mucosa intestinal de *Hypophthalmicchtys molitrix* (carpa) e *Carassius auratus*, entretanto, essas células e fibras nervosas foram encontradas apenas no intestino anterior de *Lepomis gibbosus*.

GOMEZ-VISUS et al. (1998) detectaram, no intestino de *Dicentrarchus labrax* (perca), a coexistência de células imunorreativas a polipeptídeo pancreático, polipeptídeo tirosina tirosina e neuropeptídio Y, onde algumas células também apresentaram reatividade ao glucagon.

2.1.3.5 Répteis

Em *Testudo graeca*, PEREZ-TOMAS et al. (1989a), constataram a presença de células L na região caudal do intestino delgado e células D, B e N ao longo desse órgão.

Foram identificadas imunohistoquimicamente, no epitélio da mucosa do intestino delgado de *Chrysemys dorbigini* e *Phrynops hilarii*, células endócrinas do tipo aberto reativas ao peptídeo insulina (MUNIZ et al., 1991).

Células endócrinas imunorreativas a G/CCK e PYY/PP foram observadas na mucosa do intestino delgado de *Podarcis hispanica* (lagarto) (BURREL et al., 1992). Peptídeos neuroendócrinos, substância P e galanina foram isolados de extratos de intestino de *Gopherus agassizii* (WANG et al., 1999).

Segundo TERAKÇI et al. (2005) células endócrinas imunorreativas à serotonina e insulina estão presentes no duodeno da *Mauremys caspica caspica*. Relataram ainda, a ausência de gastrina, substância P, glucagon, peptídeo relativo ao gen calcitonina (CGRP) e somatostatina.

De acordo com TRANDABURU & TRANDABURU (2007), a presença e distribuição topográfica de células endócrinas imunorreativas à serotonina no intestino dos répteis *Emys orbicularis* e *Natrix natrix*, ocorrem somente no epitélio das criptas e no terço inferior dos vilos intestinais.

Células endócrinas do tipo argirófilas e argentafins foram identificadas no epitélio de revestimento da mucosa do duodeno do *K. scorpioides*. As células que atingem a luz do órgão com seus processos citoplasmáticos denominadas “tipo aberto”, e as de localização próximo a membrana basal “tipo fechado” (PEREIRA, 2000).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais

Na presente pesquisa foram utilizados fragmentos de esôfago, estômago e duodeno de 12 exemplares adultos (sete machos e cinco fêmeas) de *K. scorpioides* incluídos em blocos com parafina. O material utilizado é decorrente de outros projetos de pesquisa desenvolvidos por Pereira (2000), sob licença do INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS (IBAMA/MA), processo Nº 001860/97- 44, licença Nº 001 e processo Nº 02012.0011860/97- 44, licença Nº 003/98.

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Anatomopatologia do Curso de Medicina Veterinária do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual do Maranhão, campus Paulo VI – São Luís, MA.

Todos os procedimentos descritos foram aprovados pela Comissão de Ética e Bem Estar Animal (CEBEA) da FCAV-UNESP - Jaboticabal, protocolo nº 012819.

3.2 Processamento histológico do material

Cortes semi-seriados de 4 µm de espessura foram obtidos em micrótomo rotativo[1], distendidos em banho-maria histológico[2], e fixados em lâminas histológicas previamente tratadas. De cada órgão foram preparadas cerca de 10 lâminas contendo pelo menos dois cortes em cada uma, a fim de serem submetidas às técnicas de coloração de acordo com o seguinte protocolo:

As lâminas foram analisadas com auxílio de microscópio de luz binocular[3], em aumentos de 100 e 400 X, e documentadas fotograficamente por meio de câmara fotográfica[4].

---

[1] Mícron HM-360 - Zeiss
[2] OMA MJ72
[3] Axiostar plus - Zeiss
[4] Canon

3.2.1 Descrição das técnicas de coloração utilizadas

3.2.1.1 Técnica da Peroxidase Anti Peroxidase - PAP (STENBERGER et al., 1970)

A imuno-histoquímica mediante a técnica (PAP) para marcação de serotonina material embebido em parafina, dos órgãos estudados, foi realizada visando detectar a presença do hormônio nas células enteroendócrinas do esôfago, estômago e duodeno. Na seqüência, as lâminas, contendo cortes parafinados de tecidos, foram desparafinadas em xilol por 20 minutos, hidratadas em soluções decrescentes de álcoois (álcool absoluto, 90^{o}, 80^{o} e 70^{o} respectivamente) e submetidas a um banho em PBS ("Phosphate Buffer Saline"- pH 7,2, 0,01M). Posteriormente foi realizado o bloqueio da peroxidase endógena adicionando-se ao banho de PBS o peróxido de hidrogênio (30 volumes diluída a 4% em PBS), por 30 minutos à temperatura ambiente. As lâminas foram, então, cobertas com solução de bloqueio de sítios de ligações inespecíficas (soro normal de porco na diluição de 1:30), e incubadas em câmara úmida por 30 minutos à temperatura ambiente. Em seguida, as lâminas foram lavadas em 3 banhos de PBS de 5 min. cada. Logo após, o anticorpo primário (soro monoclonal de camundongo anti-serotonina) foi adicionado em quantidade suficiente para recobrir os cortes, sendo as lâminas incubadas por 18 a 24 horas em câmara úmida a 4°C. A seguir, adicionou-se o anticorpo secundário na diluição de 1:50 (soro de porco de anti - camundongo), sendo as lâminas novamente incubadas em câmara úmida por 30 minutos à temperatura ambiente, e em seguida lavadas em 3 banhos de PBS de 5 min. cada. Foi adicionado, então, o complexo peroxidase anti-peroxidase na diluição de 1:150 seguido de incubação por 30 minutos em câmara úmida à temperatura ambiente, e lavadas em 3 banhos de PBS de 5 min. cada. A reação foi revelada utilizando-se solução de Diaminobenzidina (DAB) a 0,024% em PBS acrescida de solução de peróxido de hidrogênio 40 volumes a 0,16% em PBS, por cinco minutos à temperatura ambiente. Posteriormente, ocorreu a lavagem das lâminas em água corrente e contra-coloração com Hematoxilina de Harris. As lâminas forão então desidratadas em

soluções de álcoois crescentes (70°, 80°, 90° e álcool absoluto), diafanizadas em xilol, e montadas com bálsamo sintético.

Para cada bateria de 20 lâminas utilizou-se um controle negativo e um positivo. Como controle negativo, utilizou-se PBS, em substituição ao anticorpo primário. Como controle positivo foi utilizado uma lâmina com corte histológico de intestino de gambá. E as leituras das lâminas foram realizadas em microscópio óptico de luz.

3.2.1.2 Técnica da Estreptoavidina-Peroxidase para detecção de gastrina (TAFURI et al., 2004)

Os cortes das três regiões do esôfago, estômago e duodeno também foram submetidos à técnica da Estreptoavidina peroxidase para detecção de antígenos de gastrina presente no epitélio do esôfago, epitélio e glândulas do estômago e epitélio do duodeno do muçuã, conforme descrição a seguir:

Na sequência, os cortes de tecidos, foram desparafinados em xilol por 20 minutos, hidratados em soluções decrescentes de álcoois (álcool absoluto, 90°, 80° e 70°, respectivamente) e submetidos a um banho em PBS ("Phosphate Buffer Saline"- pH 7,2, 0,01M). Posteriormente, fez-se o bloqueio da peroxidase endógena adicionando-se ao banho de PBS o peróxido de hidrogênio (30 volumes diluída a 4% em PBS), por 30 minutos à temperatura ambiente. As lâminas foram, então, cobertas com solução de bloqueio de sítios de ligações inespecíficas (Leite em pó desnatado diluído em PBS -12g de leite em 200 mL de PBS) e incubadas em câmara úmida por 30 minutos à temperatura ambiente. Logo após, o anticorpo primário[5] (anticorpo de coelho anti-gastrina, na diluição de 1:100 em BSA – soro albumina bovina) foi adicionado em quantidade suficiente para recobrir os fragmentos, sendo as lâminas incubadas por 18 a 24 horas em câmara úmida a 4°C. A seguir, adicionou-se o anticorpo secundário biotinilado (anticorpo biotinilado de cabra anti-coelho na diluição de 1:100 - Sistema de detecção Ultra Estreptavidina – EP – USA/5000) e as lâminas foram novamente incubadas em câmara úmida por 30 minutos à temperatura ambiente. Adicionou-se,

[5] Laboratório novocastra™

então, o complexo estreptoavidina peroxidase seguido de incubação por 30 minutos em câmara úmida à temperatura ambiente. A reação foi revelada utilizando-se solução de Diaminobenzidina (DAB) a 0,024% em PBS acrescida de solução de peróxido de hidrogênio 40 volumes a 0,16% em PBS, por cinco minutos à temperatura ambiente. Posteriormente, fez-se a lavagem das lâminas em água corrente e contra-coloração com Hematoxilina de Harris. As lâminas foram então desidratadas em álcoois crescentes (70^{o}, 80^{o} 90^{o} e álcool absoluto), diafanizadas em xilol, e montadas com bálsamo sintético.

Para cada bateria de 20 lâminas utilizou-se um controle negativo e um positivo. Como controle negativo, utilizou-se PBS, em substituição ao anticorpo primário. Como controle positivo foi utilizado uma lâmina com corte histológico de estômago de cão. E as leituras das lâminas foram realizadas em microscópio óptico de luz.

3.2.1.3 Técnica da Estreptoavidina-Peroxidase para detecção de enteroglucagon (TAFURI et al., 2004)

Os cortes das três regiões do esôfago, estômago e duodeno foram submetidos à técnica da Estreptoavidina peroxidase para detecção de antígenos de enteroglucagon presente no epitélio do esôfago, epitélio e glândulas do estômago e epitélio do duodeno do muçuã, conforme descrição que se segue:

Na sequência, os cortes de tecidos, foram desparafinados em xilol por 20 minutos, hidratados em soluções decrescentes de álcoois (álcool absoluto, 90^{o}, 80^{o} e 70^{o}, respectivamente) e submetidos a um banho em PBS ("Phosphate Buffer Saline"- pH 7,2, 0,01M). Posteriormente fez-se o bloqueio da peroxidase endógena adicionando-se ao banho de PBS o peróxido de hidrogênio (30 volumes diluída a 4% em PBS), por 30 minutos à temperatura ambiente. As lâminas foram, então, cobertas com solução de bloqueio de sítios de ligações inespecíficas (Leite em pó desnatado diluído em PBS - 12g de leite em 200 mL de PBS) e incubadas em câmara úmida por 30 minutos à temperatura ambiente. Logo após, o anticorpo primário[6] (anticorpo de coelho anti-

[6] Laboratório novocastra™

glucagon, na diluição de 1:50 em BSA – soro albumina bovina) foi adicionado em quantidade suficiente para recobrir os fragmentos, sendo as lâminas incubadas por 18 a 24 horas em câmara úmida a 4°C. A seguir, adicionou-se o anticorpo secundário biotinilado (anticorpo biotinilado de cabra anti-coelho na diluição de 1:100 - Sistema de detecção Ultra Estreptavidina – NCL – $GLUC_P$) e as lâminas foram novamente incubadas em câmara úmida por 30 minutos à temperatura ambiente. Adicionou-se, então, o complexo estreptoavidina peroxidase seguido de incubação por 30 minutos em câmara úmida à temperatura ambiente. A reação foi revelada utilizando-se solução de Diaminobenzidina (DAB) a 0,024% em PBS acrescida de solução de peróxido de hidrogênio 40 volumes a 0,16% em PBS, por cinco minutos à temperatura ambiente. Posteriormente, fez-se a lavagem das lâminas em água corrente e contra-coloração com Hematoxilina de Harris. As lâminas foram então desidratadas em álcoois crescentes (70^o, 80^o 90^o e álcool absoluto), diafanizadas em xilol, e montadas com bálsamo sintético.

Para cada bateria de 20 lâminas utilizou-se um controle negativo e um positivo. Como controle negativo, utilizou-se PBS, em substituição ao anticorpo primário. Como controle positivo foi utilizado uma lâmina com corte histológico de estômago de cão.

3.2.1.4 Técnica da Estreptoavidina-Peroxidase para detecção de motilina (TAFURI et al., 2004)

Os cortes do esôfago, estômago e duodeno foram submetidos à técnica da Estreptoavidina peroxidase para detecção de antígenos de motilina presente no epitélio do esôfago, epitélio e glândulas do estômago e epitélio do duodeno do muçuã, conforme descrição a seguir:

Foi usada a técnica imuno-histoquímica para marcação de motilina em material embebido em parafina, visando detectar a presença do hormônio nos órgãos. Na sequência, os cortes de tecidos, foram desparafinados em xilol por 20 minutos, hidratados em soluções decrescentes de álcoois (álcool absoluto, 90^o, 80^o e 70^o, respectivamente) e submetidos a um banho em PBS (“Phosphate Buffer Saline”- pH

7,2, 0,01M). Posteriormente, fez-se o bloqueio da peroxidase endógena adicionando-se ao banho de PBS o peróxido de hidrogênio (30 volumes diluída a 4% em PBS), por 30 minutos à temperatura ambiente. As lâminas foram, então, cobertas com solução de bloqueio de sítios de ligações inespecíficas (Leite em pó desnatado diluído em PBS - 12g de leite em 200 mL de PBS) e incubadas em câmara úmida por 30 minutos à temperatura ambiente. Logo após, o anticorpo primário[7] (anticorpo de coelho anti-motilina, na diluição de 1:50 em BSA – soro albumina bovina) foi adicionado em quantidade suficiente para recobrir os fragmentos, sendo as lâminas incubadas por 18 a 24 horas em câmara úmida a 4°C. A seguir, adicionou-se o anticorpo secundário biotinilado (anticorpo biotinilado de cabra anti-coelho na diluição de 1:100 - Sistema de detecção Ultra Estreptavidina – e as lâminas foram novamente incubadas em câmara úmida por 30 minutos à temperatura ambiente. Adicionou-se, então, o complexo estreptoavidina peroxidase seguido de incubação por 30 minutos em câmara úmida à temperatura ambiente. A reação foi revelada utilizando-se solução de Diaminobenzidina (DAB) a 0,024% em PBS acrescida de solução de peróxido de hidrogênio 40 volumes a 0,16% em PBS, por cinco minutos à temperatura ambiente. Posteriormente fez-se a lavagem das lâminas em água corrente e contra-coloração com Hematoxilina de Harris. As lâminas foram então desidratadas em álcoois crescentes (70°, 80° 90° e álcool absoluto), diafanizadas em xilol, e montadas com bálsamo sintético.

Para cada bateria de 20 lâminas utilizou-se um controle negativo e um positivo. Como controle negativo, utilizou-se PBS, em substituição ao anticorpo primário. Como controle positivo foi utilizado uma lâmina com corte histológico de estômago de cão.

[7] Laboratório novocastra™

4. RESULTADOS

4.1 Esôfago

4.1.1 Células imunorreativas à serotonina

Células imunorreativas à serotonina foram identificadas na região caudal do esôfago do *K. scorpioides* (Figuras 1, 2). Tais células endócrinas foram classificadas como do “tipo aberta” e “tipo fechada”, conforme a proximidade com a luz do órgão. Nas regiões cranial e média não houve detecção dessas células.

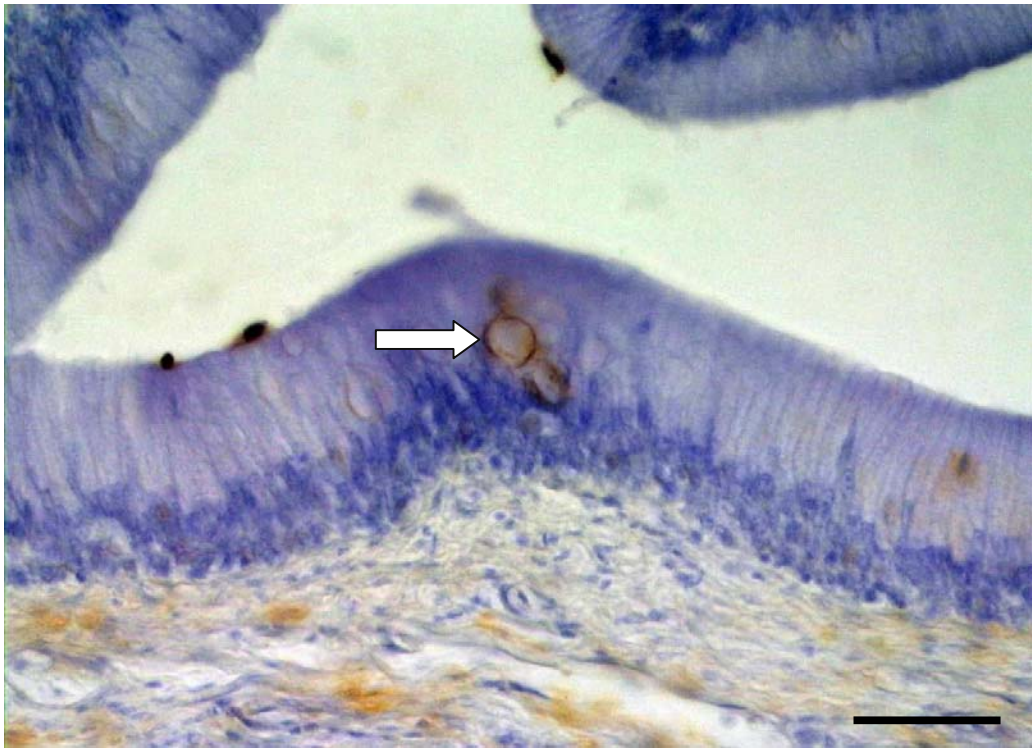


Figura 1. Fotomicrografia da região caudal do esôfago de *K. scorpioides* onde se observam células imunorreativas à serotonina – seta, PAP; (Barra=25 µm).

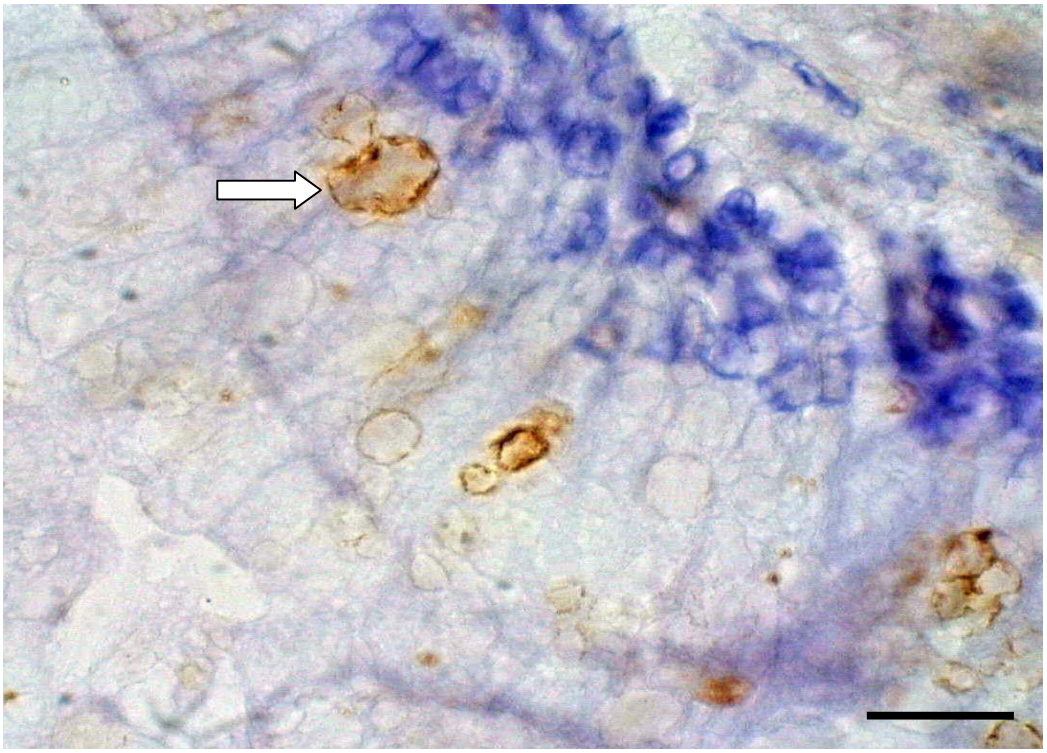


Figura 2. Fotomicrografia da região caudal do esôfago de *K. scorpioides* com células imunorreativas à serotonina – seta, PAP; (Barra=15 µm).

4.1.2 Células imunorreativas à gastrina

Nesta pesquisa, nenhuma célula imunorreativa à gastrina foi identificada no esôfago de *K. scorpioides.*

4.1.3 Células imunorreativas ao enteroglucagon

Por meio da técnica de imuno-histoquimica estreptoavidina – peroxidase, constatou-se a ausência de células imunorreativas ao hormônio enteroglucagon no epitélio de revestimento da mucosa esofágica.

Verificou-se a marcação ao enteroglucagon, a qual se deu na superfície dos cílios, no epitélio de revestimento da mucosa esofágica (Figura 3). Essa marcação, localiza-se também por todas as fibras nervosas da lâmina própria e submucosa (Figura 4) do órgão.



Figura 3. Fotomicrografia da região cranial do esôfago de *K. scorpioides* com marcação para glucagon na superfície dos cílios, estreptoavidina – peroxidase; (Barra=25 µm).

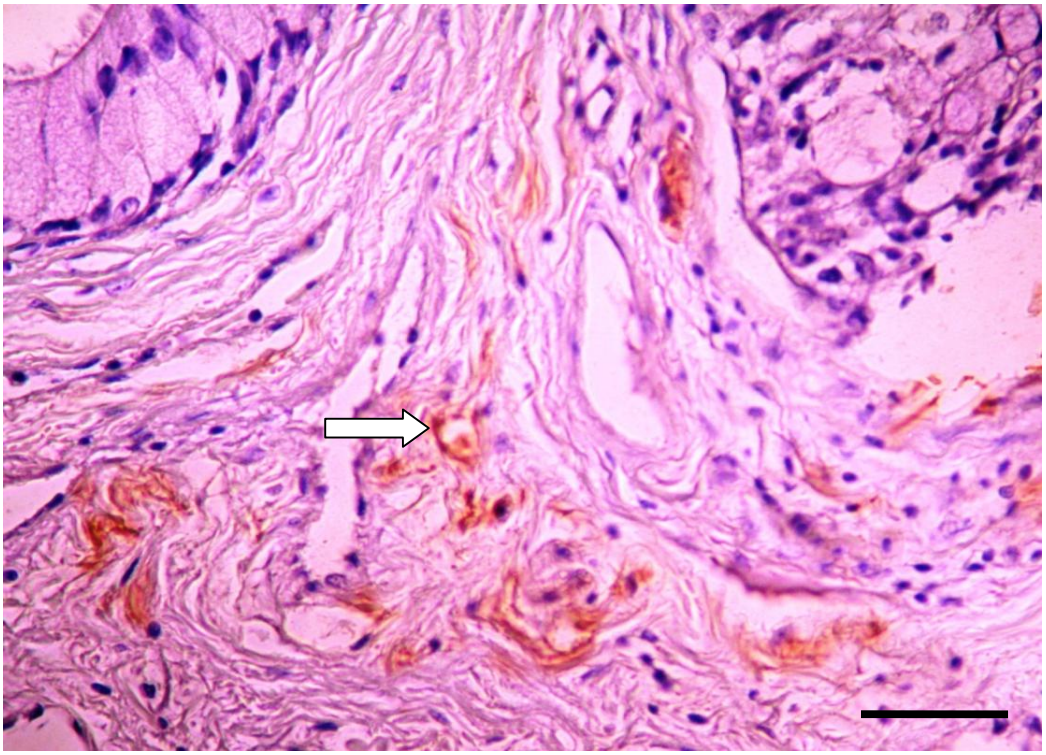


Figura 4. Fotomicrografia da região cranial do esôfago de *K. scorpioides* com marcação para glucagon na lâmina própria e submucosa - seta, estreptoavidina – peroxidase; (Barra=25 µm).

.

4.1.4 Células imunorreativas à motilina

A marcação localiza-se também por todas as fibras nervosas da lâmina própria e submucosa (Figura 5) do órgão. Ocorrendo também a marcação nas fibras nervosas das túnicas muscular e adventícia (Figura 6).

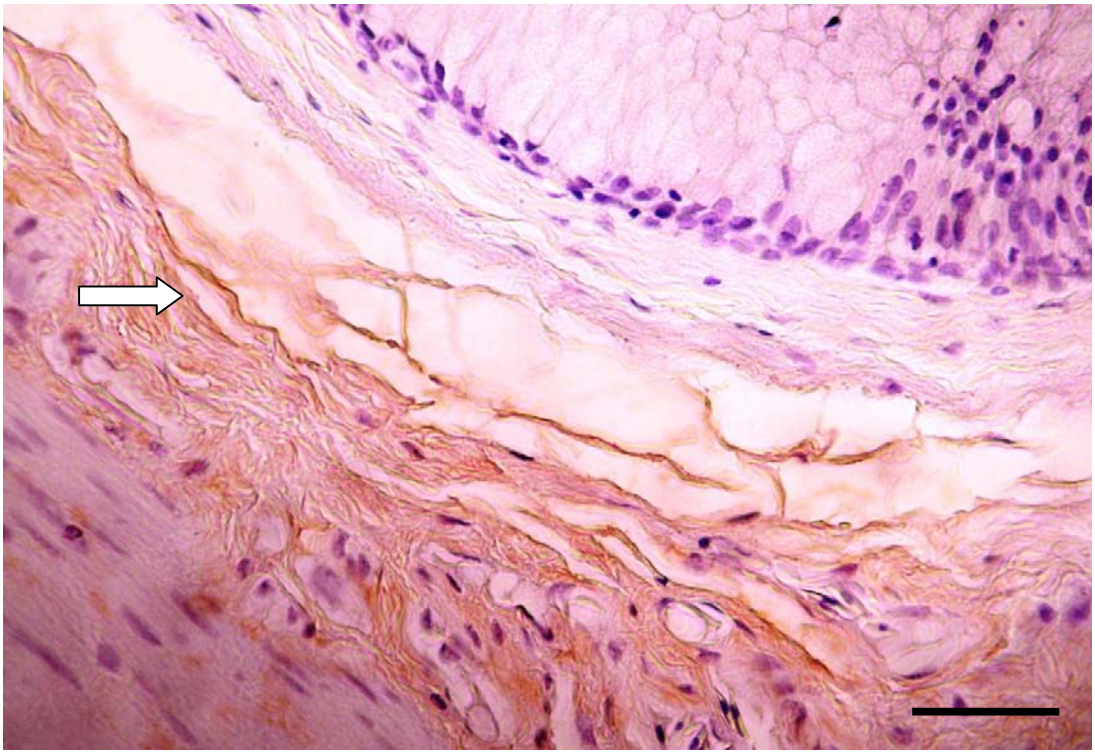


Figura 5. Fotomicrografia da região caudal do esôfago de *K. scorpioides* com marcação para motilina na lâmina própria e submucosa - seta, estreptoavidina – peroxidase; (Barra=25 µm).

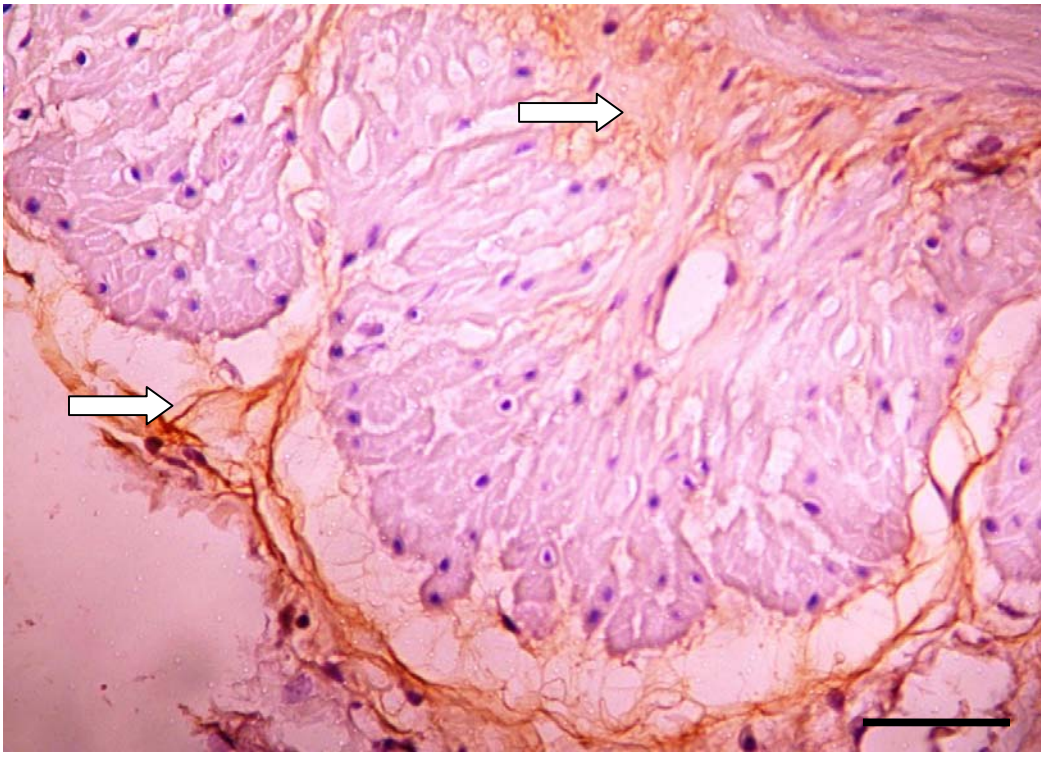


Figura 6. Fotomicrografia região média do esôfago de *K. scorpioides* com marcação para motilina nas fibras nervosas das túnicas muscular e adventícia – setas, estreptoavidina – peroxidase; (Barra=25 µm).

4.2 Estômago

4.2.1 Células imunorreativas à serotonina

Células endócrinas imunorreativas a serotonina foram identificadas na mucosa gástrica das regiões cárdica (Figura 7), fúndica e pilórica de *K. scorpioides*, porém nas duas últimas regiões aparentemente em maior quantidade (Figuras 8 e 9), sendo também classificadas como do “tipo aberta” e “tipo fechada”, conforme a proximidade com a luz do órgão.

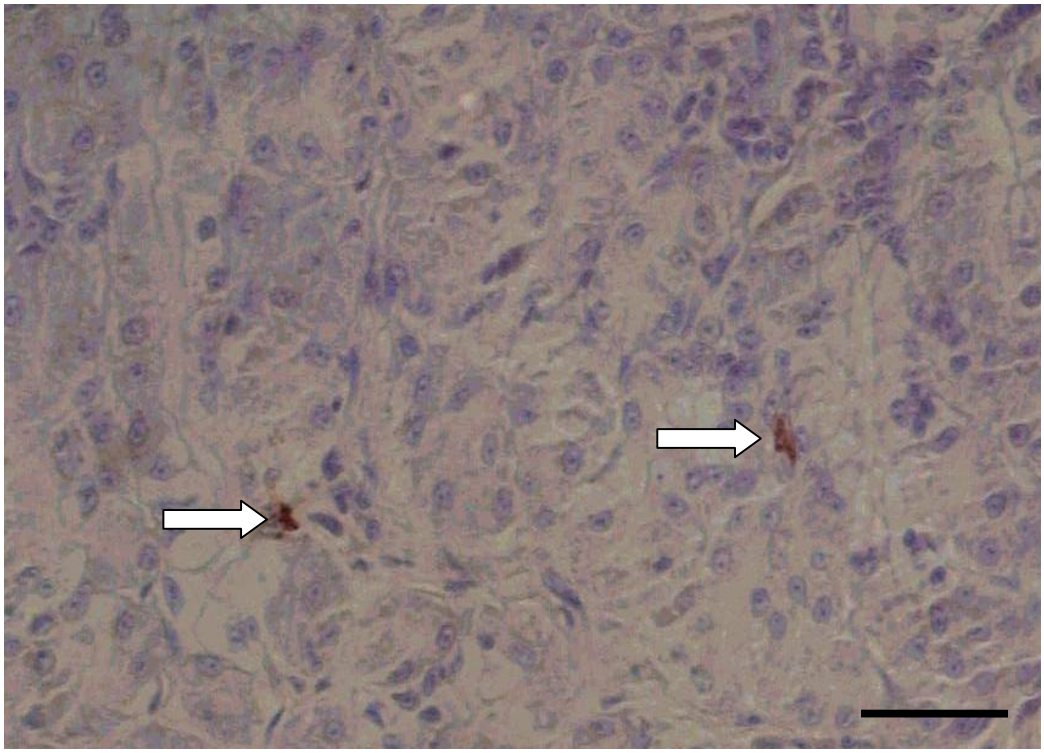


Figura 7. Fotomicrografia da região cárdica do estômago de *K. scorpioides* com células imunorreativas à serotonina - setas, PAP, (Barra=25 µm).

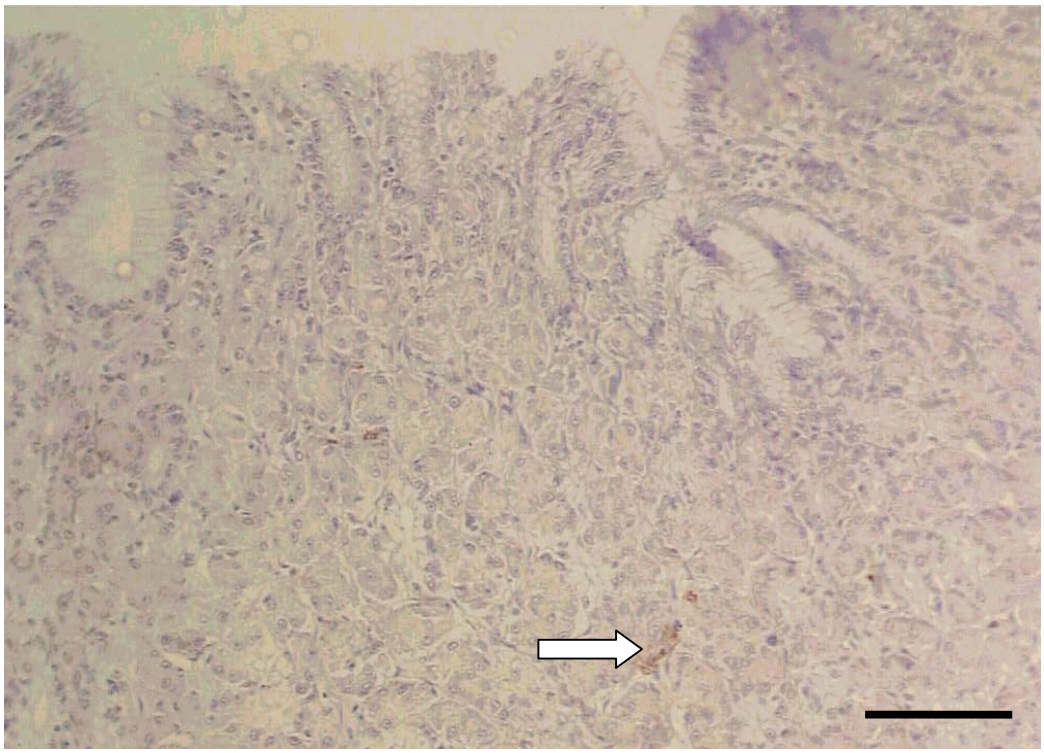


Figura 8. Fotomicrografia da região fúndica do estômago de *K. scorpioides* com células imunorreativas à serotonina – seta, PAP, (Barra=50 µm).

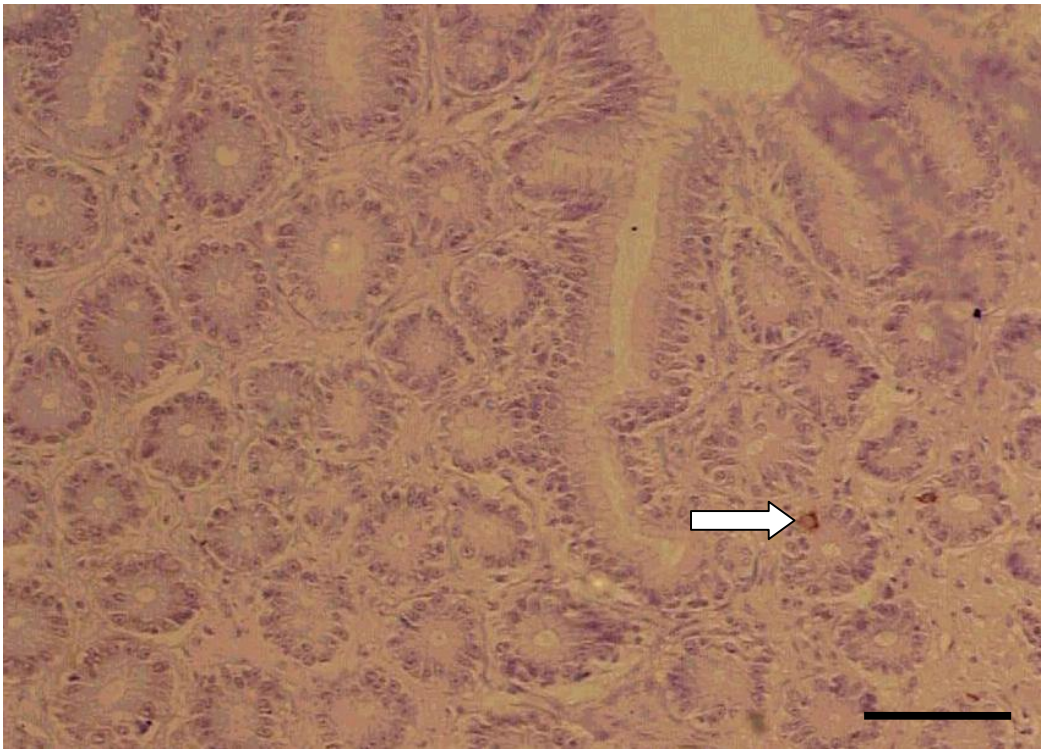


Figura 9. Fotomicrografia da região pilórica do estômago de *K. scorpioides* com células imunorreativas à serotonina - seta, PAP, (Barra=50 µm).

4.2.2 Células imunorreativas à gastrina

As células imunorreativas à gastrina estavam presentes, porém com marcação reduzida na região cárdica (Figura 10), ausente na fúndica, e aparentemente em grande quantidade entre as células das glândulas da região pilórica (Figura 11).

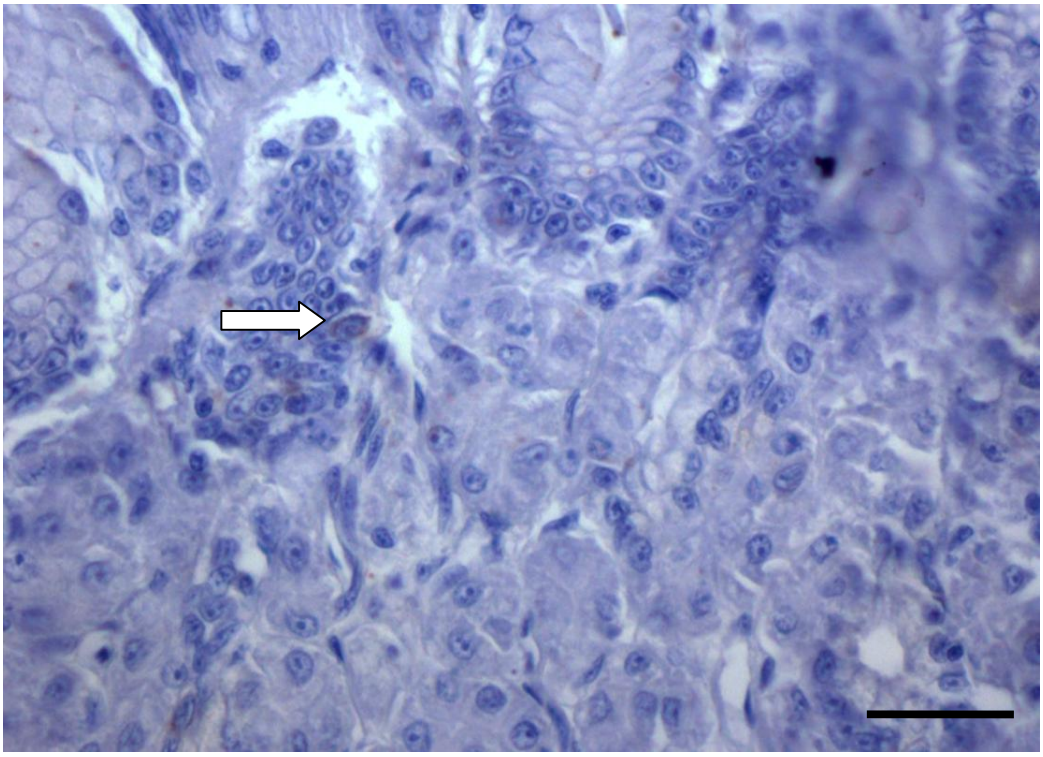


Figura 10. Fotomicrografia da região cárdica do estômago de *K. scorpioides* com células imunorreativas à gastrina, estreptoavidina – peroxidase, (Barra=25 µm).

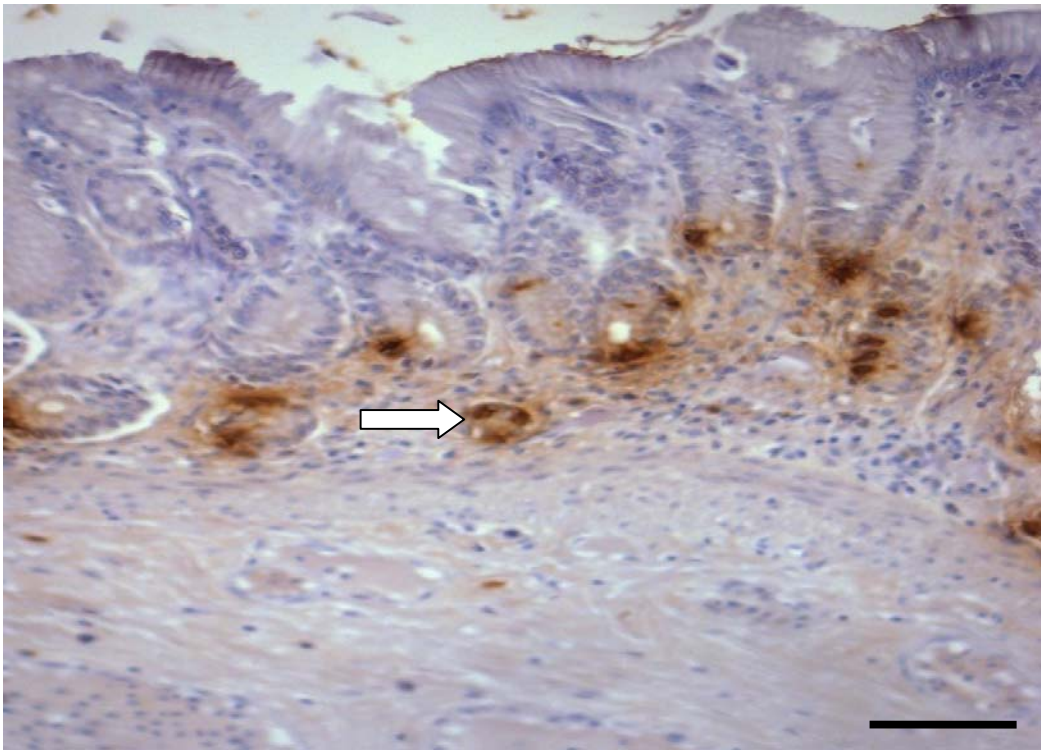


Figura 11. Fotomicrografia de células imunorreativas à gastrina nas glândulas da região pilórica do estômago de *K. scorpioides* – seta, estreptoavidina – peroxidase; (Barra=50 µm).

4.2.3 Células imunorreativas ao enteroglucagon

Células imunorreativas ao enteroglucagon estavam localizadas entre as células que constituem as glândulas nas regiões cárdica (Figura 12), fúndica (Figura 13) e pilórica (Figura 14), porém nas duas primeiras regiões o número de células foi moderado, enquanto na última região apresentou numerosas células.

As células imunorreativas ao enteroglucagon apresentaram menor freqüência relativa quando comparadas aos outros hormônios já estudados.

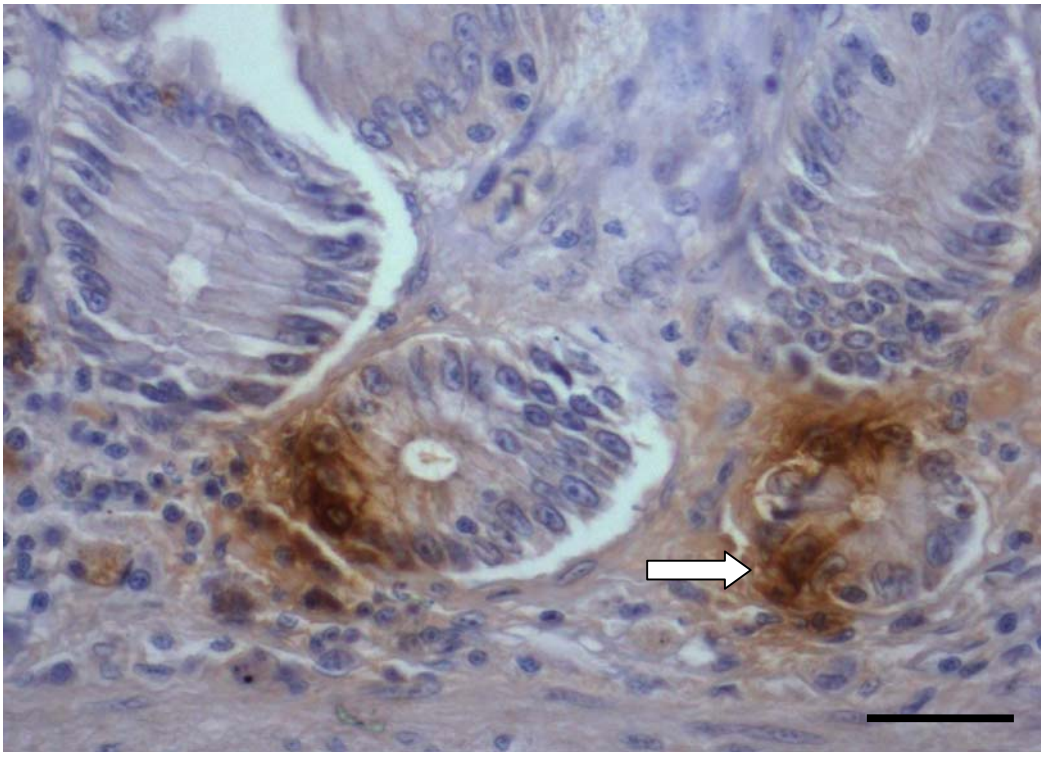


Figura 12. Fotomicrografia com células imunorreativas ao enteroglucagon nas glândulas da região cárdica do estômago de *K. scorpioides* – seta (400X), estreptoavidina – peroxidase; (Barra=25 µm).

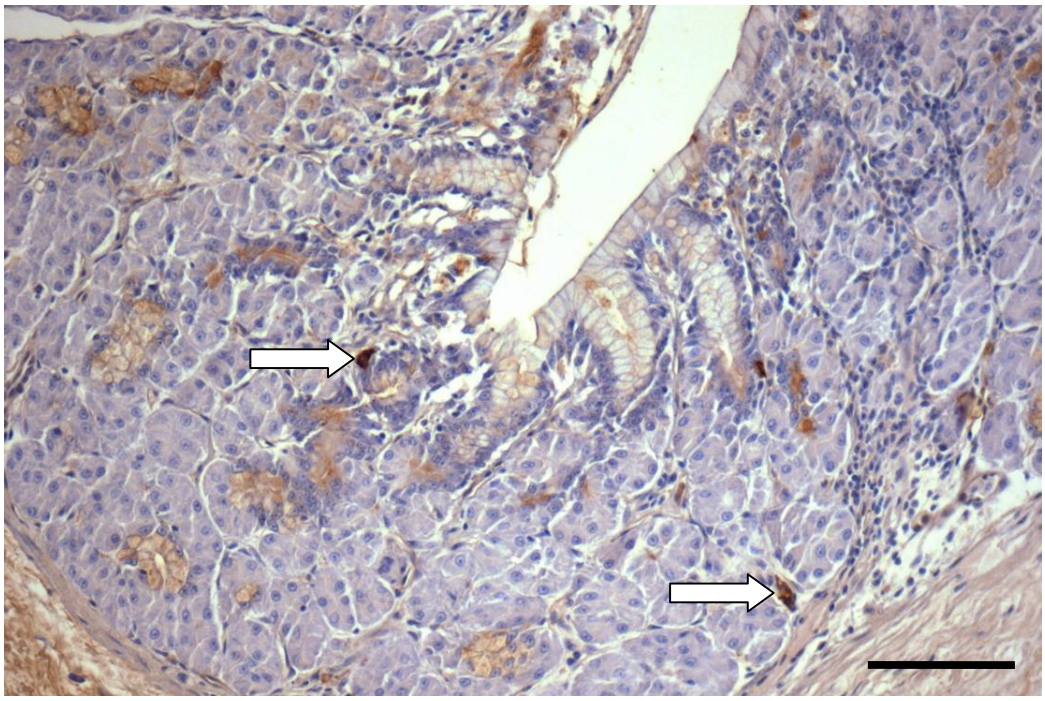


Figura 13. Fotomicrografia com células imunorreativas a enteroglucagon (setas) nas glândulas da região fúndica do estômago de *K. scorpioides* (200X), estreptoavidina – peroxidase; (Barra=50 µm).

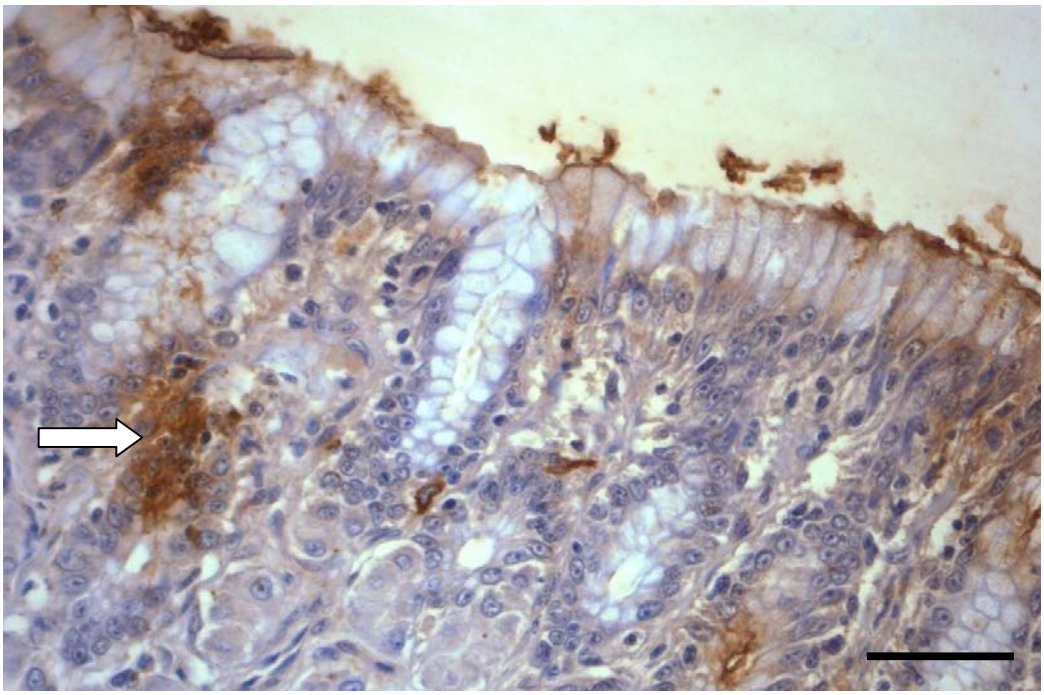


Figura 14. Fotomicrografia com células imunorreativas a enteroglucagon (seta) nas glândulas da região pilórica do estômago de *K. scorpioides*, estreptoavidina – peroxidase; (Barra=25 µm).

4.3 Intestino delgado - Duodeno

4.3.1 Células imunorreativas à serotonina

Como resultado da pesquisa, utilizando a técnica do PAP, constatou-se a presença de células imunorreativas à serotonina no epitélio de revestimento da mucosa duodenal (Figura 15), com maior distribuição dessas células na região das criptas intestinais, sendo também classificadas como do “tipo aberta”, que emitem processos citoplasmáticos para a luz do órgão, e “tipo fechada” localizadas próximo à membrana basal.

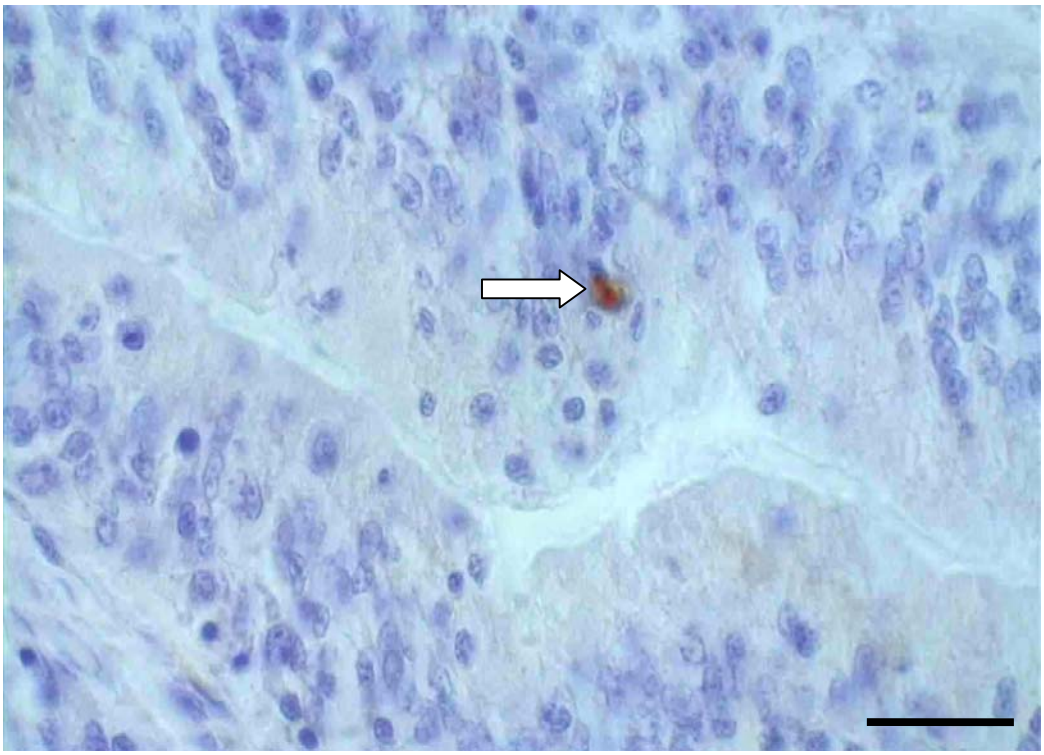


Figura 15. Fotomicrografia com célula imunorreativa à serotonina (seta) no epitélio de revestimento do duodeno de *K. scorpioides*, PAP; (Barra=15 µm).

4.3.2 Células imunorreativas à gastrina

Detectou-se por meio da técnica imunohistoquímica da estreptoavidina – peroxidase, células imunorreativas à gastrina no epitélio duodenal (Figura 16), com maior distribuição na região das criptas formadas pelas vilosidades (Figura 17).

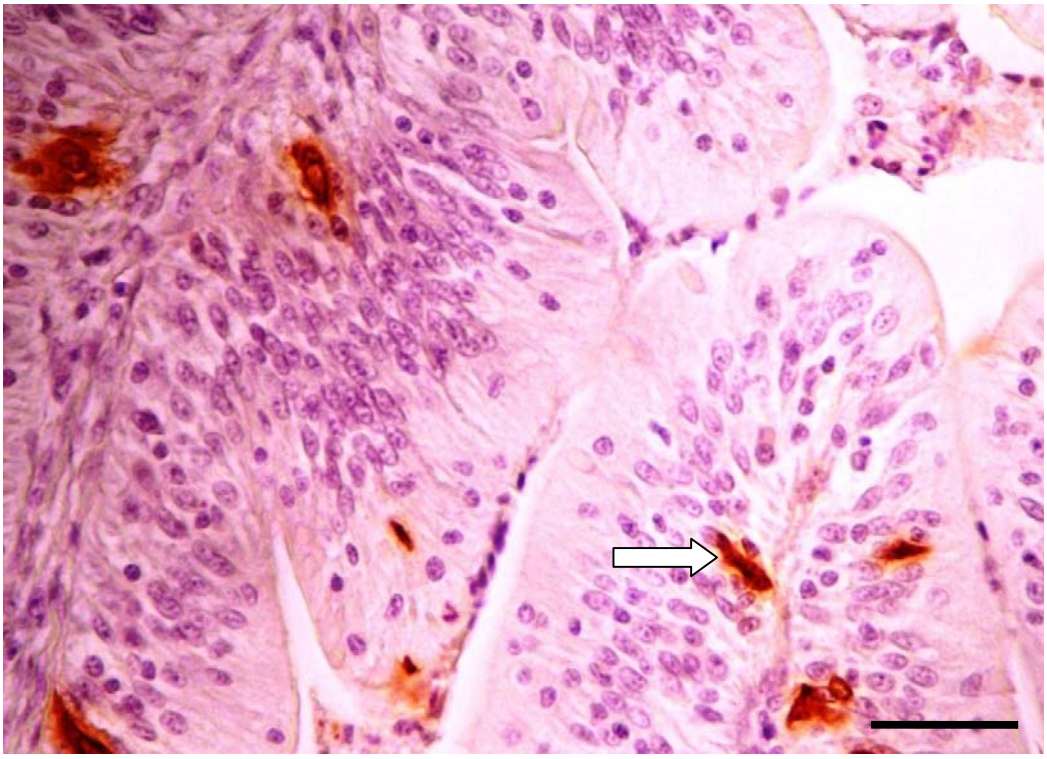


Figura 16. Fotomicrografia das vilosidades do duodeno de *K. scorpioides* com marcação para gastrina nas células epitelias de revestimento - seta, estreptoavidina – peroxidase; (Barra=25 µm).

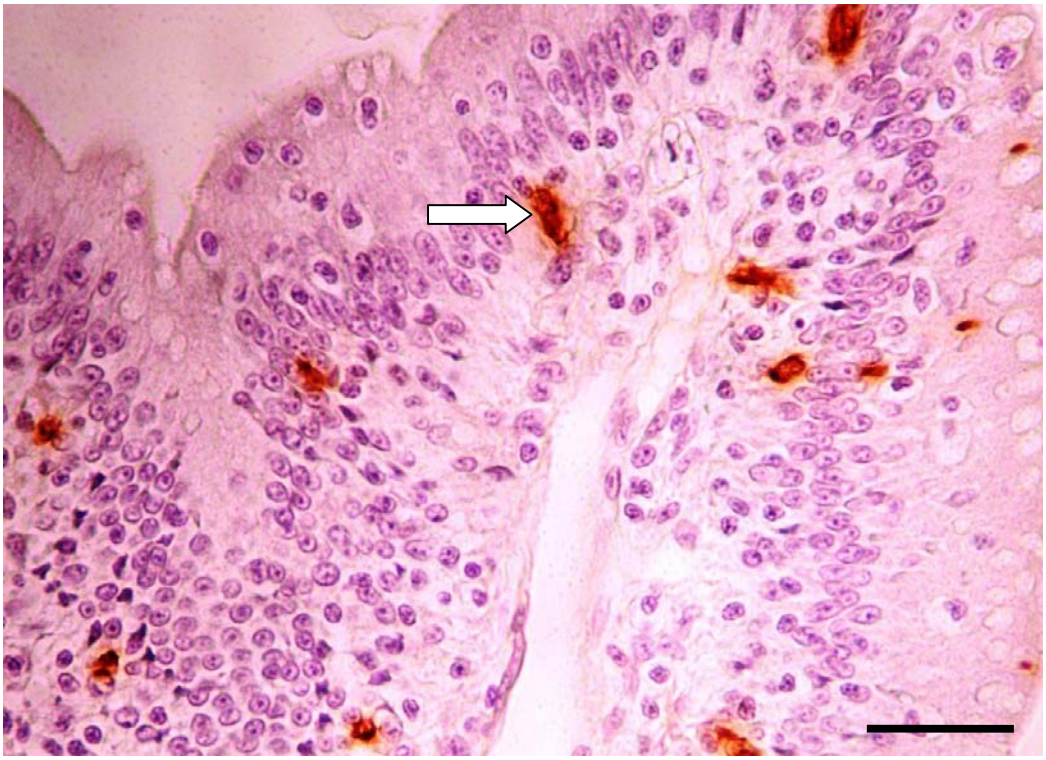


Figura 17. Fotomicrografia das vilosidades do duodeno de *K. scorpioides* com células imunorreativas à gastrina nas células epitelias de revestimento - seta, estreptoavidina – peroxidase; (Barra=25 µm).

4.3.3 Células imunorreativas ao enteroglucagon

Não foram identificadas células imunorreativas ao hormônio enteroglucagon no epitélio de revestimento da mucosa duodenal.

Verificou-se presença de secreção do hormônio enteroglucagon ao longo do epitélio de revestimento da mucosa duodenal, localizando-se por toda a superfície dos microvilos das células (Fugura 18). Ocorreu também a marcação das fibras nervosas na lâmina própria e submucosa do órgão.

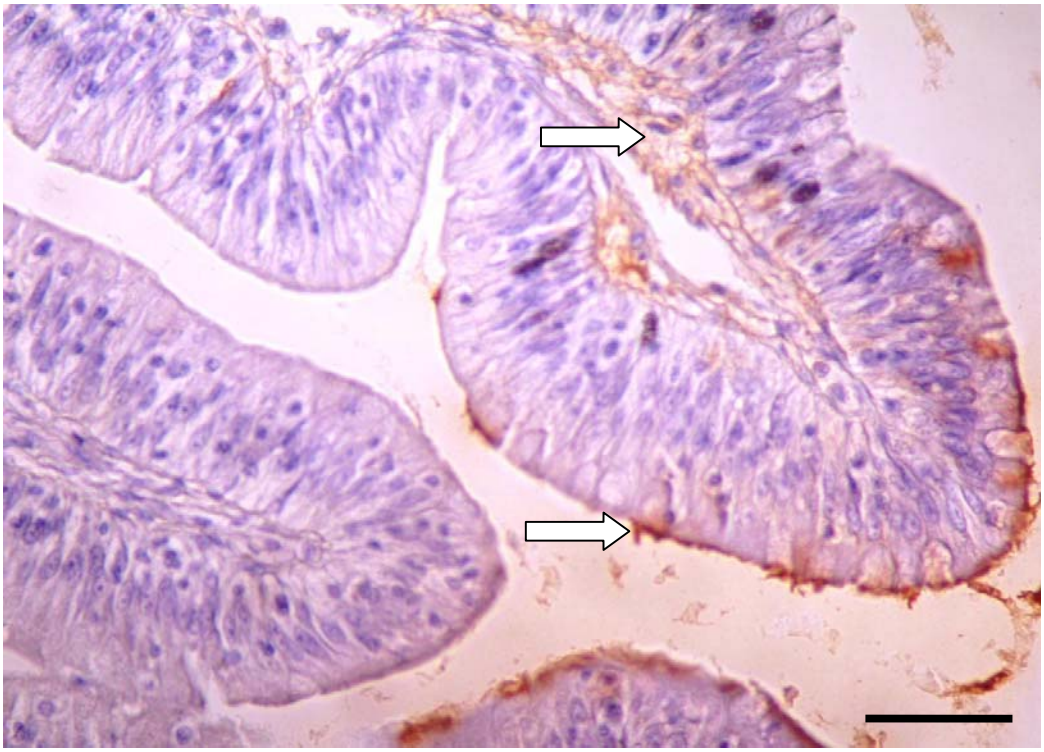


Figura 18. Fotomicrografia das vilosidades do duodeno de *K. scorpioides* com células imunorreativas ao enteroglucagon nas superfícies das células epitelias de revestimento, e das fibras nervosas na lâmina própria e submucosa - setas, estreptoavidina – peroxidase; (Barra=25 µm).

4.3.4 Células imunorreativas à motilina

Não houve imunomarcação no epitélio de revestimento do duodeno de *K. scorpioides*. Ficando a marcação restrita as fibras nervosas da lâmina própria e submucosa das vilosidades do órgão (Figura 19).

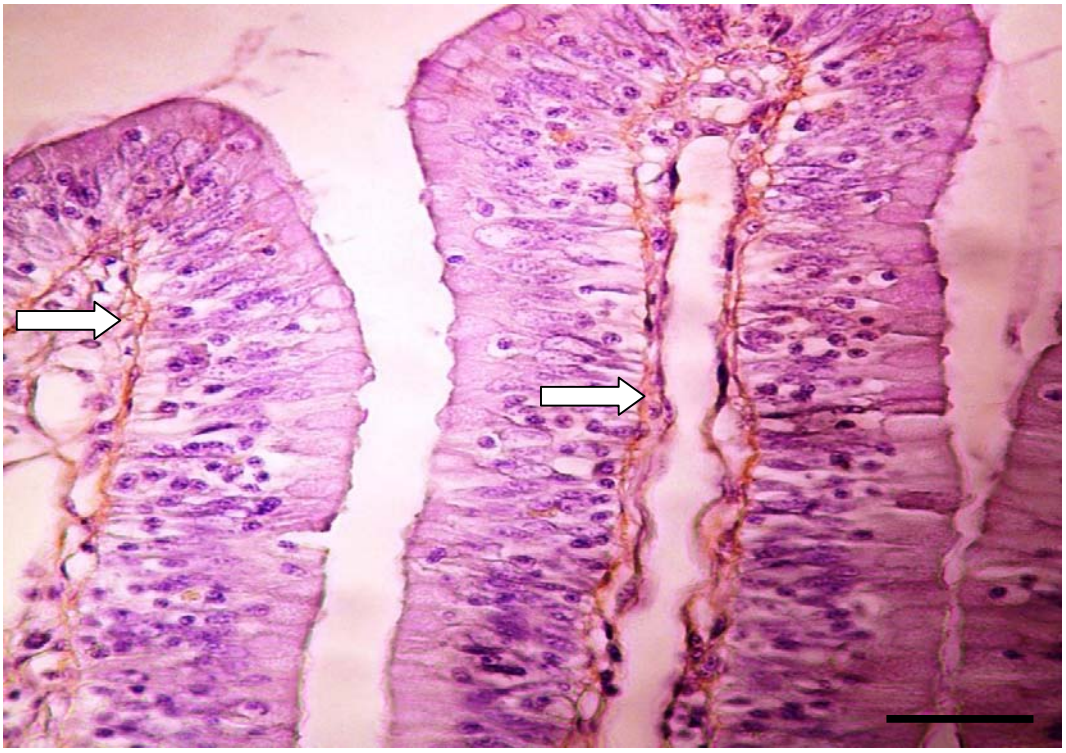


Figura 19. Fotomicrografia das vilosidades do duodeno do *K. scorpioides* com marcação para motilina nas fibras nervosas da lâmina própria e submucosa - setas, estreptoavidina – peroxidase; (Barra=25 µm).

5. DISCUSSÃO

5.1. Esôfago

5.1.1. Células imunorreativas à serotonina

Nesta pesquisa células imunorreativas à serotonina foram identificadas na região caudal do esôfago de *K. scorpioides*. No entanto, não houve detecção dessas células nas regiões cranial e média. Estes achados estão de acordo com as descrições de PEREZ-TOMAS et al. (1989a), que identificaram células imunorreativas à serotonina na região caudal do esôfago de *T. graeca* e, NADA et al. (1984) na mucosa esofágica de *Rana catesbiana,* denominada *Lithobates catesbeianus.*

Outras pesquisas mostraram que as células imunorreativas à serotonina não estão restritas apenas ao esôfago, mas podem ser encontradas ao longo de todo o tubo digestivo, como descrito por LEE & KU (2004) no *Takydromus wolteri Fischer*, KU et al. (2003) na *Rana rugosa,* KU et al. (2001) no *Trachemys scripta elegans, e* KU et al. (2000) na *Bombina orientalis* e (ARENA et al., 1990) em *Egernia kingii*.

As células imunorreativas à serotonina observadas neste órgão provavelmente podem estar envolvidas no mecanismo de regulação do movimento ciliar, como tem sido identificado em células da mucosa palatina de *Rana catesbiana* (MARUYAMA et al., 1984).

5.1.2. Células imunorreativas à gastrina

Nas regiões cranial, média e caudal do esôfago de *K.scorpioides*, não houve detecção de células imunorreativas à gastrina. A gastrina é hormônio secretado pelas células G, presentes principlamente nas regiões antral e pilórica do estômago e duodeno (POLAK et al., 1993).

5.1. 3. Células imunorreativas ao enteroglucagon

Na presente pesquisa, não foram observadas de células imunorreativas ao hormônio enteroglucagon no epitélio de revestimento da mucosa esofágica de *K. scorpioides*. Entretanto, verificou-se que a marcação ocorreu na superfície dos cílios, no

epitélio de revestimento da mucosa esofágica, e que essa marcação localizou-se também, ao longo de fibras nervosas distribuídas na lâmina própria e submucosa do órgão. Alguns estudos demonstraram a presença de enteroglucagon na região distal de esôfago humano (KADUK & BARTH, 1978).

5.1. 4. Células imunorreativas à motilina

A imunorreação para identificação de motilina no esôfago de *K. scorpioides*, localiza-se também em fibras nervosas da lâmina própria e submucosa do órgão. Ocorreu também a marcação nas fibras nervosas das túnicas muscular e adventícia.

5.2. Estômago

A identificação de células endócrinas no estômago de *K. scorpioides*, foi possível com a utilização das técnicas histoquímicas de GRIMELIUS (1968) para detecção de células argirófilas e de Masson – Fontana modificada (BARBOSA et al., 1984) para as células argentafins. As células endócrinas argirófilas e argentafins observadas ao longo do estômago de *K. scorpioides*, localizadas entre as células que compõem as glândulas gástricas, foram classificadas como do “tipo aberto” e “tipo fechado” (PEREIRA, 2000).

LUPPA (1977), ANDREW & HICKMAN (1974) e GEORGE et al.(1998), relataram que as células endócrinas argirófilas em répteis estão localizadas principalmente na região superior das glândulas fúndicas e glândulas pilóricas. Esses resultados assemelham-se aos encontrados nesse órgão de *K. scorpioides* (PEREIRA, 2000).

5.2.1 Células imunorreativas à serotonina

Na presente pesquisa, células endócrinas imunorreativas à serotonina foram identificadas na mucosa gástrica das regiões cárdica, fúndica e pilórica do estômago de *K. scorpioides*, sendo a maior ocorrência observada nas duas últimas regiões. Os tipos celulares também foram classificados como do “tipo aberto” e “tipo fechado”, conforme a proximidade com a luz do órgão. De forma semelhante, células endócrinas imunorreativas à serotonina foram observadas em mamíferos (SEKIZUKA et al., 1975,

ZAVIACIC et al., 1976, HELMSTAEDTER et al., 1977, LUCIANO et al., 1980, OHARA et al., 1986, CALINGASAN et al., 1984, van ASWEGEN et al., 1994, AGUNGPRIYONO et al., 2000 e NISA et al., 2005). Também em aves, células imunorreativas à serotonina foram observadas na mucosa do proventrículo, moela e antropilórica (ANDREW, 1976a, MARTINEZ et al., 1993, CASTALDO & LUCINI, 1994), assim como no proventrículo de pardal-dos-castanheiros, pombo, codorna, pinto, pato, gaivota e águia-de-asa-redonda (YAMADA et al., 1985) e segundo MENDES et al. (2009) no proventrículo e moela de pardal. De forma semelhante, em anfíbios foram identificadas células produtoras de serotonina (DIAZ de RADA et al., 1987, MICHELANGELI et al., 1987; GALLEGO-HUIDOBRO & PASTOR, 1996, KU et al., 2000), bem como em peixes (GARGIULO et al., 1997). Achados semelhantes foram também relatados para répteis: *Caiman latirostris* (YAMADA et al., 1987), *Testudo graeca, Mauremys caspica e Lacerta lepida* (PEREZ-TOMAS et al., 1989b), *Egernia kingii* (ARENA et al., 1990), *Testudo horsfieldi* (IVANOVA et al., 1997), *Trachemys scripta elegans* (KU et al., 2001), *Takydromus wolteri Fischer* (LEE & KU, 2004), *Mauremys caspica caspica* (TERAKÇI et al., 2005).

5.2.2 Células imunorreativas à gastrina

As células imunorreativas à gastrina nesta pesquisa foram identificadas no estômago de *K.scorpioides*, porém em número reduzido na região cárdica, ausente na fúndica, e em grande quantidade entre as células que compõem as glândulas pilóricas.

Em geral, a distribuição de células imunorreativas à gastrina no *K. scorpioides* é similar àquelas descritas em mamíferos (ZAVIACIC et al., 1976, HELMSTAEDTER et al., 1977, OHARA et al., 1986, VAN ASWEGEN et al., 1994, AGUNGPRIYONO et al., 2000, NISA et al., 2005 e SANTOS et al., 2008).

Células imunorreativas à gastrina também foram descritas na região pilórica do estômago de aves, localizadas principlamente na porção basal da glândula (YAMANAKA et al., 1989, BEZUIDENHOUT & VAN ASWEGEN, 1990). A concentração de células imunorreativas à gastrina na região pilórica, já é uma característica bem

conhecida em pássaros (LARSSON et al., 1974, YAMADA et al., 1979, OKAMOTO et al., 1980, RAWDON & ANDREW, 1981, YAMADA et al., 1985).

Em anfíbios têm sido relatada a presença de células imunorreativas à gastrina em *Rana temporaria* (DIAZ de RADA et al., 1987), *Rana perezi* (GALLEGO-HUIDOBRO & PASTOR, 1996). Alguns pesquisadores têm relatado a presença de células produtoras de gastrina no estômago de peixes (NOAILLAC-DEPEYRE & HOLLANDE (1981), ELBAL & AGULLEIRO (1986), ELBAL et al., 1988; GARGIULO et al., 1997; BOSI et al., 2004).

As células imunorreativas à gastrina têm sido descritas no estômago de vários répteis: *Chrysemys picta* (GAPP et al.,1985), *Caiman latirostris* (YAMADA et al. 1987), *Testudo graeca*, *Mauremys caspica* e *Lacerta lepida* (PEREZ-TOMAS et al.,1989a, b), *Egernia kingii* (ARENA et al., 1990), *Hydromantes ambrosii* (FARALDI et al., 1993) *Testudo horsfieldi* (IVANOVA et al., 1997) *Trachemys scripta elegans* (KU et al., 2001) *Gekko japonicus, Eumeces chinensis, Sphenomorphus indicus* e *Eumeces elegans* (HUANG & WU, 2005). Estas células imunorreativas foram identificadas nas glândulas gástricas do estômago. Células imunorreativas à gastrina foram encontradas ao longo do epitélio do estômago em frequências variadas, contrariando os resultados encontrados no *K. scorpioides*, quando essas células foram identificadas apenas nas regiões cárdica e pilórica.

As principais funções da gastrina são: estimular a secreção de ácido gástrico pelas células parietais, o crescimento trófico da mucosa gástrica e intestinal, a secreção de pepsinogênio, a motilidade gástrica, a contração da musculatura na junção esôfago-gástrica (POLAK et al., 1993), participando também no esvaziamento gástrico.

5.2.3 Células imunorreativas ao enteroglucagon

Em relação à distribuição das células imunorreativas ao enteroglucagon nesta pesquisa observou-se que elas estão presentes em quantidade moderada nas regiões cárdica e fúndica, e em grande quantidade na região pilórica.

Igualmente observou-se que o padrão de distribuição das células imunorreativas ao hormônio no estômago de *K. scorpioides* foi semelhante aos estudos realizados em mamíferos (SEKIZUCA et al., 1975, BAETENS et al., 1976, AGUNGPRIYONO et al., 2000, NISA et al., 2005 e SANTOS et al., 2008), em aves (YAMADA et al., 1985, BEZUIDENHOUT & VAN ASWEGEN (1990), MARTINEZ et al., 1993, e MENDES et al., 2009), em anfíbios, células imunorreativas ao enteroglucagon também foram descritas em *Rana temporaria* (DIAZ de RADA et al., 1987), *Rana perezi* (GALLEGO-HUIDOBRO & PASTOR, 1996), em peixes (ELBAL et al., 1988, GARCIA HERNANDEZ et al., 1994, GOMEZ-VISUS et al., 1998) e em répteis (YAMADA et al. 1987) identificaram enteroglucagon na região fúndica do estômago de *Caiman latirostris*, e (PEREZ-TOMAS et al.,(1989b), no sistema endócrino gastroenteropancreático do *Testudo graeca*, *Mauremys caspica* e *Lacerta lepida*.

Células imunorreativas ao glucagon foram detectadas ao longo do estômago do *G. japonicus*, raramente nas glândulas fúndicas de *E. chinesis* e ausentes em *S. indicus e* , *E. elegans* (HUANG & WU, 2005).

KU et al. (2001) estudaram a distribuição regional e frequência relativa de células endócrinas no tubo digestivo de *Trachemys scripta elegans*. Células imunorreativas ao enteroglucagon foram encontradas ao longo do epitélio do estômago em várias frequências. Esse resultado foi semelhante ao encontrado no estômago de *K. scorpioides*, no presente estudo.

5.3. Intestino Delgado – Duodeno

As células endócinas argirófilas e argentafins observadas ao longo das vilosidades do duodeno de *K. scorpioides* estavam localizadas entre as células que compõe o revestimento da mucosa duodenal, e foram classificadas como sendo do “tipo aberto” e “tipo fechado” (PEREIRA, 2000).

Os relatos de LUPPA (1977) sobre células argentafins do duodeno de répteis, HEITZ et al. (1978), de células enterocromafins na mucosa duodenal do homem e REIFEL & LINDEN (1983) de células argirófilas entre as células epiteliais do intestino de

N. crysoleucas foram semelhantes aos observados por PEREIRA (2000) em estudos com *K. scorpioides*.

5.3.1 Células imunorreativas à serotonina

Como resultado desta pesquisa, constatou-se a presença de células imunorreativas à serotonina no epitélio de revestimento da mucosa duodenal de *K. scorpioides*, com maior distribuição dessas células na região das criptas duodenais formadas pelas vilosidades, sendo também classificadas como do "tipo aberto", que emitem processos citoplasmáticos para a luz do órgão, e "tipo fechado" localizadas próximo à membrana basal. As células enterocromafins da mucosa intestinal possuem como função principal a liberação de serotonina. Estas células respondem a estímulos mecânicos e químicos liberando a serotonina que estimulará os neurônios a iniciar a atividade peristáltica. Há evidências de que os receptores de serotonina estão envolvidos na motilidade gastrointestinal. Além disso, pesquisas demonstram que os receptores de serotonina têm função importante no peristaltismo intestinal e podem agir como mecanismo liberador de serotonina em células neuronais ou não neuronais, como as células enterocromafins (PRAUSE et al., 2009).

Os resultados observados nesta pesquisa em *K. scorpioides* são semelhantes àqueles descritos em mamíferos (SEKIZUKA et al., 1975, CALVERT, 1978, USPENSKII & GOLOFREEVSKII (1980), IATSKOVSKII & BORONIKHIMA (1989), JABLONSKI & GOSSRAU (1989), TAKAGI et al., 1990, CECCARELLI et al., 1995a,b, RIZZOTI & DOMENEGHINI (1976), AGUNGPRIYONO et al., 2000, ZHANG et al., 2009), em aves (ANDREW, 1976b, YAMANAKA et al., 1989, SAITO et al., 1989, RAWDON & ANDREW (1994), MENDES et al., 2009). São em número reduzido os trabalhos que relatam a presença de células imunorreativas à serotonina no duodeno de anfíbios (VALVERDE et al., 1993, MATVEEVA, 1998) em *Rana temporaria*, (TRANDABURU & TRANDABURU, 2007) em *Triturus vulgaris, Triturus cristatus, Rana esculenta, Rana ridibunda* e *Xenopus laevis*, (KU et al., 2000) em *Bombina orientalis*. (KU & LEE, 2004) no intestino de *Zacco platypus*. Em répteis (PEREZ-TOMAS et al.,1989b), observaram

no *Testudo graeca*, *Mauremys caspica* e *Lacerta lepida*, (YAMADA et al. 1987) no *Caiman latirostris*, (ARENA et al., 1990) em *Egernia kingii*, (BURREL et al., 1992) em *Podarcis hispanica*, (TERAKÇI et al., 2005) em *Mauremys caspica caspica*, (TRANDABURU & TRANDABURU, 2007) em *Emys orbicularis, Lacerta viridis, Lacerta agilis* e *Natrix natrix.*

5.3.2 Células imunorreativas à gastrina

No presente trabalho, células imunorreativas à gastrina foram identificadas no epitélio de revestimento duodenal, com maior distribuição na região das criptas formadas pelas vilosidades. Os resultados identificados no *K. scorpioides* são diferentes daqueles descritos em mamíferos (CALVERT (1978), USPENSKII & GOLOFREEVSKII, 1980, TSUMURAYA et al., 1986, KITAMURA et al., 1984, RIZZOTI & DOMENEGHINI, 1976, BALTAZAR et al., 1998, CALINGASAN et al., 1984, AGUNGPRIYONO et al., 2000), porém algumas espécies de células endócrinas estão presentes nas glândulas de Brunner's de suínos (ITO et al., 1987), e em aves (ANDREW, 1976b, SUNDLER et al., 1977, YAMANAKA et al., 1989, SAITO et al., 1989, BEZUIDENHOUT & VAN ASWEGEN (1990). Pouco numerosos são os trabalhos que revelam a presença de células imunorreativas à gastrina no duodeno de anfíbios (VALVERDE et al., 1993) em *Rana temporaria*.

Alguns trabalhos descrevem a presença de células endócrinas produtoras de gastrina no intestino de peixes (NOAILLAC-DEPEYER & HOLLANDE, 1981, ELBAL & AGULLEIRO,1986, PAN, et al., 2000, BOSI et al., 2004). Em répteis (PEREZ-TOMAS et al.,1989b), identificaram no *Testudo graeca*, *Mauremys caspica* e *Lacerta lepida*, (ARENA et al., 1990) em *Egernia kingii*, (BURREL et al., 1992) em *Podarcis hispanica* e (YAMADA et al. 1987) identificaram gastrina no intestino de *Caiman latirostris*.

5.3.3 Células imunorreativas ao enteroglucagon

Na presente pesquisa, constatou-se a ausência de células imunorreativas ao hormônio enteroglucagon no epitélio de revestimento da mucosa duodenal de *K. scorpioides*.

Entretanto, nesta pesquisa verificou-se a presença da secreção do hormônio enteroglucagon ao longo do epitélio de revestimento da mucosa duodenal, e esta secreção localizava-se por toda a superfície dos microvilos das células. Ocorrendo também a marcação das fibras nervosas na lâmina própria e submucosa do órgão.

As células imunorreativas ao enteroglucanon no duodeno de *K. scorpioides*, não apresentam o mesmo padrão de distribuição dos estudos realizados em mamíferos SEKIZUKA et al., 1975; CALVERT, 1978; USPENSKII & GOLOFREEVSKII (1980); IATSKOVSKII & BORONIKHINA (1989); JABLONSKI & GOSSRAU (1989); TAKAGI et al., 1990; CECCARELLI et al., 1995a; CECCARELLI et al., 1995b; RIZZOTI & DOMENEGHINI (1976); AGUNGPRIYONO et al., 2000; ZHANG et al., 2009, diferenciando pela ausência das glândulas de Brunner's no *K. scorpioides*, segundo PEREIRA et al. (2005). Em aves ANDREW, 1976b; YAMANAKA et al., 1989; SAITO et al., 1989; BEZUIDENHOUT & VAN ASWEGEN, 1990; RAWDON & ANDREW, 1994; GULMEZ et al., 2003; MENDES et al., 2009. Alguns relatos em anfíbios, confirmam a presença de enteroglucagon no duodeno (EL-SALHY et al., 1981; VALVERDE et al., 1993). Poucos trabalhos descrevem a ocorrência de enteroglucagon em peixes: (GOMEZ-VISUS et al., 1998) em *Dicentrarchus labrax*, (PAN, et al., 2000) no intestino de *C. idellus, M. piceus* e *C. carpio*, (BOSI et al., 2004) em *Salmo trutta*, (KU et al., 2004) no intestino de *Zacco platypus*. Em répteis, YAMADA et al. (1987) observaram enteroglucagon no intestino delgado de *Caiman latirostris* e PEREZ-TOMAS et al. (1989b), identificaram a presença do hormônio no duodeno do *Testudo graeca*, *Mauremys caspica* e *Lacerta lepida*. Relatam ainda, que enteroglucagon pode atuar por ação parácrina (ARENA et al., 1990) em *Egernia kingii*.

5.3.4 Células imunorreativas a motilina

No presente trabalho não foram identificadas células imunorreativas ao hormônio motilina no epitélio de revestimento da mucosa duodenal de *K. scorpioides*. Entretanto, essa imunorreação foi observada nas fibras nervosas da lâmina própria e submucosa das vilosidades do segmento duodenal.

A motilina é um polipeptídeo que estimula a motilidade gastrointestinal (POITRAS et al., 1994). Este peptídeo tem sido identificado em muitas espécies de mamíferos, mas não foi localizado em roedores como ratos e camundongos. Os sítios de ligações da motilina estão presentes no sistema nervoso, e no aparelho digestivo de mamíferos (FEIGHNER et al., 1999, DASS et al., 2003). Alguns trabalhos demonstram que os efeitos contráteis da motilina são acompanhados pela sinalização intracelular do Ca^{2+} no músculo liso do tubo digestivo de mamíferos (PEETERS et al., 1991, FARRUGIA et al., 1997, VAN ASSCHE et al., 2001 e HUANG et al., 2005).

Em mamíferos (HEITZ et al., 1978) o polipeptídeo motilina foi detectado em células da mucosa duodenal de homem (CALINGASAN et al., 1984), na mucosa duodenal de ovinos (BALTAZAR et al., 1998), no intestino delgado de *Philippine carabao* (AGUNGPRIYONO et al., 2000) em *Babyrousa babyrussa* (TAKAGI et al., 1990) em marsupiais. Em aves (YAMANAKA et al., 1989 e MENDES, et al., 2009) também observaram a presença de motilina no revestimento duodenal. Em répteis (YAMADA et al. 1987), identificaram a presença de motilina nas céluals epiteliais de revestimento do intestino delgado de *Caiman latirostris*.

6. CONCLUSÕES

As células imunorreativas a serotonina foram identificadas somente na região distal do esôfago, nas glândulas cárdicas, fúndicas e pilóricas do estômago e no epitélio de revestimento do duodeno de *K. scorpioides*, havendo, entretanto, diferença quanto à distribuição e frequência dessas células;

As células imunorreativas à gastrina foram identificadas nas células que compõem as glândulas cárdicas e pilóricas do estômago, e no epitélio de revestimento das vilosidades do duodeno de *K. scorpioides*;

A imunorreatividade ao enteroglucagon foi identificada nos cílios do revestimento epitelial das regiões cranial e média, e nas fibras nervosas da lâmina própria e submucosa do esôfago, e entre as células das glândulas cárdicas, fúndicas e pilóricas do estômago, e na superfície dos microvilos do epitélio do duodeno de *K. scorpioides*;

A imunomarcação para motilina ocorreu na lâmina própria e submucosa das vilosidades do duodeno, nas fibras nervosas da lâmina própria e submucosa, e das túnicas muscular e adventícia das regiões cranial, média e na serosa da região distal do esôfago do *K. scorpioides*.

7. REFERÊNCIAS

ACUÑA-MESEN, R.A. Morphometric variation and ecologic characteristic of the habitat of the *Kinosternon scorpioides* turtle in Costa Rica. **Rev**. **Bras**. **Biol**., Rio de Janeiro, v.54, n.3, p.537-547, 1994.

AGGESTRUP, S.; UDDMAN, R.; JENSEN, S.L.; HAKANSON, R.; SUNDLER, F.; SCHAFFALITZKY, M.O.; EMSON, P. Regulatory peptides in lower esophageal sphincter of pig and man. **Dig**. **Dis**. **Sci**., New York, v.31, n.12, p.1370-1375, 1986.

AGUNGPRIYONO, S.; MACDONALD, A. A.; LEUS, K.Y.G.; KITAMURA, N.; ADNYANE, I. K. M.; GOODALL, G. P.; HONDO, E.; YAMADA, J. Immunohistochemical study on the distribution of endocrine cells in the gastrointestinal tract of the babirusa, *Babyrousa babyrussa* (Suidae). **Anat. Histol. Embryol**., Berlim, v.29, p.173-178, 2000.

ALFINITO, J. **A tartaruga verdadeira do amazonas - Sua criação**. Belém: FCAP, Serviço de Documentação e Informação, 1980. 68p.

ANDREOZZI, G.; GIROLAMO, P.; AFFATATO, C.; ANTONUCCI, R.; RUSSO, P.; GARGIULO, G. VIP-like immunoreactivity in the intestinal tract of fish with different feeding habits. **Eur**. **J**. **Histochem**., Pavia, v.41, n.1, p.57-64, 1997.

ANDREW, A. Endocrine cells of the stomach of chicks around the time of hatching. **Cell Tissue Res**., New York, v.29, n.4, p.553-561, 1976a.

ANDREW, A. Intestinal endocrine cells of chicks around the time of hatching. **Cell Tissue Res**., New York, v.29, n.4, p.541-551, 1976b.

ANDREW, W. ; HICKMAN, C.P. **Histology of the vertebrates**: a comparative text. Saint Louis: Morby, 1974. p. 243-296.

ARENA, P.C.; RICHARDSON, K.C.; YAMADA, J. An immunohistochemical study of endocrine cells of the alimentary tract of the King's skink (*Egernia kingie*). **J. Anat**., Cambridge, v. 170, p. 73-85, 1990.

BAETENS, D.; RUFENER, C.; SRIKANT, B.C.; DOBBS, R.; UNGER, R.; OREI, L. Identification of glucagon-producing cells (A cells) in dog gastric mucosa. **J. Cell. Biol**., New York, v. 69, n. 2, p. 455-464, 1976.

BALTAZAR, E.T.; KITAMURA, N.; HONDO, E.; YAMADA, J.; MAALA, C.P.; SIMBORIO, L.T. Immunohistochemical study of endocrine cells in the gastrointestinal tract of the Philippine carabao (*Bubalus bubalis*). **Anat**. **Histol**. **Embryol**., Berlim, v.27, n.6, p.407-411, 1998.

BARBOSA, A.J.A.; CASTRO, L.P.F.; NOGUEIRA, A.M.F. A simple and economical modification of the Masson-Fontana method for staining melanin granules and enterochromaffin cells. **Stain Technol**., Baltimore, v.59, n.4, p.193-196, 1984.

BEISSER, C.J.; WEISGRAM, J.; HILGRES, H.; SPLECHTNA, H. Fine structure of the dorsal lingual epithelium of *Trachemys scripta elegans* (Chelonia: Emydidae). **Anat**. **Rec**., Philadelphia, v.250, n.2, p.127-135, 1998.

BEZUIDENHOUT, A.J.; van ASWEGEN, G. A light microscopic and immunocytochemical study of the gastrointestinal tract of the ostrich (*Struthio camelus* L.). **Onderstepoort J**. **Vet**. **Res**., Onderstepoort, v.57, n.1, p.37-48, 1990.

BODEGAS, M.E.; VILLARO, A.C.; BURRELL, M.A.; ROVIRA, J.; VALVERDE, E.; ORTIZ De ZARATE, A.; SESMA, P. An immunocytochemical and ultrastructural study of the larval anterior intestine of the frog *Rana temporaria*, with especial reference to endrocrine cells. **Tissue Cell**, Edinburg, v.29, n.5, p.549-559, 1997.

BOSI, G.; DI GIANCAMILLO, A.; ARRIGHI, S.; DOMENEGHINI, CINZIA. An immunohistochemical study on the neuroendocrine system in the alimentary canal of the brown trout, *Salmo trutta,* L., 1758. **Gen. Comp. Endocrinol**., Orlando, v. 138, p.166-181, 2004.

BURREL, M.A.; VILLARO, A.C.; SESMA, P. Evidence for the localization of gastrine/CCK- and PPY/PP-immunoreactive substances in the small intestine of the

lizard *Podarcis hispanica*: immunocytochemical and ultrastructural study. **Gen**. **Comp**. **Endocrinol**., Orlando, v. 88, p.40-49, 1992.

CALINGASAN, N.Y.; KITAMURA, N.; YAMADA, J.; OOMORI, Y.; YAMASHITA, T. Immunocytochemical study of the gastroenteropancreatic endocrine cells of the sheep. **Acta Anat**., Basel, v.118, n.3, p.171-180, 1984.

CALVERT, R. Sequential differentiation of intestinal endocrine cells in the fetal mouse. **Cell Tissue Res**., New York, v. 192, n. 2, p. 267-276, 1978.

CASTALDO, L.; LUCINI, C. Ontogenesis of some endocrine cells in the duck gastrointstinal tract. **Eur**. **J**. **Histochem**., Pavia, v. 38, n. 4, p. 319-326, 1994.

CECCARELLI, P., PEDINI, V., GARGIULO, A.M. Serotonin-containing cells in the horse gastrointestinal tract. **Anat**. **Histol**. **Embryol**., Berlim, v.24, n.2, p.97-99, 1995a.

CECCARELLI, P.; PEDINI, V.; GARGIULO, A.M. The endocrine cells in the gastro-enteric tract of adult fallow deer (*Dama dama* L.). **Anat. Histol. Embryol**., Berlim, v.24, n.3, p.171-174, 1995b.

DASS, N. B.; HILL, J.; MUIR, A.; TESTA, T.; WISE, A.; SANGER, G . J. The rabbit motilin receptor : molecular characterization and pharmacology. **Br**. **J**. **Pharmacol**., Basingstoke, v. 140, p. 948-954, 2003.

DIAZ de RADA, O.; SESMA, P.; VAZQUEZ, J.J. Endocrine cells of the gastric mucosa of *Rana temporaria* L. **Histol**. **Histopathol**., Espanha, v.2, n.2, p.119-128, 1987.

ELBAL, M.T.; AGULLEIRO, B. An immunocytochemical and ultrastructural study of endocrine cells in the gut of a teleost fish, *Sparus auratus* L. **Gen**. **Comp**. **Endocrinol**., Orlando, v.64, n.3, p.339-354, 1986.

ELBAL, M.T.; LOZANO, M.T.; AGULLEIRO, B. The endrocrine cells in the gut of Mugil saliens Risso, 1810 (Teleostei): an immunocytochemical and ultrastructural study. **Gen**. **Comp**. **Endocrinol**., Orlando, v.70, n.2, p.231-246, 1988.

EL-SALHY, M.; GRIMELIUS, L. WILANDER, E.; ABU-SINNA, G.; LUNDQVIST, G. Histological and immunohistochemical studies of the endocrine cells of the gastrointestinal mucosa of the toad (*Bufo regularis*). **Histochemistry**, Berlim, v.71, n.1, p.53-65, 1981.

FARALDI, G.; TAGLIAFIERRO, G.; FASULO, S.; ZACCONE, G. Immunoreactive endocrine cells and nerve elements in the gut of the Italian cave salamander. **Cell Mol**. **Biol**., Oxford, v. 39, n. 3, p. 269-278, 1993.

FARRUGIA, G.; MACIELAG, M.J.; PEETERS, T.L.; SARR, M.G.; GALDES, A.; SZURSZEWSKI, J.H. Motilin and OHM-11526 active a calcium current in human and canine jejuna circular smooth muscle. **Am**. **J**. **Physiol**., Bethesda, v. 273, p. G404-G412, 1997.

FEIGHNER, S.D.; TAN, C.P.; MCKEE, K.K.; PALYHA, O.C.; HRENIUK, D.L.; PONG, S.S.; AUSTIN, C.P.; FIGUEROA, D.; MACNEIL, D.; CASCIERI, M.A.; NARGUND, R.; BAKSHI, R.; ABRAMOVITZ, M.; STOCCO, R.; KARGMAN, S.; O'NEILL, G.; VAN DER PLOEG, L.H.; EVANS, J.; PATCHETT, A. A.; SMITH, R.G.; HOWARD, A.D. Receptor for motilin identified in the human gastrointestinal system. **Science**, Washington, v. 284, p. 2184-2188, 1999.

FERRI, S.; JUNQUEIRA, L.C.U.; MEDEIROS, L.O. Fine structure of the Esophagus living epithelials cells of the snake *Xenodon merremii* Wagler, 1824 (Ophidia). **Anat**. **Anz**., Jena, v.139, p.221-233, 1976.

GALLEGO-HUIDOBRO, J.; PASTOR, L.M. Histology of the mucosa of the oesophagogastric junction and the stomach in adult *Rana perezi*. **J**. **Anat**., Cambridge, v.188, n.2, p.439-444, 1996.

GAPP, D.A.; KENNY, M.P.; POLAK, J.M. The gastro-entero-pancreatic system of the turtle, *Chrysemys picta*. **Peptídes**, Elmsford, n.6, v.3, p.347-352, 1985.

GARCIA AYALA, A.; LOZANO, M.T.; AGULLEIRO, B. Endocrine pancreas of *Testudo graeca* L. (Chelonia) in summer and winter: an immunocytochemical and ultrastructural study. **Gen**. **Comp**. **Endrocrinol**., Orlando, v.68, p.235-248, 1987.

GARCIA HERNÁNDEZ, M.P.; LOZANO, M.T.; AGULLEIRO, B. Ontogeny of the endocrine cells of the stomach of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.): an ultrastructural study. **Anat**. **Embryol**., Berlim, v.190, p.507-514, 1994.

GARGIULO, A.M.; CECCARELLI, P.; DALL'AGLIO, C.; PEDINI, V. Ultrastructural study on the stomach of *Tilapia* spp. (Teleostei). **Anat**. **Histol**. **Embryol**., Berlim, v.26, n.4, p.331-336, 1997.

GEORGE, L.L.; ALVES, C.E.R.; CASTRO, R.R.L. **Histologia comparada**. 2. ed. São Paulo: Roca, 1998. 286p.

GIRAUD, A.S.; YEOMANS, N.D. Fine structure of the gastric mucous and endocrine cells of the toad, *Bufo marinus*. **Cell Tissue Res**., New York, v.218, n.3, p.663-668, 1981.

GIRAUD, A.S.; YEOMANS, N.D.; St JOHN, D.J. Ultrastructure and cytochemistry of the gastric mucosa of a reptile, *Tiliqua scincoides*. **Cell Tissue Res**., New York, v.197, n.2, p.281-294, 1979.

GOMEZ-VISUS, I.; GARCIA-HERNANDEZ, M.P.; LOZANO, M.T.; AGULLEIRO, B. Glucagon- and NPY-related peptide-immunoreactive cells in the gut of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.): a light and electron microscopic study. **Gen**. **Comp**. **Endocrinol**., Orlando, v.112, n.1, p.26-37, 1998.

GRIMELIUS, L. A silver nitrate for α 2 cells in human pancreatic islets. **Acta Soc**. **Med**. **Ups**., Oslo, v.74, p.243-270, 1968.

GULMEZ, N.; NAZLI, M.; ASLAN, S.; LIMAN, N. Immunolocalization of serotonin, gastrin, somatostatin and glucagon in entero-endocrine cells of the goose (*Anser anser*). **Acta Vet**. **Hung**., Budapest, v. 51, n. 4, p. 439-499, 2003.

HEITZ, P.U.; KASPER, M.; KREY, G.; POLAK, J. M.; PEARSE, A.G. Immunoelectron cytochemical localization of motilin in human duodenal enterochromaffin. **Gastroenterology**, Philadelphia, v.74, n.4, p.713-717, 1978.

HELMSTAEDTER, V.; FEURLE, G.E.; FORSMANN, W. G. Relationship of glucagon-somatostatin and gastrin-somatostatin cells in the stomach of the monkey. **Cell Tissue Res**., New York, v.2, 177, n.1, p.29-46, 1977.

HOLMGREN, S.; JENSEN, J.; JONSSON, A.C.; LUNDIN, K.; NILSSON, S. Neuropeptides in the gastrointestinal canal of *Necturus maculosus*. Distribution and effects on motility. **Cell Tissue Res**., New York, v.241, n.3, p.565-580, 1985.

HONG, S.J.; KO, L.W.; HO, L.T.; FONG, J.C. Somatostatin modulation of neurally mediated pepsinogen secretion from frog esophageal mucosa. **Biochim**. **Biophys**. **Acta**, Amsterdam, v.968, n.3, p.401-407, 1988.

HUANG, H.G ; WU, X.B. Immunohistochemical study on gastrointestinal endocrine cells of four reptiles. **World J. Gastroenterol**., Beijing, v. 11, n. 35, p. 5498-5505, 2005.

HUANG, J.; ZHOU, H.; MAHAVADI, S.; SRIWAI, W.; LYALL, V.; MURTHY, K.S. Signaling pathways mediating gastrointestinal smooth muscle contraction and MLC20 phosphorylation by motilin receptors. **Am**. **J**. **Physiol**. **Gastrointest**. **Liver Physiol**., New York, v. 288, p. G23-G31, 2005.

IATSKOVSKII, A.N.; BORONIKHINA, T.V. Quantitative characteristics of the endocrine cells of the duodenal. **Arkh**. **Anat**. **Gistol Embriol**., Petersburg, v.97, n.8 p.49-55, 1989.

ITO, H.; YAMADA, J.; YAMASHITA, T.; HASHIMOTO, Y.; KUDO, N. An immunohistochemical study on the distribution of endocrine cells in the gastrointestinal tract of the pig. **Jpn**. **J**. **Vet**. **Res**., Kitaku, v. 49, p. 105-114, 1987.

IVANOVA, V. F.; ROSSOL'KO, G. N.; PUZYREV, A. A. The endocrine apparatus of the epithelium of the gastric mucosa in the steppe turtle (*Testudo horsfieldi*). **Morfologiya**, Petersburg, v.111, n.1, p.85-90, 1997.

JABLONSKI, O.; GOSSRAU, R. Ultrastructure of the gastrointestinal epithelium in the marmoset. **Z. Mikrosk Anat**. **Forsch**., Leipzig, v.103, n.2, p.190-220, 1989.

KADUK, B.; BARTH, H. The localization of endocrine cells in the distal esophagus. **Virchows Arch**. **ABT**. **A**. **Pathol**. **Anat**., Heidelberg, v.377, n.4, p.311-28, 1978.

KAREN, E.G.; YOUSON, J. H. An imunohistochemical study of endocrine cells within pancreas, intestine e stomach of the gar (*Lepisosteus osseus* L.). **Gen**. **Comp**. **Endocrinol**., Orlando, v.106, p. 1-16, 1997.

KITAMURA, N.; YAMADA, J.; CALINGASAN, N.Y.; YAMASHITA, T. Immunocytochemical distribution of endocrine cells in the gastrointestinal tract of the horse. **Equine Vet**. **J**., Borough green, v.16, n.2, p.103-107, 1984.

KRALJ-KLOBUCAR, N. Comparative analysis of gastrin-immunoreactive and argyrophil cell in bony fish larvae. **Folia Histochem**. **Cytobiol**., Warsaw, v.25, n.2, p.133-136, 1987.

KU, S. K.; LEE, H. S.; LEE, J. H. An imunohistochemical study of endocrine cells in the alimentary tract of the red- bellied frog, *Bombina orientalis*. **J**. **Vet**. **Med**. **Sci**., Bunkyo-Ku, v. 62, n. 6, p. 589-594, 2000.

KU, S. K.; LEE, J. H. LEE, H. S. Immunohistochemical study on the endocrine cells in gut of the stomachless teleost, *Zacco platypus* (Cyprinidae). **Anat**. **Histol**. **Embryol**., Berlim, v. 33, p. 212-219, 2004.

KU, S. K.; LEE, H. S.; LEE, J. H.; PARK, K. D. An imunohistochemical study of endocrine cells in the alimentary tract of the red-eared slider (*Trachemys scripta elegans*). **Anat**. **Histol**. **Embryol**., Berlim, v. 30, n. 1, p. 33-39, 2001.

KU, S. K.; LEE, H. S.; KOH, J. K.; LEE, J. H. An imunohistochemical study on the neuropeptide-producing endocrine cells in the alimentary tract of wrinkled frog, *Rana rugosa* (Ranidae). **Gen**. **Comp**. **Endocrinol**., Orlando, v. 131, n. 1, p. 1-8, 2003.

LARSSON, L. I.; SUNDLER, F.; HAKANSON, R.; REHFELD, J.F.; STADIL, F. Distribution and properties of gastrin cells in the gastrointestinal tract of the chicken. **Cell Tissue Res**., New York, v. 154, p. 53-575, 1974.

LARSSON, L. I.; HOLST, J.; HAKANSON, R.; SUNDLER, F. Distribution and properties of glucagon immunoreactivety in the digestive tract of various mammals: na immunohistochemical and immunochemical study. **Histochemistry**, Berlim, v.29, 44, n.4, p.281-290, 1975.

LEE, H. S.; KU, S. K. An imunohistochemical study of endocrine cells in the alimentary tract of the grass lizard, *Takydromus wolteri Fischer* (Laceridae). **Acta Histochem**., Jena, v. 106, n. 2, p. 171-178, 2004.

LUPPA, H. Histology of the digestive tract. In: GANS, C.; GANS, K.A. (Ed.). **Biology of the reptilia**. New York: Academic Press, 1977. v.6, p.159-223.

LUCIANO, L.; REALE, E.; VON ENGELHARDT, W. The fine structure of the stomach mucosa of the Llama (*Llama guanacoe*). II. The fundic region of the hind stomach. **Cell Tissue Res**., New York, v. 208, n.2, p. 207-228, 1980.

MADRID, J. F.; BALLESTA, J.; PASTOR, L. M.; PEREZ-TOMAZ, R.; HERNANDEZ, F. Distribution of mucins in the mucosa of the digestive tract of reptiles: a histochemical study. **Acta Histochem**., Jena, v.85, p.117-129, 1989.

MARUYAMA, I.; SHIONDA, S.; NAKAI, Y. Immunocytochemical localization of serotonin-like immunoreactivities in the ciliated epithelium of the frog palatine mucosa. **Acta Anat**., Basel, v. 120, p. 160-163, 1984.

MARTINEZ, V.; RODRIGUEZ-MEMBRILLA, A.; JIMENEZ, M.; GONALONS, E.; VERGARA, P. Immunohistochemical differentiation of gastrin and cholecystokinin in gastrointestinal tract of chickens. **Poult**. **Sci**., Saroy, v.72, n.12, p.2328-2336, 1993.

MATVEEVA, O. N. Endocrine apparatus of the epithelium of small intestinal mucosa of *Rana temporaria*. **Morfologiya**, Petersburg, v.113, n.2, p.88-94, 1998.

MENDES, R. M. M.; DO NASCIMENTO, A. A.; DOS SANTOS, C. M.; CARDOS, T. R. D.; PINHEIRO, N. L.; SALES, A. An immunocytochemical study of the endocrine cells in the stomach and duodenum of *Zonotrichia capensis subtorquata* (Passeriformes, Emberizidae). **Acta Histochim**., Jena, v. 111, p.83-92, 2009.

MICHELANGELI, F.; SULCAS, D. M.; RUIZ, M. C. Ultrastructural studies of endocrine-like cells in the fundic gastric mucosa of the bullfrog, *Rana catesbiana*. **Cell Tissue Res**., New York, v. 250, n.2, p.413-419, 1987.

MUNIZ, W. W.; MACHADO, V. L.; MARQUES, M. Immunohistochemical localization of insulin-like material in antral gastric mucosa and intestinal epithelial cells of the turtles *Chrysemys dorbigni* and *Phrynops hilarii*. **Braz**. **J**. **Med**. **Biol**. **Res**., Ribeirão Preto, v.24, n.3, p.327-331, 1991.

NADA, O.; HIRATSUKA, T.; KOMATSU, K. The occurrence of erotonin-containing cells in the esopageal epithelium of the bullfrog *Rana catesbiana*: a fluorescence histochemical and immunohistochemical. **Histochemistry**, Berlim, v.81, n.2, p.115-118, 1984.

NIKONOV, A. A.; KHOMERIKI, S. G. Endocrine cells of the esophageal glands. **Arkh**. **Anat**. **Gistol Embriol**., Petersburg, v.73, n.12, p.79-82, 1977.

NISA, C.; KITAMURA, N.; SASAKI, M.; AGUNGPRIYONO, S.; CHOLIQ, C.; BUDIPITOJO, T.; YAMADA, J.; SIGIT, K. Immunohistochemical study on the distribution and relative frequency of endocrine cells in the stomach oh the Malayan pangolin, *Manis javanica*. **Anat**. **Histol**. **Embryol**., Berlim, v. 34, p. 373-378, 2005.

NOAILLAC-DEPEYRE, J.; HOLLANDE, E. Evidence for somatostatin, gastrin and pancreatic polypeptide-like substances in the mucosa cells of the gut in fishes with and without stomach. **Cell Tissue Res**., New York, v.216, n.1, p.193-203, 1981.

OHARA, N.; KITAMURA, N.; YAMADA, J.; YAMASHITA, T. Immunohistochemical study of gastroenteropancreatic endocrine cells of the herbivorous japonese field vole, *Microtus montebelli*. **Res**. **Vet**. **Sci**., Obihiro, v.41, n.1, p.21-27, 1986.

OKAMOTO, T.; YAMADA, J.; IWANAGA, T. Distribution and ultrastructure of gastrin cells in the duck digestive tract. **Jpn**. **J**. **Vet**. **Sci**., Bunkyo - Ku, v. 42, p.643-650, 1980.

PAN, Q.S., FANG, Z.P., ZHAO, Y.X. Immunocytochemical identification and localization of APUD cells in the gut of seven stomachless teleost fishes. **World J**. **Gastroenterol**., Beijing, v. 6, n.1, p. 96-101,2000.

PEETERS, T.L.; MATTHIJS, G.; VANTRAPEEN, G. Ca^{2+} dependence of motilide-induced contraction in rabbit duodenal muscle strips in vutro. **Naunyn- Schmiedebergs Arch**. **Pharmakol**., Heidelberg, v. 343, p. 202-208, 1991.

PEREIRA, J. G. **Estudos histológico e histoquímico do tubo digestivo e do pâncreas do *Kinosternon scorpioides* Linnaeus, 1766 (Reptilia, Chelonia, kinosternidae), muçuã**. 2000. 148 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2000.

PEREIRA, J. G.; FONSECA, C.C.; DAS NEVES, M. T. D. Estudo histológico e histoquímico do esôfago do muçuã *Kinosternon scorpioides* Linnaeus, 1766 (Reptilia, Chelonia, Kinosternidae). **Arq**. **Ciênc**. **Vet**. **Zool**., Umuarama, v.8, n.1, p.3-10, 2005.

PEREZ-TOMAS, R.; BALLESTA, J.; PASTOR, L. M.; HERNANDEZ, F. Ultrastructural study of the endocrine cells of the gut of *Testudo graeca* (Chelonia). **Anat**. **Embryol**., Berlim, v.180, p.103-108, 1989a.

PEREZ-TOMAS, R.; BALLESTA, J.; PASTOR, L. M.; MADRI, J. F.; POLAK, J. M. Comparative immunohistochemical study of the gastroenteropnacreatic endocrine system of three reptiles. **Gen**. **Comp**. **Endocrinol**., Orlando, v.76, n.2, p.171-191, 1989b.

POITRAS, P.; MILLER, P.; GAGNON, D.; ST-PIERRE, S. Motilin synthetic analogues and motlin receptor antagonists. **Biochem**. **Biophys**. **Res**. **Commun**., Orlando**,** v. 205, p. 449-454, 1994.

POLAK, J. M.; BISHOP, A. E.; BARBOSA, A. J. A.; BLOOM, S. R. Hormônios gastrointestinais. In: DANI, R.; CASTRO, L.P. **Gastrointerologia clínica**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. p.1446-1464.

PUZYREV, A. A.; IVANOVA, V. F.; MIKHEEVA, E .A. Microscopic organization of epithelial endocrine cells of the gastrointestinal tract mucosa in lower vertebrates. II. Epithelial endocrine cells of the duodenum of the common frog. **Isitologiya**, Petersburg, v.28, n.6, p.594-598, 1986.

PRAUSE, A. S; STOFFEL, M. H.; PORTIER, C. J.; MEVISSEN, M. Expression and function of 5-HT_7 receptors in smooth muscle preparations from equine duodenum, ileum, and pelvic flexure. **Res**. **Vet**. **Sci**., Obihiro, v.87, n.2, p. 292-299, 2009.

RAJJO, I. M.; VIGNA, S. R.; CRIM, J. W. Cholecystokinin immunoreactivity in the digestive tract of bowfin (*Amia calva*), bluegill (*Lepomis macrochirus*), and bullfrog (*Rana catesbiana*). **Gen**. **Comp**. **Endocrinol**., Orlando, v.70, n.1, p.133-144, 1988.

RAWDON, B. B.; ANDREW, A. An immunocytochemical survey of endocrine cells in the gastrointestinal tract of chicks at hatching. **Cell Tissue Res**., New York, v.220, n.2, p.279-292, 1981.

RAWDON, B. B.; ANDREW, A. Distribution of serotonin-immunoreactive gut endocrine cells in chicks at hatching. Examination of possible co-localisation with peptides reveals unexpected cross-reactivity of substance P antiserum with serotonin. **Histochemistry**, Berlim, v.102, n.2, p.93-100, 1994.

REIFEL, C. W. ; LINDEN, R. D. Endocrine cells in the gastrointestinal tracts of 3 teleostean species. **Anat**. **Anz**., Jena, v. 154, n. 413-418, 1983.

RIZZOTTI, M.; DOMENEGHINI, C. Distribution of the enterochromaffin ("EC") cells and those of the APUD series in the gastrointestinal tract of the calf. **Riv**. **Istochim**. **Norm**. **Patol**., Italy, v.20, n.4, p.253-263, 1976.

ROCHA, M. B.; MOLINA, F. B. Algumas observações sobre a biologia e manejo do muçuã. **Aquaculture**, Amsterdam, n. 2, p. 25-26, 1987.

SAITO, T., YAMADA, J.; KITAMURA, N.; YAMASHITA, T. An immunohistochemical study on the distribution of endocrine cells in the gastrointestinal tract of domestic pigeon (*Columba livia var domestica*). **Z**. **Mikrosk Anat**. **Forsch**., Leipzig, v.103, n.2, p.237-246, 1989.

SALVI, E.; VACCARO, R.; RENDA, T. G. An immunohistochemical study of the ontogeny of the neuroendocrine system in the chicken oesophagus. **Anat**. **Embryol**., Berlim, v.197, n.4, p.283-291, 1998.

SANTOS, G.C.; ZUCOLOTO, S. Células endócrinas gastrointestinais: breve histórico e principais métodos de identificação à microscopia óptica. **Arq**. **Gastroenterol**., São Paulo, v.33, n.1, p.36-44, 1996.

SANTOS, C.M.; NASCIMENTO, A.A.; PERACCHI, A.L.; SALES, A.; MIKALAUSKAS, J.S.; GOUVEIA, S.F. Immunocytochenical study of gastrintestinal endocrine cells in insectivorus bats (Mammalia: Chiroptera). **Braz**. **J**. **Biol**., Ribeirão Preto, v. 68, n. 3, p. 663-669, 2008.

SEKIZUKA, H.; DOI, H.; SUNAGAWA, M.; NAGAI, S.; KOJIMA, S. The distribution of serotonin-containing cells in the human almentary tract. **Gastrointerol**. **Jpn**., Tokyo, v.10, n. 4, p.316-322, 1975.

SUNDLER, F.; ALUMETS, J.; HAKANSON, R.; CARRAWAY, R.; LEEMAN, S.E. Ultrastructure of the gut neurotensin cell. **Histochemistry**, Berlim, v.18, 53, n.1, p.25-34, 1977.

STERNBERGER, L. A.; HARDY Jr, P. H.; CUCULIS, J. J.; MEYER, H. G. An unlabeled antibody method of immunocytochemistry. **J**. **Histochem**. **Cytochem**., Seattle, v.23, p.311-324, 1970.

TAFURI W. L.; SANTOS R. D. E. L.; ARANTES R. M.; GONCALVES R.; DE MELO M. N.; MICHALICK M. S.; TAFURI W. L. An alternative immunohistochemical method for detecting *Leishmania* amastigotes in paraffin-embedded canine tissues. **J**. **Immunol**. **Methods**. Amsterdam, v. 292, p.17-23, 2004.

TAKAGI, C.; YAMADA, J.; KRAUSE, W. J.; KITAMURA, N.; YAMASHITA, T. An immunohistochemical study of endocrine cells in the proximal duodenum of eight marsupial species. **J**. **Anat**., Cambridge, v. 168, p. 49-56, 1990.

TERAKÇI, G. B.; KÖPRÜCÜ, S. S.; YAMAN, M. An immunohistochemical study on the endocrine cells gastrointestinal tract of the freshwater turtle, *Mauremys caspica caspica*. **Turk J**. **Vet**. **Anim**. **Sci**., Tubtak, v. 29, p. 581-587, 2005.

TOWNSEND, C. M. JR.; BOLD, R. J.; ISHIZUKA, J. Gastointestinal hormones and cell proliferation. **Surg**. **Today**, Tokyo, v.24, n.9, p.772-777, 1994.

TRANDABURU, T.; NURNBERGER, F. Somatostatin-immunoreactive cell in the gastrointestinal tract of the frog *Rana esculenta*. **Cell Tissue Res**., New York, v.279, n.2, p.437-440, 1995.

TRANDABURU, T.; TRANDABURU, I. Serotonin (5-hydroxytryptamine, 5-HT) immunoreactive endocrine and neural elements in the chromaffin enteropancreatic system of amphibians and reptiles. **Acta Histochem**., Jena, v. 109, p. 237-247, 2007.

TSUMURAYA, M.; NAKAJIMA, T.; MORINAGA, S.; SHIMOSATO, Y.; SUZUKI, M.; YAMAGUCHI, K. Morphological variation of immunoreactive cells positive to cholecystokinin 33 (10-20) and gastrin 34 (1-15) in human duodenum. **Cell Tissue Res**., New York, v.244, n.3, p.519-525, 1986.

USPENSKII, V. M.; GOLOFEEVSKII, V. Method of histochemical identification of endocrine cells of the gastric and duodenal mucosa. **Arkh. Pathol**., Chicago, v.42, n.1, p.81-84, 1980.

VALVERDE, E.; DIAZ DE RADA, O.; BURREL, M .A.; ROVIRA, J.; SESMA, P. Immunocytochemical and ultrastructural characterization of endocrine cells and nerves in the intestine of *Rana temporaria*. **Tissue Cell**., v. 25, n. 4, p. 505-516, 1993.

VDOVTSEVA, V. A.; BAZHANOV, A. N.; KHIYSTOVA, Z. S. Endocrine cells in cardial glands of the esophagus in man. **Arkh Anat**. **Gistol**. **Embriol**., Moscou, v.94, n.6, p.63-66, 1988.

VAN ASWEGEN, G.; SCHOEMAN, J. H.; DeVOS, V. VAN NOORDENS, S. The oesophagus and stomach of the African elefant: a histological, immunocytochemical and immunofluorescence study. **Onderstepoort J**. **Vet**. **Res**., Onderstepoort, v.61, n.3, p.223-229, 1994.

VAN ASSCHE, G.; DEPOORTERE, I.; THIJS, T.; MISSIAEN, L.; PENNINCKX, F.; TAKANASHI, H.; GEBOES, K.; JANSSENS, J.; PEETERS, T. L. Contractile effects and intracellular Ca^{2+} signalling induced by motilin and erythromycin in the circular smooth muscle of human colon. **Neurogastroenterol**. **Motil**., Oxford, v. 13, p. 27-35, 2001.

VON IHERING, R. **Dicionário dos animais do Brasil**. São Paulo: Universidade de Brasília, 1968.

WANG, Y.; LANCE, V. A.; NIELSEN, P. F.; CONLON, J. M. Neuroendocrine peptides (insulin, pancreatic polypeptide, neuropeptide Y, galanin, somatostatin, substance P, and neuropeptide gamma) from the desert tortoise, *Gopherus agassizii*. **Peptides**, Elmsford, v.20, n.6, p.713-722, 1999.

WATTCHOW, D. A.; FURNESS, J. B.; COSTA, M.; O'BRIEN, P. E.; PEACOCK, M. Distributions of neuropeptides in the human esophagus. **Gastroenterology**, Philadelphia, v.93, n.6, p.1363-1371, 1987.

YAMADA, J.; KITAMURA, N.; YAMASHITA, T. The relative frequency and topographical distribution of somatostatin-, GRP-, APP-, glucagon-, 5-HT-, and neurotensin-immunoreactive cells in the proventriculus of seven species of birds. **Arch Histol**. **Jpn**., Asahi-Machi, v.48, n.3, p.305-314, 1985.

YAMADA, J.; YOSHINO, M.; YAMASHITA, T.; MISU, M.; YANAIHARA, N. Distribution and frequency of gastrin in the digestive tract of the japanese quail. **Arch**. **Histol**. **Jpn**., Asahi-Machi, v.42, n.1, p.33-39, 1979.

YAMADA, J.; CAMPOS, V.J. M..; KITAMURA, N.; PACHECO, A.C.; YAMASHITA, T.; YANAIHARA, N. An immunohistochemical study of the endocrine cells in the gastrointestinal mucosa of the *Caiman latirostris*. **Arch**. **Histol**. **Jpn**., Asahi-Machi, v. 50, n. 2, p. 229-241, 1987.

YAMANAKA, Y.; YAMADA, J.; KITAMURA, N.; YAMASHITA, T. An immunohistochemical study on the distribution of endocrine cells in the chicken gastrointestinal tact. **Z**. **Mikrosk**. **Anat**. **Forsch**., Leipzig, v.103, n.3, p.437-446, 1989.

ZAMITH, A.P.L. Contribuição para o conhecimento da estrutura da mucosa do esôfago dos vertebrados. **An**. **Esc**. **Super**. **Agric**. "**Luiz de Queiroz**", Pircicaba, v.9, n.179, p.359-434, 1952.

ZAVIACIC, M.; BROZMAN, M.; JAKUBOVSKY, J. Influence of fasting and stimulation on the rat gastric endocrine cell. Histochemical and ultrastructural study. **Histochemistry**, Berlim, v.12, 49, n.4, p.315-325, 1976.

ZHANG, H.; ZHANG, T.; WANG, L.; TENG, K. Immunohistochemical location of serotonin and serotonin 2B receptor in the small intestine of pigs. **Acta Histochim**., Jena, v. 111, p.35-41, 2009.