

UFRRJ

INSTITUTO DE BIOLOGIA

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL –
PPGBA**

TESE

**DESCRIÇÃO HISTOLÓGICA E HISTOQUÍMICA DA PAREDE DO
TRATO GASTROINTESTINAL DA CORUJA ORELHADA (*Asio
Clamator*) E DO CARCARÁ (*Caracara Plancus*) E
IMUNOHISTOQUÍMICA PARA DETECÇÃO E IDENTIFICAÇÃO
DE CÉLULAS DO SISTEMA NEUROENDÓCRINO DIFUSO.**

Autor: Rodrigo Chaves

Orientadora: Profa. Dra. Nadja Lima Pinheiro

Co-orientadora: Profa. Dra. Aparecida Alves do Nascimento

2012



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL**

**DESCRIÇÃO HISTOLÓGICA E HISTOQUÍMICA DA PAREDE DO
TRATO GASTROINTESTINAL DA CORUJA ORELHUDA (*Asio
Clamator*) E DO CARCARÁ (*Caracara plancus*) E
IMUNOHISTOQUÍMICA PARA DETECÇÃO E IDENTIFICAÇÃO
DE CÉLULAS DO SISTEMA NEUROENDÓCRINO DIFUSO.**

RODRIGO CHAVES

Sob a Orientação da Professora
Nadja Lima Pinheiro

e Co-orientação da Professora
Aparecida Alves do Nascimento

Tese submetida como requisito
parcial para obtenção do grau de
Doutor em Ciências, no Curso de
Pós-Graduação em Biologia Animal,
Área de Concentração em Morfologia

Seropédica, RJ

Julho de 2012

598.9
C512d
T

Chaves, Rodrigo, 1979-

Descrição histológica e histoquímica da parede do trato gastrointestinal da coruja orelhuda (*Asio Clamator*) e do carcará (*Caracara plancus*) e imuno-histoquímica para detecção e identificação de células do sistema neuroendócrino difuso / Rodrigo Chaves - 2012. 108 f.: il.

Orientador: Nadja Lima Pinheiro.

Tese(doutorado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Biologia Animal.

Bibliografia: f. 92-107.

1. Coruja - Histologia - Teses. 2. Caracara - Histologia - Teses. 3. Sistema gastrointestinal - Teses. 4. Histoquímica - Teses. 5. Ave de rapina - Teses. I. Pinheiro, Nadja Lima, 1943-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Biologia Animal. III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL**

RODRIGO CHAVES

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, área de Concentração em Morfologia.

TESE APROVADA EM 02/07/2012.

Nadja Lima Pinheiro. Doutora. UFRRJ

Armando Sales. Doutor. UFRRJ

Fernando Raphael de Almeida Ferry. Doutor. UNIRIO

Rosa Maria Marcos Mendes. Doutora. UFRRJ

Walker André Chagas. Livre Docente. UFF

AGRADECIMENTOS

Aos Técnicos de laboratório Fernando Chagas (UGF) e Ilza L.C. Meireles (UFRRJ), pela contribuição no preparo das técnicas histológicas e histoquímicas.

Às minhas orientadora e co-orientadora, professoras Dr^a Nadja Lima Pinheiro (UFRRJ) e Dr^a Aparecida Alves do Nascimento (UFRRJ), respectivamente.

À Gianni Brighenti Lara e Cristina Ferreira e Teixeira, pelo apoio na elaboração de componentes pré e pós-textuais.

Ao CETAS/IBAMA pela doação dos espécimes para estudo.

RESUMO

CHAVES, Rodrigo. **DESCRIÇÃO HISTOLÓGICA E HISTOQUÍMICA DA PAREDE DO TRATO GASTROINTESTINAL DA CORUJA ORELHUDA (*Asio Clamator*) E DO CARCARÁ (*Caracara Plancus*) E IMUNOHISTOQUÍMICA PARA DETECÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE CÉLULAS DO SISTEMA NEUROENDÓCRINO DIFUSO.**

Seropédica: UFRRJ, 2012. p.(Tese, Doutorado em Biologia Animal).

O papel do Sistema Neuroendócrino Difuso na regulação da função gastrointestinal é inegável, porém sua regulação fenotípica ainda não foi completamente esclarecida, demonstrando então a importância do estudo em espécies com diferentes hábitos alimentares. Considerando que a premissa básica de estudos biológicos deve ser a Biologia Comparada, integrando diferentes áreas de conhecimento, buscou-se: Descrever histologicamente a parede do trato gastrointestinal de *Asio clamator* e *Caracara Plancus*, evidenciar histoquimicamente a presença de glicosaminoglicanos ácidos e neutros e localizar imunohistoquimicamente as células do Sistema Neuroendócrino Difuso com seus respectivos peptídeos reguladores, para demonstrar que estas células e seus peptídeos reguladores encontram-se também em espécies de Falconiformes e Strigiformes. Para cumprir esses objetivos, foi realizado um estudo histológico (com a coloração pela H-E) e histoquímico (com a técnica do ácido periódico de Schiff e do alcian blue PH 2,5) para descrição dos órgãos do trato gastrointestinal de 2 indivíduos de cada uma das seguintes espécies, *Caracara plancus* (Falconidae) e *Asia clamator* (Strigidae), além do estudo imunohistoquímico para detecção e identificação de células secretoras de gastrina, glucagon, serotonina e somatostatina. Os resultados demonstraram que a organização da parede do trato gastrointestinal das espécies estudadas é típica das aves, com mucosa, submucosa, muscular e serosa (adventícia no esôfago e sem submucosa no ventrículo). No esôfago, o epitélio é estratificado pavimentoso não queratinizado, apresentando poucas camadas celulares na coruja-orelhuda e muitas no carcará. As glândulas da mucosa tubulosas, apresentaram ramificações na coruja-orelhuda e mostraram-se tubuloacinosas no carcará. A lâmina própria, a muscular da mucosa, a submucosa, a camada muscular e a adventícia são típicas. As glândulas da mucosa do esôfago foram marcadas pelas técnicas histoquímicas. Células imunorreativas aos anti-soros não foram detectadas no esôfago. A descrição histológica do proventrículo é típica das aves. As técnicas histoquímicas evidenciaram um epitélio mucossecretor. Foram observadas células imunorreativas à gastrina, ao glucagon, à serotonina e à somatostatina nas glândulas da submucosa na coruja orelhuda e ao glucagon e à somatostatina no carcará. No ventrículo a descrição histológica é típica. A histoquímica evidenciou um produto de secreção sintetizado pelas glândulas tubulares da região mucosa. Não foram detectadas células imunorreativas ao anti-soros em nenhuma das aves. A descrição histológica dos intestinos é típica. A histoquímica evidenciou as células caliciformes. Na coruja orelhuda, foram observadas no epitélio e nas glândulas de Lieberkühn células imunorreativas ao glucagon e à serotonina, e à gastrina somente no epitélio. No carcará, foram observadas nas glândulas de Lieberkühn células imunorreativas ao glucagon. Com base nos resultados obtidos, concluiu-se que os diferentes segmentos do tubo digestório da coruja-orelhuda e do carcará apresentam a

mesma estrutura geral de outros vertebrados e mais especificamente de aves; que células produtoras de glicosaminoglicanos neutros e ácidos também são observados nessas espécies; e que a localização de células endócrinas no trato gastrointestinal foi essencialmente semelhante à de outras aves estudadas

Palavras-chave: Descrição histológica e histoquímica; imunohistoquímica; trato gastrointestinal; Sistema Neuroendócrino Difuso; *Asio clamator*; *Caracara plancus*.

ABSTRACT

CHAVES, Rodrigo. HISTOLOGICAL AND HISTOCHEMICAL DESCRIPTION OF THE GASTROINTESTINAL TRACT OF STRIPED OWL (*Asio Clamator*) AND OF SOUTHERN CARACARA (*Caracara plancus*) AND IMMUNOHISTOCHEMISTRY FOR DETECTION AND IDENTIFICATION OF DIFFUSE NEUROENDOCRINE SYSTEM CELL.

For a System is established, it is essential that a larger number of species possess specific cells. For the chosen species no study is available in literature. There is no doubt that Diffuse Neuroendocrine System has an important role in the gastrointestinal function, however their phenotypic regulation is not completely elucidated, which indicates the importance of carrying out this search, which investigate species with different food habits. Whereas the basic premise of biological studies should be the Comparative Biology integrating different areas of knowledge, we sought to describe histologically the gastrointestinal tract wall of *Asio clamator* and *Caracara plancus* to evidenciate histochemically the presence of acids and neutral glycosaminoglycans and locate by immunohistochemistry Diffuse Neuroendocrine System cells with their respective peptides regulators. We hope demonstrate that this cells and their peptides are found in Falconiformes and Strigiformes species. To achieve these purposes, it was conducted an histological and histochemical (using Schiff periodic acid technique and alcian blue pH 2,5) study involving the description of gastrointestinal tract organs of two individuals from each of the following species *Caracara plancus* (Falconidae) e *Asia clamator* (Strigidae). Moreover, we detected and identified by immunohistochemistry cells which secrete gastrin, glucagon, somatostatin and serotonin. The cells were found in greater quantities in the proventriculus (stomach chemical) of the species investigated. The difference in habit (night and day) did not affect the distribution of cells of the Diffuse Neuroendocrine System. The results demonstrate that gastrointestinal tract wall organization is typical, as regards the mucosa, submucosa, muscle and serosa, since it presents adventitia in the esophagus and the ventricle without submucosal. The esophagus shows a stratified squamous epithelium without keratin containing few celular layers in e many of them in southern caracara. The mucosal glands of striped owl are tubular and can show ramifications. The mucosal glands in southern caracara are "tubuloacinosas". With respect to proper lamina, muscularis and adventitia, they are typical. The mucosal glands of esophagus were stained by histochemical techniques. Immunoreactive cells to sera used were not detected in esophagus. Proventriculus histological description is typical. The histochemical methods showed an mucosecretor epithelium. It was observed immunoreactive cells to gastrin, glucagon, serotonin and somatostatin in submucosal glands of striped owl. Immunoreactive cells to glucagon and somatostatin were found in southern caracara. In ventricle the histological description is typical. The histochemical showed a secretion product synthesized by tubular glands of mucosal region. It was not detected immunoreactive cells to anti-sera in any bird. The histological description of intestine is typical. The histochemical revealed the globet cells. In striped owl it was observed immunoreactive cells to glucagon and serotonin within epithelium and Lieberkühn glands. Immunoreactive cells to glucagon was found in Lieberkühn glands. Based on these results, it was found that different segments in the gastrointestinal tract of striped owl and of southern caracara have the same general structure of other vertebrates,

and more specifically for avian; which cells producing glycosaminoglycans neutral and acidic are also observed in these species; and the location of endocrine cells in the gastrointestinal tract were essentially similar to those of other birds studied.

Keywords: Histological and histochemical description; immunohistochemical; gastrointestinal tract; Diffuse Neuroendocrine System; *Asio clamator*; *Caracara plancus*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Foto 1. Carcará.....	4
Foto 2. Coruja-orelhuda.....	6
Ilustração 1. Representação do método imunoenzimático ABC -peroxidase - Complexo Avidina-Biotina-Enzima	15
Quadro 1: Etapas da Técnica Imunohistoquímica.....	16
Quadro 2. Detalhes dos anticorpos primários utilizados neste estudo	17
Quadro 3: Marcação imunohistoquímica em órgãos do TGI de <i>Asio clamator</i>	21
Quadro 4: Marcação imunohistoquímica em órgãos do TGI de <i>Caracara plancus</i>	22
Figura 1: Esôfago de <i>Asio clamator</i> . Região proximal. Técnica: Hematoxilina e Eosina. Escala: 100µm.	23
Figura 2: Esôfago de <i>Asio clamator</i> . Camada mucosa. Técnica: Hematoxilina e Eosina. Escala: 50µm	23
Figura 3: Esôfago de <i>Asio clamator</i> . Região distal. Técnica: Hematoxilina e Eosina. Escala: 50µm	24
Figura 4: Esôfago de <i>Asio clamator</i> . Técnica: PAS. Escala: 100µm.....	24
Figura 5: Esôfago de <i>Asio clamator</i> . Técnica: PAS. Escala: 50µm.....	25
Figura 6: Esôfago de <i>Asio clamator</i> . Técnica: PAS. Escala: 50µm.....	25
Figura 7: Esôfago de <i>Asio clamator</i> . Técnica: AB pH 2,5. Escala: 100µm.....	26
Figura 8: Esôfago de <i>Asio clamator</i> . Técnica: AB pH 2,5. Escala: 50µm.....	26
Figura 9: Esôfago de <i>Asio clamator</i> . Técnica: AB pH 2,5. Escala: 100µm.	27
Figura 10: Proventrículo de <i>Asio clamator</i> . Técnica: Hematoxilina e Eosina. Escala: 100µm.....	27
Figura 11: Proventrículo de <i>Asio clamator</i> . Técnica: Hematoxilina e Eosina. Escala: 100µm.....	28

Figura 12: Proventrículo de <i>Asio clamator</i> . Técnica: Hematoxilina e Eosina. Escala: 50µm.	28
Figura 13: Proventrículo de <i>Asio clamator</i> . Técnica: PAS. Escala: 100µm.	29
Figura 14: Proventrículo de <i>Asio clamator</i> . Técnica: PAS. Escala: 50µm.	29
Figura 15: Proventrículo de <i>Asio clamator</i> . Técnica: AB pH 2,5. Escala: 100µm.	30
Figura 16: Proventrículo de <i>Asio clamator</i> . Técnica: AB pH 2,5. Escala: 50µm.	30
Figura 17: Proventrículo de <i>Asio clamator</i> . Técnica: Inmunohistoquímica / Células endócrinas inmunoreativas para Gastrina. Escala: 100µm.	31
Figura 18: Proventrículo de <i>Asio clamator</i> . Técnica: Inmunohistoquímica / Células endócrinas inmunoreativas para Gastrina. Escala: 50 µm.	31
Figura 19: Proventrículo de <i>Asio clamator</i> . Técnica: Inmunohistoquímica / Células endócrinas inmunoreativas para Gastrina. Escala: 50µm.	32
Figura 20: Proventrículo de <i>Asio clamator</i> . Técnica: Inmunohistoquímica / Células endócrinas inmunoreativas para Gastrina. Escala: 50µm.	32
Figura 21: Proventrículo de <i>Asio clamator</i> . Técnica: Inmunohistoquímica / Células endócrinas inmunoreativas para Glucagon. Escala: 100µm.	33
Figura 22: Proventrículo de <i>Asio clamator</i> . Técnica: Inmunohistoquímica / Células endócrinas inmunoreativas para Glucagon. Escala: 50µm.	33
Figura 23: Proventrículo de <i>Caracara plancus</i> . Técnica: Inmunohistoquímica / Células endócrinas inmunoreativas para Glucagon. Escala: 50µm.	34
Figura 24: Proventrículo de <i>Asio clamator</i> . Técnica: Inmunohistoquímica / Células endócrinas inmunoreativas para Serotonina. Escala: 50µm.	34
Figura 25: Proventrículo de <i>Asio clamator</i> . Técnica: Inmunohistoquímica / Células endócrinas inmunoreativas para Serotonina. Escala: 50µm.	35
Figura 26: Proventrículo de <i>Asio clamator</i> . Técnica: Inmunohistoquímica / Células endócrinas inmunoreativas para Somatostatina. Escala: 100µm.	35
Figura 27: Proventrículo de <i>Asio clamator</i> . Técnica: Inmunohistoquímica / Células endócrinas inmunoreativas para Somatostatina. Escala: 100µm.	36
Figura 28: Proventrículo de <i>Asio clamator</i> . Técnica: Inmunohistoquímica / Células endócrinas inmunoreativas para Somatostatina. Escala: 50µm.	36

Figura 29: Proventrículo de <i>Asio clamator</i> . Técnica: Imunohistoquímica / Células endócrinas imunoreativas para Somatostatina. Escala: 50µm.....	37
Figura 30: Intestino (vilosidades) de <i>Asio clamator</i> . Técnica: Hematoxilina e Eosina. Escala: 50 µm.	37
Figura 31: Intestino de <i>Asio clamator</i> . Técnica: PAS. Escala: 100µm.....	38
Figura 32: Intestino de <i>Asio clamator</i> . Técnica: AB pH 2,5. Escala: 100µm.....	38
Figura 33: Intestino de <i>Asio clamator</i> . Técnica: AB pH 2,5. Escala: 100µm.....	39
Figura 34: Intestino de <i>Asio clamator</i> . Técnica: Imunohistoquímica / Células endócrinas imunoreativas para Glucagon. Escala: 50µm.....	39
Figura 35: Intestino de <i>Asio clamator</i> . Técnica: Imunohistoquímica / Células endócrinas imunoreativas para Glucagon. Escala: 50µm.....	40
Figura 36: Intestino de <i>Asio clamator</i> . Técnica: Imunohistoquímica / Células endócrinas imunoreativas para Glucagon. Escala: 50µm.....	40
Figura 37: Intestino de <i>Asio clamator</i> . Técnica: Imunohistoquímica / Células endócrinas imunoreativas para Serotonina. Escala: 100µm.....	41
Figura 38: Intestino de <i>Asio clamator</i> . Técnica: Imunohistoquímica / Células endócrinas imunoreativas para Serotonina. Escala: 50µm.....	41
Figura 39: Intestino de <i>Asio clamator</i> . Técnica: Imunohistoquímica / Células endócrinas imunoreativas para Serotonina. Escala: 50µm.....	42
Figura 40: Intestino de <i>Asio clamator</i> . Técnica: Imunohistoquímica / Células endócrinas imunoreativas para Serotonina. Escala: 50µm.....	42
Figura 41: Intestino de <i>Asio clamator</i> . Técnica: Imunohistoquímica / Células endócrinas imunoreativas para Serotonina. Escala: 50µm.....	43
Figura 42: Intestino de <i>Asio clamator</i> . Técnica: Imunohistoquímica / Células endócrinas imunoreativas para Gastrina. Escala: 50µm.....	43
Figura 43: Esôfago de <i>Caracara plancus</i> . Técnica: Hematoxilina e Eosina. Escala: 100µm.	44
Figura 44: Esôfago de <i>Caracara plancus</i> . Técnica: Hematoxilina e Eosina. Escala: 50µm	44
Figura 45: Esôfago de <i>Caracara plancus</i> . Técnica: PAS. Escala: 100µm.....	45

Figura 46: Esôfago de <i>Caracara plancus</i> . Técnica: PAS. Escala: 50µm.....	45
Figura 47: Esôfago de <i>Caracara plancus</i> . Técnica: AB pH 2,5. Escala: 100µm.....	46
Figura 48: Esôfago de <i>Caracara plancus</i> . Técnica: AB pH 2,5. Escala: 50µm.....	46
Figura 49: Esôfago de <i>Caracara plancus</i> – Somatostatina ausente no epitélio.....	47
Escala: 50µm	
Figura 50: Esôfago de <i>Caracara plancus</i> - Glucagon ausente no epitélio. Escala:50µm..	47
Figura 51: Esôfago de <i>Caracara plancus</i> – Gastrina ausente no epitélio. Escala: 50µm .	48
Figura 52: Esôfago de <i>Caracara plancus</i> – 5HT Ausente nas glândulas. Escala: 50µm..	48
Figura 53: Proventrículo de <i>Caracara plancus</i> . Técnica: Hematoxilina e Eosina. Escala: 100µm	49
Figura 54: Proventrículo de <i>Caracara plancus</i> . Técnica: Hematoxilina e Eosina. Escala: 100µm.....	49
Figura 55: Proventrículo de <i>Caracara plancus</i> . Técnica: Hematoxilina e Eosina. Escala: 50µm.....	50
Figura 56: Proventrículo de <i>Caracara plancus</i> . Técnica: AB pH 2,5. Escala: 100µm.....	50
Figura 57: Proventrículo de <i>Caracara plancus</i> . Técnica: AB pH 2,5. Escala: 50µm.....	51
Figura 58: Proventrículo de <i>Caracara plancus</i> . Técnica: AB pH 2,5. Escala: 50µm.....	51
Figura 59: Proventrículo de <i>Caracara plancus</i> . Técnica: AB pH 2,5. Escala: 50µm.....	52
Figura 60: Proventrículo de <i>Caracara plancus</i> . Técnica: AB pH 2,5. Escala: 100µm.....	52
Figura 61: Proventrículo de <i>Caracara plancus</i> . Técnica: PAS. Escala: 50µm.....	53
Figura 62: Proventrículo de <i>Caracara plancus</i> . Técnica: PAS. Escala: 50µm.....	53
Figura 63: Proventrículo de <i>Caracara plancus</i> . Técnica: PAS. Escala: 100µm.....	54
Figura 64: Proventrículo de <i>Caracara plancus</i> . Técnica: PAS. Escala: 100µm.....	54
Figura 65: Proventrículo de <i>Caracara plancus</i> . Técnica: Imunohistoquímica / Células endócrinas imunoreativas para Glucagon. Escala: 50µm.....	55
Figura 66: Proventrículo de <i>Caracara plancus</i> . Técnica: Imunohistoquímica / Células endócrinas imunoreativas para Glucagon. Escala: 50µm	55

Figura 67: Proventrículo de <i>Caracara plancus</i> . Técnica: Inmunohistoquímica / Células endócrinas inmunoreactivas para Glucagon. Escala: 50µm	56
Figura 68: Proventrículo de <i>Caracara plancus</i> . Técnica: Inmunohistoquímica / Células endócrinas inmunoreactivas para Glucagon. Escala: 50µm	56
Figura 69: Proventrículo de <i>Caracara plancus</i> . Técnica: Inmunohistoquímica / Células endócrinas inmunoreactivas para Somatostatina. Escala: 100µm	57
Figura 70: Proventrículo de <i>Caracara plancus</i> . Técnica: Inmunohistoquímica / Células endócrinas inmunoreactivas para Somatostatina. Escala: 50µm.....	57
Figura 71: Proventrículo de <i>Caracara plancus</i> . Técnica: Inmunohistoquímica / Células endócrinas inmunoreactivas para Somatostatina. Escala: 50µm.....	58
Figura 72: Proventrículo de <i>Caracara plancus</i> . Técnica: Inmunohistoquímica / Células endócrinas inmunoreactivas para Somatostatina. Escala: 50µm.....	58
Figura 73: Ventrículo de <i>Caracara plancus</i> . Técnica: AB pH 2,5. Escala: 50µm.....	59
Figura 74: Ventrículo de <i>Caracara plancus</i> . Técnica: AB pH 2,5. Escala: 50µm.....	59
Figura 75: Ventrículo de <i>Caracara plancus</i> . Técnica: PAS. Escala: 50µm.....	60
Figura 76: Ventrículo de <i>Caracara plancus</i> . Técnica: PAS. Escala: 50µm.....	60
Figura 77: Ventrículo de <i>Caracara plancus</i> . Técnica: PAS. Escala: 50µm.....	61
Figura 78: Ventrículo de <i>Caracara plancus</i> . Técnica: PAS. Escala: 50µm.....	61
Figura 79: Intestino (vilosidades) de <i>Caracara plancus</i> . Técnica: Hematoxilina e Eosina. Escala: 50 µm.....	62
Figura 80: Intestino de <i>Caracara plancus</i> . Técnica: PAS. Escala: 50µm.....	62
Figura 81: Intestino de <i>Caracara plancus</i> . Técnica: PAS. Escala: 50µm.....	63
Figura 82: Intestino de <i>Caracara plancus</i> . Técnica: Inmunohistoquímica / Células endócrinas inmunoreactivas para Serotonina. Escala: 50µm.....	63

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
Justificativa.....	2
Objetivos.....	2
Objetivo geral.....	2
Objetivo específico.....	2
1.3 Hipóteses.....	2
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Aves de Rapina.....	3
2.1.1 Ordem Falconiformes, Família Falconidae e Espécie <i>Caraca plancus</i>	3
2.1.2 Ordem Strigiformes, Família Strigidae e Espécie <i>Asio clamator</i>	5
2.2 Trato Gastrointestinal (TGI).....	6
2.2.1 Histologia do sistema digestório de aves.....	7
2.3 O Sistema Neuroendócrino Difuso.....	9
2.3.1 Histórico.....	9
2.3.2 Peptídeos Reguladores e Aminas Biogênicas.....	12
3 METODOLOGIA.....	14
3.1 Materiais.....	14
3.2 Métodos.....	14
3.2.1 Coleta.....	14
3.2.2 Técnicas histológicas e estudos histoquímicos.....	14
3.2.3 Estudo imunohistoquímico.....	14
4 RESULTADOS.....	18
4.1 Coruja-orelhuda.....	18
4.1.1 Esôfago.....	18
4.1.2 Proventrículo.....	18
4.1.3 Ventrículo.....	19
4.1.4 Intestinos.....	19
4.2 Carcará.....	19
4.2.1 Esôfago.....	19
4.2.2 Proventrículo.....	20
4.2.3 Ventrículo.....	20
4.2.4 Intestinos.....	21
5 DISCUSSÃO.....	64
5.1 Coruja-orelhuda.....	64
5.1.1 Esôfago.....	64
5.1.2 Proventrículo.....	64
5.1.3 Ventrículo.....	65
5.1.4 Intestinos.....	65
5.2 Carcará.....	66

5.2.1 Esôfago.....	66
5.2.2 Proventrículo.....	66
5.2.3 Ventrículo.....	67
5.2.4 Intestinos.....	68
6 CONCLUSÃO.....	69
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	70
ANEXOS (DATA SHEETS)	86

1 INTRODUÇÃO

A origem das aves é muito discutida e longe de uma solução. Pesquisas atuais sugerem que esse grupo evoluiu a partir de dinossauros (FEDUCCIA et al., 2007). A classificação tradicional une crocodilianos e tartarugas com lagartos e cobras no táxon parafilético Reptilia porque esses animais compartilham muitas características, enquanto que a classificação filogenética baseada no relacionamento evolutivo classificaria crocodilianos e tartarugas junto com as aves (PURVES et al., 2005).

Em todo mundo, as aves são representadas por 9702 espécies, compondo o grupo de tetrápodes mais numeroso, além de apresentarem ampla distribuição geográfica, sendo observados em diferentes regiões do planeta (SICK, 1997). No Brasil, são encontradas 1818 espécies, distribuídas em 31 ordens (CBRO, 2011).

As Ordens Falconiformes e Strigiformes são boas representantes da ampla distribuição geográfica das aves, pois com exceção da Antártida (ambas) e ilhas oceânicas como Havaí e Nova Zelândia (Strigiformes) (MENQ, 2011) suas Famílias estão presentes em todos os continentes. Os indivíduos pertencentes à estas Ordens são as aves de rapina, sendo objetos de discussão da relação de parentesco e classificação filogenética entre outras Ordens e entre seus próprios membros, considerando famílias, gêneros e espécies (GRIFFITHS, 1994).

As aves de rapina podem ser divididas em duas ordens, de acordo com seus hábitos em diferentes períodos do dia. Os membros da ordem Falconiformes possuem hábito diurno. São representados pelos abutres, águias, gaviões e falcões, distribuídos em quatro famílias (Accipitridae, Falconidae, Pandionidae e Sagittariidae) e 306 espécies (FERGUSON-LEES; CHRISTIE, 2001). Os membros da ordem Strigiformes possuem hábito noturno. São representados pelas corujas, mochos e caburés, distribuídos em duas famílias (Strigidae e Tytonidae) e 212 espécies (KÖNIG et al., 1999).

No Brasil, de acordo com a classificação atualizada da “Lista de Aves do Brasil”, Cathartiformes (família Cathartidae) e Accipitriiformes (famílias Accipitridae e Pandionidae) são consideradas ordens à parte, ficando apenas a família Falconidae, com 21 espécies, na ordem Falconiformes (CBRO, 2011). Já os Strigiformes apresentam 23 espécies em duas famílias, sendo 1 espécie da família Tytonidae e 22 espécies da família Strigidae (CBRO, 2011).

Os métodos de estudo utilizados para classificação dos grupos são muito variados, podendo ser realizada por meio de hibridização e sequenciamento de DNA (AVISE et al., 1994; SIBLEY & AHLQUIST, 1991), ou ainda por aspectos morfológicos e comportamentais (DE QUADROS, 2008; GRIFFITHS, 1994), por exemplo.

Dentre os métodos morfológicos para a classificação filogenética podemos destacar os estudos histoquímicos e imuno-histoquímicos para detecção de células do Sistema Neuroendócrino Difuso e seus respectivos peptídeos reguladores.

Esses são realizados em órgãos do Sistema Digestório nos diferentes grupos de vertebrados, como em diversas espécies de anfíbios e répteis (KU, LEE, PARK, 2001; KU et al., 2003; LEE & KU, 2004; TRANDABURU & TRANDABURU, 2007), mamíferos (AGUNGPRIYONO et al., 2000; BALTAZAR et al., 1998; PINHEIRO, CARDOSO & SALES, 1989; POLAK et al., 1974) e aves (MENDES et al., 2009; POLAK et al., 1974, YAMANAKA et al., 1989; YAMADA, et al., 1993). Alguns estudos relacionam filogeneticamente peixes, anfíbios e répteis a partir da presença das células do Sistema Neuroendócrino Difuso (D’LESTE; BUFFA;

RENDA, 1994). Porém, para as espécies escolhidas como objeto de estudo para esta tese não existem pesquisas relacionados à presença ou não destas células.

1.1 Justificativa

Para que um Sistema seja estabelecido, é fundamental a presença de células específicas no maior número de espécies possível, e para as espécies escolhidas não existem estudos disponíveis na literatura.

O papel do Sistema Neuroendócrino Difuso na regulação da função gastrointestinal é inegável, porém sua regulação fenotípica ainda não foi completamente esclarecida, demonstrando então a importância do estudo em espécies com diferentes hábitos alimentares.

1.2 Objetivos

Considerando que a premissa básica de estudos biológicos deva ser a Biologia Comparada, integrando diferentes áreas de conhecimento, busca-se:

1.2.1 Objetivo Geral

Descrever histologicamente a parede do trato gastrointestinal de *Asio clamator* e *Caracara Plancus*, identificar substâncias reativas às técnicas histoquímicas e localizar imunohistoquimicamente as células do Sistema Neuroendócrino Difuso com seus respectivos peptídeos reguladores ou aminas biogênicas

1.2.2 Objetivos Específicos

- Demonstrar que as células do Sistema Neuroendócrino Difuso com seus respectivos peptídeos reguladores ou aminas biogênicas encontram-se nas espécies de Falconiformes e Strigiformes estudadas;
- Comparar os resultados entre as espécies estudadas e dados disponíveis na literatura relativos à localização e distribuição das células do Sistema Neuroendócrino Difuso em vertebrados em geral, com aprofundamento em aves.

1.3 Hipóteses

H₁ - A descrição histológica da parede do TGI deve ser similar à de outras aves e vertebrados em geral descritos na literatura.

H₂ - As células do Sistema Neuroendócrino Difuso devem ser encontradas em maior quantidade no proventrículo das espécies estudadas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aves de Rapina

As aves de rapina ("rapina" = ato de rapinar, roubar, tirar com violência) são assim denominadas por capturar animais de pequeno porte, principalmente outras aves, répteis e mamíferos (FERREIRA, 2008; SOARES, 2004). Consistem num grupo polifilético criado por Lineu no século XVIII para agrupar espécies com certas características em comum. (HEIDENREICH, 1997)

Por serem predadoras, possuem diferentes adaptações para a caça ativa, sendo dotadas de bicos e garras fortes e bem afiadas, além de visão e audição muito apuradas. Apresentam grande diversidade morfológica, desde o gaviãozinho (*Gampsonyx swainsonii*), que mede 22 cm de comprimento e pesa 115 g, aproximadamente, até o gavião-real (*Harpia harpyja*), onde as fêmeas podem medir até 105 cm de comprimento e pesar 9 kg (MENQ, 2011; SOARES, 2004). O dimorfismo sexual é predominantemente relacionado ao tamanho (as fêmeas são maiores), mas pode ser reconhecido pelo peso também. A diferença de coloração entre os sexos ocorre apenas em algumas espécies como o gavião-dos-banhados (*Circus Buffoni*) e o quiriquiri (*Falco sparverius*) (MENQ, 2011).

As aves de rapina podem ser divididas em duas ordens, de acordo com seus hábitos em diferentes períodos do dia. Os membros da ordem Falconiformes possuem hábito diurno. Em classificações anteriores, eram representados pelos abutres, águias, gaviões e falcões, distribuídos em quatro famílias (Accipitridae, Falconidae, Pandionidae e Sagittariidae) e 306 espécies (FERGUSON-LEES; CHRISTIE, 2001). Os membros da ordem Strigiformes possuem hábito noturno. São representados pelas corujas, mochos e caburés, distribuídos em duas famílias (Strigidae e Tytonidae) e 212 espécies (KÖNIG et al., 1999).

O grupo das aves de rapina diurnas possui uma taxonomia relativamente controversa, existindo várias classificações para o grupo (AMADDON; BULL, 1988; SIBLEY; AHLQUIST, 1991; HEIDENREICH, 1997; FERGUNSON-LEES; CHRISTIE, 2001)

Para alguns pesquisadores, que consideram aspectos morfológicos e comportamentais, a Família Cathartidae também pertence aos Falconiformes (DE QUADROS, 2008; GRIFFTHS, 1994). Outros autores, principalmente aqueles que classificam filogeneticamente por meio da hibridização e sequenciamento de DNA, a Família Cathartidae pertence à Ordem Ciconiiformes (AVISE et al., 1994; SIBLEY & AHLQUIST, 1991).

Atualmente no Brasil, de acordo com a classificação atualizada da "Lista de Aves do Brasil", Cathartiformes (família Cathartidae) e Accipitriformes (famílias Accipitridae e Pandionidae) são consideradas ordens à parte, ficando apenas a família Falconidae, com 20 espécies, na ordem Falconiformes. Já os Strigiformes são representados por 23 espécies em duas famílias, sendo 1 espécie da família Tytonidae e 22 espécies da família Strigidae (CBRO, 2011). O presente trabalho foi desenvolvido seguindo os critérios de classificação expostos neste parágrafo.

2.1.1 Ordem Falconiformes, Família Falconidae e Espécie *Caracara plancus*

A Ordem Falconiformes é o grupo que abrange os falcões e os caracará. Essa ordem apresenta apenas uma família: Falconidae. Até pouco tempo as famílias Accipitridae e Pandionidae eram inclusas nos Falconiformes, mas estudos genéticos recentes classificam essas duas famílias em uma ordem separada, os Accipitriformes (CBRO, 2011). Os Falconiformes agrupam espécies diurnas

que compartilham várias características com os Accipitriformes, como a visão bastante apurada, garras e bicos fortes e afiados (MENQ, 2011).

A família Falconidae inclui 21 espécies, distribuídas em 7 gêneros: *Caracara sp*, *Daptrius sp.*, *Falco sp.*, *Herpetotheres sp.*, *Ibycter sp.*, *Micrastur sp.* e *Milvago sp.* (CBRO, 2011).

As aves pertencentes à essa família em geral são pequenas, com sua menor espécie, o quiriquiri (*Falco sparverius*), medindo aproximadamente 25 cm de comprimento, e sua maior espécie, o caracará (*Caracara plancus*), medindo cerca de 56 cm de comprimento. A alimentação é variada, com algumas espécies especialistas e outras generalistas, como é o caso do Caracará (*Caracara plancus*) (SICK, 1997; SOUZA, 2004), um dos objetos de estudo desta tese.

Apresentam uma ampla distribuição na região neotropical, com observações desde a região central do Peru, sul da Bolívia e norte do Amazonas, Argentina, Chile, Paraguai e Uruguai até a terra do fogo. Distribui-se também por todo o Brasil, principalmente nas regiões Sudeste e Nordeste (SOUZA et al. 2010; CAMACHO, 2012).

O caracará (Foto 1) é uma das espécies mais comuns e populares do Brasil. Mesmo apresentando características morfológicas externas similares às águias e aos urubus, são classificados na família dos falconídeos (SICK, 1997; CRBO, 2011). Apresentando medidas como aproximadamente 56 cm da cabeça à cauda e 123 cm de envergadura, é facilmente identificável tanto pousado quanto em voo. Sua plumagem é preta no dorso e barriga, o peito é marrom claro com riscas pretas rajadas. As asas apresentam manchas brancas nas pontas, observáveis em voo. As patas são compridas e de cor amarela. Apresenta cabeça clara com um penacho negro na cabeça, a pele nua em torno da narina é vermelha ou carmim (SICK, 1997; SOUZA, 2004).

Em relação ao hábitos alimentares, o caracará é onívoro, com hábitos generalistas. Alimenta-se da polpa de alguns frutos (coco acuri, por exemplo), ovos de tartaruga, invertebrados em geral como minhocas, caranguejos e tanajuras, pequenos vertebrados como peixes, lagartos e cobras, e carcaças, pousando e voando junto a urubus. Saqueia ninhos de outras aves, alimentando-se de restos de comida, ovos ou filhotes sem a presença dos pais (SAZIMA, 2007; VARGAS, 2007; MENQ, 2011; CAMACHO et al. 2012).

Foto 1: Caracará



Foto de Willian Menq.

Fonte: http://www.avesderapinabrasil.com/caracara_plancus.htm

2.1.2 Ordem Strigiformes, Família Strigidae e Espécie *Asio clamator*

A Ordem Strigiformes é representada pelas aves de rapina noturnas distribuídas em duas famílias (Strigidae e Tytonidae) e 212 espécies de mochos, corujas e caburés, (KÖNIG et al., 1999). São encontradas em todos os habitats, como em florestas densas, campos abertos, desertos, áreas de clima frio, bosques, áreas rurais e centros urbanos. As corujas possuem espécies espalhadas por todos os continentes, menos na Antártida e em algumas ilhas oceânicas como Havaí e Nova Zelândia (KONIG; WEICK, 2008). No Brasil são 23 espécies em duas famílias, sendo 1 espécie da família Tytonidae e 22 espécies da família Strigidae (CBRO, 2011).

Dentre as espécies registradas no Brasil, podemos observar uma grande variação de tamanho, desde o caburezinho (*Glaucidium minutissimum*), medindo cerca de 14 cm da cabeça à cauda, até o Jucurutu (*Bubo virginianus*), com aproximadamente 52 cm da cabeça à cauda (SICK, 1997; SOUZA, 2004)

São predadores eficientes, que possuem olhos grandes voltados para a frente, o que lhes confere uma visão binocular; a audição é muito especializada e algumas espécies possuem os ouvidos dispostos assimetricamente na cabeça, auxiliando na localização das presas; como suas rêmiges são macias o voo torna-se silencioso. São extremamente atentas ao ambiente podendo girar sua cabeça em até 270° (MOTTA-JUNIOR; BUENO; BRAGA, 2005), característica observada também em indivíduos da espécie *Asio clamator* (coruja-orelhuda), também objeto de estudo desta tese.

A coruja-orelhuda (*Asio clamator*) (Foto 2) pertence à ordem Strigiformes e à família Strigidae, com *status* de residente no Brasil, por apresentar evidências de reprodução no país. Encontra-se do sul do México até o sul da América do Sul, distribuindo-se por grande parte da Zona Tropical e Subtropical da América do Sul. Encontrada em quase todo o Brasil, exceto na região amazônica. Tem duas subespécies no Brasil, a *A. clamator clamator*, nas regiões norte e nordeste e a *A. clamator Mida*, nas regiões sul, sudeste e parte da centro oeste. Pode ser observada em paisagens abertas com árvores, cerrado, caatinga (MARTINEZ et al., 1996; SICK, 1997; HÖFLING; CAMARGO, 2002; SOUZA, 2004; SIGRIST, 2006; CBRO, 2011; MENQ, 2011).

Os indivíduos dessa espécie possuem de 30 a 38 cm de comprimento, com asas variando de 22,8 a 29,4 cm, com peso em torno de 320 a 540 gramas. Portanto, é considerada uma espécie de médio porte. Sua característica marcante é presença de “orelhas” (penas dispostas para o lado da cabeça, lembrando orelhas) destacadas. Sua parte ventral varia de amarelada a canela, com rajadas escuras. Como em outras espécies de corujas, apresenta uma capacidade de girar a cabeça (aproximadamente 270°), uma visão bem desenvolvida e um disco facial destacado que funciona como refletor sonoro, ampliando o volume do som e facilitando a localização das presas. Sua audição também é bem desenvolvida. Seus tarsos são fortes para capturar presas. Suas vocalizações são bastante variadas, desde uma sequência prolongada, *áut-áut-áut*, até gritos altos, *i-i, kje-e* (SICK, 1997; SOUZA, 2004; SIGRIST, 2006).

A espécie alimenta-se de roedores, marsupiais, aves e grandes insetos, podendo também alimentar-se de morcegos, lagartos e anfíbios (MARTINEZ et al., 1996; SICK, 1997; NOVAES; LIMA, 1998; HÖFLING; CAMARGO, 2002; SIGRIST, 2006; AGUIAR; NAIFF, 2009; MENQ, 2011).

Foto 2: Coruja-orelhuda



Foto de Eric Galhardo.

Fonte: http://www.avesderapinabrasil.com/rhinoptynx_clamator.htm

2.2 Trato Gastrointestinal (TGI)

O trato gastrointestinal (TGI) ou digestório, também chamado de canal alimentar, juntamente com a cavidade oral e a faringe, e em conjunto com as glândulas digestórias acessórias, compõem o Sistema Digestório. O TGI, de maneira geral, é formado pelos seguintes órgãos: esôfago, estômago e intestinos delgado e grosso. Dependendo do grupo taxonômico à que pertencem e diretamente relacionado aos hábitos alimentares, as espécies podem apresentar estruturas mais ou menos desenvolvidas. Histologicamente, o TGI apresenta uma parede formada por quatro camadas ou túnicas concêntricas denominadas: mucosa, submucosa, muscular e serosa (ou adventícia) (HAM, 1972; GEORGE; ALVES; CASTRO, 1998; GARTNER; HIAT, 2003; LEBOFFE, 2005; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008; OVALLE; NAHIRNEY, 2008; ROSS; PAWLINA; BARNASH, 2012).

A mucosa é formada por uma membrana epitelial interna, por uma região mediana de tecido conjuntivo, denominada lâmina própria, e por uma camada externa de músculo liso, denominada muscular da mucosa (HAM, 1972; GEORGE; ALVES; CASTRO, 1998; GARTNER; HIAT, 2003; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008; OVALLE; NAHIRNEY, 2008).

O revestimento epitelial, derivado do endoderma, funciona como uma barreira seletiva. No sentido de manter a barreira intacta, o epitélio geralmente é constituído por células produtoras de muco, além de receber a secreção de glândulas da mucosa (HAM, 1972; GEORGE; ALVES; CASTRO, 1998; KIERSZENBAUM, 2008; EYNARD; VALENTICH; ROVASIO, 2011).

A região mediana da mucosa, bem como as outras camadas da parede, é derivada do mesoderma. É constituída por um tecido conjuntivo frouxo, rico em vasos sanguíneos e linfáticos, com células musculares lisas, podendo também apresentar glândulas, nódulos linfóides e células

imunocompetentes dispersas (GEORGE; ALVES; CASTRO, 1998; GARTNER; HIAT, 2003; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008; KIERSZENBAUM, 2008).

A muscular da mucosa é formada por uma delgada camada de músculo liso, ou por duas subcamadas, uma circular interna e uma longitudinal externa (GEORGE; ALVES; CASTRO, 1998; GARTNER; HIAT, 2003; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008; KIERSZENBAUM, 2008).

A submucosa, camada que sustenta a mucosa, é constituída por tecido conjuntivo frouxo com nervos e células ganglionares, que formam o plexo de Meissner ou submucoso, além de vasos sanguíneos e linfáticos, podendo ou não apresentar glândulas (GEORGE; ALVES; CASTRO, 1998; GARTNER; HIAT, 2003; YOUNG et al., 2007; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

A camada muscular é responsável pelas contrações peristálticas, sendo constituída por fibras musculares lisas dispostas em dois planos, o circular interno e o longitudinal externo. Entre essas duas camadas localizam-se fibras nervosas e gânglios do plexo mioentérico ou de Auerbach (GEORGE; ALVES; CASTRO, 1998; GARTNER; HIAT, 2003; YOUNG et al., 2007; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

A serosa forma a camada mais externa. A serosa é constituída por um tecido conjuntivo frouxo, recoberto por um epitélio simples pavimentoso, denominado mesotélio. No esôfago, em sua região proximal, a serosa é substituída por uma adventícia, com tecido conjuntivo frouxo, porém sem mesotélio (GEORGE; ALVES; CASTRO, 1998; GARTNER; HIAT, 2003; YOUNG et al., 2007; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

2.2.1 Histologia do sistema digestório de aves

É composto pela cavidade bucal, faringe, esôfago, papo, proventrículo, moela ou ventrículo e TGI inferior composto por: intestino delgado, cecos, intestino grosso, reto e cloaca, além das glândulas acessórias ou órgãos extramurais (HODGES, 1974; BANKS, 1991; GEORGE; CASTRO, 1998).

A cavidade bucal apresenta um bico queratinizado que encontra-se anexado aos maxilares superior e inferior. A língua, estreita e pontiaguda, contém o osso entoglossal. A região cranial desse osso está em continuidade com a cartilagem hialina. O epitélio estratificado pavimentoso da língua, de queratinização variável dependendo da espécie, está em continuidade com a membrana mucosa da cavidade bucal. Os dentes não estão presentes, entretanto, botões dentários podem ocorrer em algumas aves, como as dos gêneros *Falco* e *Harpagus*, o que facilita a dilaceração das presas (BANKS, 1991; GEORGE; CASTRO, 1998; MENQ, 2011).

O epitélio que reveste o esôfago é estratificado pavimentoso, podendo apresentar intensa queratinização. A lâmina própria é formada por tecido conjuntivo frouxo com tecido linfático difuso e alguns nódulos linfáticos. A camada mucosa apresenta dobras longitudinais. A muscular da mucosa é formada por uma massa ondulada de músculo liso orientado em sentido longitudinal. O esôfago ainda apresenta glândulas mucosas simples tubuloalveolares ramificadas. As camadas submucosa, muscular, adventícia e serosa são típicas, similares à de outros vertebrados (BANKS, 1991; GEORGE; CASTRO, 1998; MONTEIRO et al., 2009).

O papo é um divertículo esofagiano, mais desenvolvido em aves granívoras. É revestido por um epitélio estratificado pavimentoso mais espesso que o do esôfago, podendo ser muito queratinizado. A lâmina própria é formada por tecido conjuntivo frouxo com tecido linfático difuso e alguns nódulos linfáticos. O acúmulo de tecido linfático é especialmente evidente no papo. Glândulas mucosas simples tubuloalveolares ramificadas estão presentes em aves anseriformes, porém ausentes nas aves galiformes e columbiformes. As outras camadas são típicas, semelhantes ao do esôfago (BANKS, 1991; GEORGE; CASTRO, 1998).

O proventrículo representa o estômago glandular das aves. Sua organização de camadas está de acordo com o padrão geral da maioria dos órgãos do sistema digestório, com mucosa, submucosa, muscular e serosa. A camada mucosa é muito pregueada, formando dobras achatadas separadas por fendas ou sulcos. As glândulas mucosas, que são tubulares simples ramificadas, se abrem nas bases dos sulcos. Elevações da camada muscular contêm aberturas dos ductos excretores das glândulas proventriculares. O epitélio da mucosa é formado basicamente por células prismáticas em arranjo simples, que se estendem para o interior dos sulcos, porém quando continua para o interior das glândulas mucosas, apresenta-se na forma de epitélio simples cúbico. A lâmina própria é típica e contém numerosos acúmulos de tecido linfóide, que podem ser nodulares ou difusos. A muscular da mucosa é formada por uma camada interrompida de fibras longitudinalmente orientadas, cujos feixes estão interdigitados entre as glândulas mucosas (BANKS, 1991; DELLMANN, 1993; GEORGE; CASTRO, 1998; MONTEIRO et al., 2009).

A camada submucosa do proventrículo é estreita e deslocada pelas grandes e numerosas glândulas submucosas, que podem ser compostas, ramificadas ou tubulares. A camada muscular é constituída pelas camadas longitudinal interna, circular média e longitudinal externa. A camada serosa é típica (BANKS, 1991).

O ventrículo, moela ou estômago mecânico está conectado ao proventrículo por um istmo estreito que não apresenta glândulas submucosas. A superfície do lúmen está revestida por um produto de secreção queratinóide, que é produzido pelas glândulas mucosas. O epitélio de revestimento da camada mucosa é formado por células prismáticas. As células superficiais continuam para o interior das glândulas e são substituídas por células semelhantes às caliciformes. As glândulas mucosas são retas e tubulares. A lâmina própria e a submucosa são típicas. A camada muscular é formada por músculo liso e por tecido conjuntivo denso modelado, presente na margem lateral do ventrículo (HODGES, 1974; BANKS, 1991).

O intestino delgado não é divisível histologicamente em regiões diferentes, e exceto por esse fato, é muito similar ao dos mamíferos. Sua parede é composta por quatro camadas: mucosa, submucosa, muscular e serosa. (HODGES, 1974; BANKS, 1991; GEORGE; CASTRO, 1998).

A mucosa é constituída por um revestimento epitelial, por uma lâmina e por uma camada muscular. O epitélio de revestimento é simples cilíndrico com células caliciformes e borda estriada. A lâmina própria é composta por tecido conjuntivo frouxo com tecido linfóide nodular e difuso, além de capilares. A muscular da mucosa, formada por células musculares lisas (BANKS, 1991; GEORGE; CASTRO, 1998; MONTEIRO, 2009)

Os cecos são dois apêndices em fundo cego, unidos à junção entre o intestino delgado e o grosso. Os vilos estão presentes no orifício, porém diminuem e são perdidos ao final do órgão. A lâmina própria e a túnica submucosa contêm tecido linfóide difuso e agregado. A junção deste órgão às outras porções do intestino é constituída por um esfíncter formado pela subcamada circular interna da camada muscular (HODGES, 1974; BANKS, 1991).

O reto tem vilos curtos e espessos, com muitas células caliciformes. Exceto essa característica, as outras estruturas histológicas são similares às do intestino delgado (BANKS, 1991).

A cloaca é o orifício comum ao sistema digestório excretor e ao sistema reprodutor. A cloaca, dividida em coprodeum, urodeum e proctodeum, é revestida pelo epitélio prismático simples. A túnica mucosa é intensamente pregueada, facilitando a presença de compartimentos nessa estrutura. O tecido linfóide está presente no tecido conjuntivo associado. A bursa de Fabricius é uma invaginação do proctodeum (BANKS, 1991).

A túnica mucosa do ânus é muito pregueada, revestida por epitélio estratificado pavimentoso queratinizado. A muscular da mucosa está ausente e o músculo esquelético estriado da túnica muscular forma o esfíncter anal (BANKS, 1991).

2.3 O Sistema Neuroendócrino Difuso (SNED)

2.3.1 Histórico

As origens do conceito do SNED remetem à inter-relação entre os nervos e as células endócrinas com a regulação da atividade motora e secretora do intestino. Para melhor compreensão do SNED, torna-se relevante a apresentação de um breve histórico.

As células claras do trato gastrointestinal, que são o marco do conceito de Sistema Neuroendócrino Difuso desenvolvido por Friedrich Feyrter, foram observadas pela primeira vez por Nicolas em lagartos no ano de 1891 e descritas em 1906 por Carmelo Ciaccio (CIACCIO, 1906a; CIACCIO, 1906b). Ciaccio é lembrado pela introdução do termo “enterocromafins” para descrever a coloração das células claras com sais de cromo (MODLIN et al., 2006)

Em 1905, Paul Schiefferdecker, na Alemanha, descreveu a secreção de substâncias endócrinas pelos neurônios como um meio de comunicação entre um neurônio e uma célula efetora de um músculo ou de uma glândula. Suas observações foram baseadas em suas próprias reflexões e em ideias inicialmente propostas por Robert Tigerstedt (MODLIN et al., 2006).

A idéia original da transmissão química no sistema nervoso autônomo foi concebida por Thomas Elliott, em suas experiências para descobrir um princípio ativo nas fibras musculares estriadas esqueléticas (ELLIOTT, 1907).

O conceito da transmissão química no sistema nervoso autônomo foi fortalecido em 1914 por Walter Cannon, nos Estados Unidos, que utilizou adrenalina para demonstrar que a medula da supra-renal funcionava não apenas como uma glândula endócrina, mas também como parte do sistema nervoso autônomo, no que hoje é chamado de mecanismo de "luta ou fuga" na resposta de sobrevivência (CANNON, 1914; MODLIN et al., 2006). Suas experiências sobre a neurotransmissão química apresentaram algumas semelhanças com as realizadas por Otto Loewi (MODLIN et al. 2006).

Ainda em 1914, Pierre Masson sugeriu que as células endócrinas do intestino formavam um órgão endócrino difuso, correspondendo às células enterocromafins descritas por Ciaccio. Masson propôs que essas células poderiam ser agregadas em uma única unidade funcional. Além disso, com base em sua afinidade com a prata, classificou-as como as células de origem de tumores carcinóides, implicando, assim, estes últimos como neoplasias endócrinas (MODLIN et al. 2006).

Em 1921, Loewi, na Áustria, estabeleceu a natureza química da transmissão do impulso nervoso, comprovando a teoria de intermediários químicos em estímulos nervosos. Com isso as células secretoras do hipotálamo puderam ser demonstradas exercendo uma regulação neuro-hormonal da hipófise anterior (LOEWI, 1921). Assim, mecanismos de feedback foram identificados e a regulação do sistema nervoso central tornou-se uma parte reconhecida da regulação hormonal (MODLIN et al., 2006).

Em 1928, Masson descreveu as células enterocromafins como sendo de origem neural e sua secreção de "substâncias" como a responsável pela síndrome carcinóide (MASSON, 1928). Da mesma forma, Eros (ERÖS, 1928; ERÖS, 1931; ERÖS, 1932) e Kahlau (KAHLAU,

1931), utilizando estudos experimentais em animais, também relataram que as células claras possuíam função endócrina, produzindo substâncias semelhantes aos hormônios.

Em 1938, Feyrter, na Áustria, publicou um trabalho sobre órgãos endócrinos difusos no epitélio, apresentando os resultados de uma década de investigação do sistema endócrino do pâncreas e sobre as células enterocromafins do trato gastrointestinal (FEYRTER, 1938). Neste manuscrito, ele estabeleceu um novo conceito na área de endocrinologia, proclamando a existência de um SNED contrário ao previamente aceito de glândulas endócrinas e 'órgãos' endócrinos (MODLIN et al., 2006)

Feyrter descreveu em detalhes a existência das células claras, presentes em grupos ao longo dos ductos de glândulas mucosas do pâncreas, que se desenvolviam por epifitismo, proeminência e ramificação. À luz desta descoberta e analisando mais profundamente a estrutura do pâncreas utilizando a técnica de Masson para coloração por prata, Feyrter previu uma nova representação celular do pâncreas e descreveu-o como tendo quatro características principais (FEYRTER, 1934):

1ª - três linhagens de células nos ductos pancreáticos: as do ducto epitelial exócrino, as do ducto da glândula exócrina mucosa e as células endócrinas claras que aparecem em grupos ou individualmente, que não coram;

2ª - dois tipos de células endócrinas: as ilhotas de Langerhans e as células claras, classificando o pâncreas como um órgão endócrino difuso;

3ª - grupos de células claras que desempenhavam um papel na patologia, devido à sua capacidade hiperplásica, adenomatose e desenvolvimento avançado de ramificações, e

4ª - regeneração de tecido endócrino do pâncreas no local das células claras.

Na conclusão de seu manuscrito, Feyrter sugeriu que o sistema endócrino humano não consistia apenas de órgãos epiteliais compactos, que liberavam os hormônios na linfa e sangue, mas também era constituído por células endócrinas difusas que estavam presentes individualmente ou em grupos. Estas células eram evidentes não só dentro do sistema de ductos do pâncreas, mas também em células epiteliais por todo o corpo, e seu sincício formava "órgãos epiteliais endócrinos difusos" (MODLIN et al., 2006)

Feyrter forneceu exemplos desses últimos e correlacionou suas descobertas no pâncreas com as "células amarelas" epiteliais intestinais de Schmidt. Embora as últimas células mostrassem características semelhantes às células claras do pâncreas em relação à sua localização e formação dentro da mucosa, Feyrter observou que as "células amarelas" epiteliais intestinais de Schmidt só se desenvolviam por endofitismo ou brotamento quando induzidas por inflamação, um termo que tinha sido originalmente usado por Masson (SCHMIDT, 1905; MASSON, 1914).

Feyrter sugeriu que o processo de proeminência era o mecanismo que levava ao desenvolvimento de carcinóides no trato gastrointestinal. As semelhanças entre as células claras de Feyrter e as células amarelas de Schmidt, bem como o fato de que os carcinóides derivados destes tipos de células ocorriam com prevalência variável em todo o intestino, sugeriram a Feyrter que havia diferentes tipos de "células amarelas", com diversas funções e localizações nas regiões do epitélio gastrointestinal (MODLIN et al., 2006)

Além disso, em alusão aos plexos de Meissner e de Auerbach, Feyrter sugeriu que as células endócrinas difusas também eram conectados à uma rede neural através da parede do trato gastrointestinal (MODLIN et al., 2006).

Feyrter ainda comparou o sistema endócrino difuso ao tecido neuroendotelial encontrados na associação anatômica da zona interior do córtex da adrenal com a medula da adrenal e propôs

que o SNED desenvolveu-se pela quimiotaxia de células do tecido nervoso para locais específicos do corpo (MODLIN et al., 2006).

Em 1939, Sunder-Plassmann sugeriu que as células claras originavam-se a partir da crista neural (SUNDER-PLASSMANN, 1939), e em 1940, Altmann (ALTMANN, 1940) apresentou a hipótese que algumas das células podem ser sensores químicos derivados do neuroectoderma, em seu manuscrito relativo às células parafoliculares da tireóide e suas relações com as células amarelas do intestino. Esse conceito foi apoiado por Pagés em 1955, na França, em sua tese sobre o sistema de células claras de Feyrter (PAGÉS, 1955).

Em 1966, Pearse, em Londres, finalmente forneceu um sistema de classificação que unificava a variedade de células endócrinas difusamente espalhadas com introdução do termo APUD (*Amine Precursor Uptake and Decarboxylation*), devido à capacidade das células endócrinas de captar precursores de aminas biologicamente ativas, produzir aminas ativas por meio da descarboxilação intracelular, e posteriormente armazená-las em grânulos de secreção. Essa sigla reuniu num conjunto as principais características bioquímicas comuns para todas essas células e possibilitou Pearse a propor uma hipótese unificadora. Mais de 40 células, incluindo as células claras de Feyrter, não só eram capazes de processar aminas e de produzir hormônios polipeptídeos, mas também compartilhavam várias características citoquímicas e ultra-estruturais que permitiu que elas fossem classificadas em um único grupo (PEARSE, 1968; PEARSE, 1969, RODRIGUES; FONSECA; NEVES, 2005).

Essas células não foram apenas localizadas dentro do Sistema Neuroendócrino Difuso, mas também dentro de glândulas endócrinas clássicas, como, a tireóide, e em tecidos nervosos, como o hipotálamo, por exemplo. Pearse também propôs que todas as células da série APUD eram derivadas da crista neural (PEARSE, 1977). Essas células não eram apenas coordenadas entre si no que diz respeito à produção de peptídeos e aminas com atividade hormonal, como os hormônios parácrinos e os neurotransmissores, mas também foram acoplados com o sistema nervoso somático e autônomo como um controlador super-ordenado (DAY; SALZET, 2002).

A descoberta inicial de Feyrter desencadeou a fase em que endocrinologia classificou as células neuroendócrinas como um grupo coeso por meio do conceito de SNED ou do modelo APUD. Como os campos de endocrinologia gastroenterológica, de endocrinologia peptídica e de neuroendocrinologia tornaram-se cada vez mais interligados, os conceitos originais foram ampliados e revistos devido aos melhores resultados das técnicas de coloração, ao avanço das metodologias de biologia molecular e da identificação de neuropeptídeos e marcadores de células (HSU et al., 1981; BISHOP; POLAK, 1989; BISHOP; POWER; POLAK, 1988; LANGLEY, 1994).

Continua a ser uma questão de debate se as células da série APUD são de origem ectodérmica ou endodérmica. Pearse foi o primeiro a sugerir que todas as células dessa série eram derivadas da crista neural, tentando fornecer evidências para a sua hipótese por meio de experimentos com embriões de galinha (PEARSE; POLAK, 1971). Embora os resultados tenham apoiado claramente uma origem ectodérmica, o mesmo concluiu que a origem ainda não estava totalmente determinada (MODLIN et al., 2006).

Apesar de ter modificado a sua teoria original, introduzindo o termo "epiblasto neuroendócrino-programado", ele postulou que enquanto as características funcionais de células neuroendócrinas atendiam à hipótese neuroectodérmica, as características morfológicas indicavam um desenvolvimento endodérmico (MODLIN et al., 2006)

No entanto, para Pearse, a origem das células não era uma questão fundamental, ele estava mais preocupado com a identificação das células e se as mesmas tinham plasticidade fenotípica ou já estavam pré-determinadas para suas funções (PEARSE; TAKOR, 1979).

A visão atual do SNED inclui neurônios e células endócrinas partilhando de um programa comum fenotípico caracterizado pela expressão de marcadores, como neuropeptídeos, cromograninas, enzimas de processamento de neuropeptídeos, além de SPC2, SPC3 e UCHL1, que são biomarcadores neuronais (DAY; SALZET, 2002; SOWER; SUZUKI; REED, 2000; DAY, 2010; TOESCU, 2012).

2.3.2 Peptídeos Reguladores e Aminas Biogênicas

As células do Sistema Neuroendócrino Difuso podem sintetizar e secretar diferentes tipos de substâncias como gastrina, secretina, insulina, glucagon, motilina, serotonina, colecistoquinina, somatostatina, entre outras (GARTNER; HIAT, 2003; LEBOFFE, 2005; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008; OVALLE; NAHIRNEY, 2008; GARTNER; HIAT, 2011; ROSS; PAWLINA; BARNASH, 2012). Essas células foram identificadas no sistema digestório de diversos vertebrados, como especificado na introdução do trabalho (POLAK et al., 1974; PINHEIRO, CARDOSO & SALES, 1989; YAMANAKA et al., 1989; YAMADA, et al., 1993; BALTAZAR et al., 1998; AGUNGPRIYONO et al., 2000; KU, LEE, PARK, 2001; KU et al., 2003; LEE & KU, 2004; TRANDABURU & TRANDABURU, 2007; NASCIMENTO et al. 2007; MACHADO-SANTOS et al., 2009; MENDES et al., 2009; ATALAR; BAYRAKDAR, 2011).

As células secretoras das substâncias supracitadas podem ser classificadas quanto à forma de liberação do conteúdo dos seus grânulos como endócrinas (percorrem trechos pela circulação sanguínea para agir na célula-alvo), parácrinas (produto liberado no interstício e ação em células vizinhas) ou neurócrinas (substância idênticas à neurosecreções) (GARTNER; HIAT, 2003; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008)

O referencial teórico desta seção terciária foi elaborado de acordo com os peptídeos reguladores estudados neste trabalho, que foram o enteroglucagon, a gastrina, a serotonina e a somatostatina.

- **Enteroglucagon (Glucagon)**

É um hormônio polipeptídico sintetizado pelas células alfa das ilhotas pancreáticas e também por células dispersas pelo tubo gastrointestinal, principalmente estômago e intestino delgado. O glucagon tem papel regulador na estimulação da glicogenólise pelos hepatócitos, elevando os níveis de glicose no sangue. O aumento da secreção de glucagon é regulado por diversos fatores como: a diminuição da glicose no plasma, o aumento das catecolaminas-norepinefrina e epinefrina, o aumento dos aminoácidos no plasma, influência do sistema nervoso simpático, da acetilcolina e da colecistoquinina, enquanto sua diminuição é regulada pela somatostatina e pela insulina (GARTNER; HIAT, 2003; ALBERTS, 2010).

- **Gastrina**

A atividade secretora tanto das células parietais como das células principais é controlada pelo sistema nervoso autônomo e pelo hormônio gastrina secretado pelas células neuroendócrinas da região pilórica do estômago (YOUNG et al., 2007).

A gastrina é liberada pelas células G localizadas nas glândulas gástricas na região do antro do estômago e do duodeno, que estão, também, dispersas nas ilhotas de Langerhans. A gastrina estimula a liberação gástrica de HCl pelas células parietais do estômago e a motilidade gástrica, aumentando a contração da musculatura lisa (GARTNER & HIATT, 2003).

A gastrina também possui um efeito trófico na mucosa gástrica, com a estimulação do seu crescimento, esvaziamento e taxa de divisão celular das células regeneradoras gástricas. (GARTNER & HIATT, 2003; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2008).

▪ **Serotonina**

Essa amina biogênica apresenta 3 nomes: Enteramina, serotonina e 5-hidroxitriptamina (5-HT). O primeiro foi dado por Erspamer em 1930 a uma amina das células enterocromafins. O segundo nome foi dado por Rapport em 1948 a uma amina vasoconstrictora do soro sanguíneo. O produto biologicamente ativo nos dois casos foi identificado quimicamente com a 5-hidroxitriptamina (5-HT), que foi detectada também como um neurotransmissor do sistema nervoso (MAVC, 2003).

A 5-hidroxitriptamina distribui-se no organismo nas seguintes percentagens: 90% nas células enterocromafins do trato gastrointestinal, 8% nas plaquetas e 2% no sistema nervoso central (MAVC, 2003). Tem ação moduladora na regulação do humor, do sono, da atividade sexual, do apetite, do ritmo circadiano, das funções neuroendócrinas, na temperatura corporal, na sensibilidade à dor, na atividade motora, nas funções cognitivas e também age aumentando os movimentos peristálticos (GARTNER; HIAT, 2003).

▪ **Somatostatina**

Recebeu esta denominação por sua capacidade de inibir a liberação do hormônio de crescimento (somatotrofina), tendo função inibidora em muitos órgãos como tireóide, pâncreas, estômago e vesícula biliar. Inibe também a liberação de hormônios pelas células enteroendócrinas em sua vizinhança. A somatostatina atua nas células produtoras de gastrina e nas células semelhantes às enterocromafins, inibindo a liberação de suas secreções (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2008).

No estômago (piloro) e intestinos delgado (duodeno) e grosso é produzida e secretada pelas células D, tendo como função inibir a produção de HCl gástrico, inibindo a liberação de gastrina secretada pelas células G (GARTNER; HIATT, 2003; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008; KIERSZENBAUM, 2008). No pâncreas endócrino é liberada pelas células δ das ilhotas de Langerhans, apresentando efeitos endócrinos e parácrinos. Endocrinamente atua nas células musculares lisas do TGI e da vesícula biliar, diminuindo a motilidade. Paracrinamente atua nas células α e β , inibindo a liberação de hormônios endócrinos como a insulina e o glucagon (GARTNER; HIATT, 2003; YOUNG et al., 2007). O gene que codifica a somatostatina nas células secretoras é ativado pelo AMP cíclico (ALBERTS et al., 2010).

A somatostatina é liberada em resposta ao aumento do nível de glicose, aminoácidos e quilomícrons no sangue, que ocorre após as refeições (GARTNER; HIATT, 2003).

3 METODOLOGIA

3.1 Materiais

Foram estudados os tratos gastrointestinais de 2 indivíduos de cada uma das seguintes espécies *Caracara plancus* (Falconidae) e *Asia clamator* (Strigidae).

3.2 Métodos

3.2.1 Coleta

As aves estudadas foram doadas (licença número 57/001 – CT RJ, em anexo) pelo Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS-RJ/IBAMA), já conservadas por congelamento. Posteriormente foram fixadas em formol a 10 %.

3.2.2 Técnicas histológicas e estudos histoquímicos

Foram realizadas as técnicas histológicas, com registro do material, fixação, clivagem, inclusão (desidratação, diafanização, impregnação e formação do bloco), execuções dos cortes em parafina (microtomia), coloração (hematoxilina e eosina) e montagem. Para o estudo histoquímico foram utilizadas as técnicas de PAS e Alcian blue pH 2,5.

▪ Preparação dos cortes histológicos

Fragmentos do esôfago, proventrículo, ventrículo e intestino foram fixados em formol a 10% e posteriormente colocados em álcool 70%. Estes materiais foram encaminhados para o Laboratório de Histologia e Embriologia da UFRRJ, onde foram processados pela técnica histológica de rotina que inclui: desidratação (em uma série crescente de etanol - 70° GL a 100° GL), diafanização em xilol, impregnação e inclusão em parafina para obtenção de cortes histológicos de 5µm espessura.

▪ Análise histológica e histoquímica

Protocolo histológico convencional de Hematoxilina-Eosina (HE) foi aplicado aos cortes obtidos, para o exame da arquitetura dos órgãos avaliados pela microscopia de luz. Para a análise histoquímica foram utilizadas as técnicas do ácido periódico Schiff (PAS) e do Alcian blue (AB) pH 2.5 para evidenciação de glicosaminoglicanos (GAGs) neutros e ácidos, respectivamente.

▪ Observações e Fotomicrografias

Fotomicrografias das amostras de cada um dos espécimes avaliados foram obtidas com uma câmera digital Nikon Coolpix 4300 acoplada a um microscópio Olympus BX41.

3.2.3 Estudo Imunohistoquímico

▪ Método imunohistoquímico utilizado

Complexo avidina-biotina-peroxidase, também conhecido pela sigla ABC, foi o procedimento aplicado para evidenciar células endócrinas no esôfago, proventrículo, ventrículo e intestino dos espécimes coletados para elaboração deste trabalho. Nessa técnica são usados três reagentes: O anticorpo primário, que se ligará ao receptor do hormônio específico, o qual se deseja evidenciar; o anticorpo secundário que é produzido ligado a uma molécula da vitamina biotina (C) e que se ligará a receptores do anticorpo primário; e o complexo de glicoproteínas - Avidina pronta a partir da biotina e peroxidase - (AB) que se unirá ao reagente anterior, o anticorpo secundário.

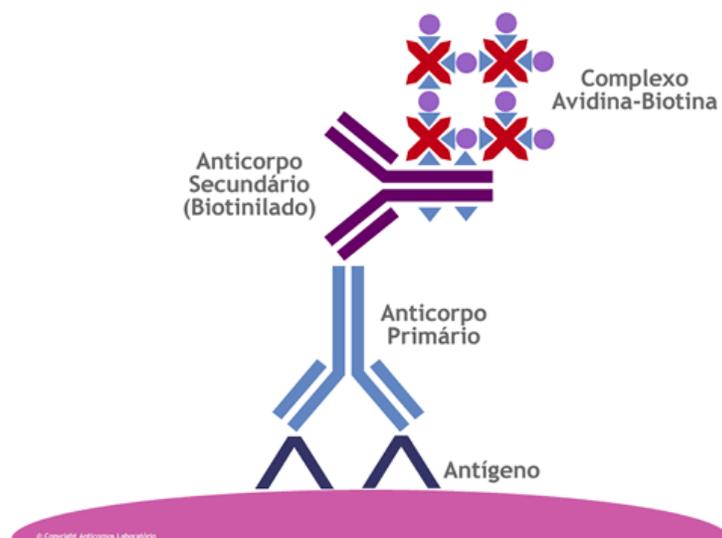


Ilustração 1. Representação do método imunoenzimático ABC -peroxidase - **Complexo avidina-biotina-enzima**. O complexo é formado pela ligação de uma molécula de (strept) avidina com várias de biotina associadas a uma enzima (peroxidase), que tem como função a conversão de um **cromógeno** incolor em um produto final que pode conferir cor aos antígenos teciduais marcados. www.elmhurst.edu/~chmvchemook614hormone.htm

Neste estudo imunohistoquímico os cortes histológicos foram submetidos às etapas de procedimento de rotina da técnica de imuno-histoquímica (Quadro 1), entre as quais inclui a incubação com os anticorpos específicos para: glucagon, serotonina (5-HT), gastrina e somatostatina (Quadro 2). Após o processamento imunohistoquímico, os cortes contracorados pela hematoxilina de Harris para melhor visualização ao microscópio.

Para investigar a especificidade das reações foram realizados controles negativos e positivos. Os controles negativos foram obtidos com a substituição do anticorpo primário por soro não imune e PBS (pH 7,4). Os controles positivos foram obtidos usando cortes histológicos de tecido para cada respectivo anticorpo, conforme indicado na ficha de dados do produto.

Quadro 1: Etapas da Técnica Imunohistoquímica

1. Preparação dos cortes histológicos (desparafinização e hidratação)

- Passagem dos tecidos em xilol (2 x 15 minutos cada).
- Passagem dos tecidos em álcool absoluto (2 x 3 minutos cada).
- Passagem dos tecidos em álcool 95% por 3 minutos.
- Passagem dos tecidos em álcool 80% por 3 minutos.
- Passagem dos tecidos em álcool 70% por 3 minutos.
- Lavagem dos tecidos em água corrente.

2. **Recuperação antigênica pelo método de irradiação por microondas.** Objetivos: Restabelecer os sítios antigênicos e eliminar as ligações cruzadas formadas com o formol. – Incubação dos tecidos no tampão citrato em um recipiente apropriado. Levá-lo ao forno de microondas, potência máxima (900 W), por tempo apropriado (3 x por 5 minutos) sempre verificando o volume do tampão.

3. Lavagem dos tecidos com tampão de lavagem (PBS) (3 x por 3 minutos).

4. **Bloqueio da peroxidase endógena** - Imersão dos tecidos em solução de peróxido de hidrogênio a 3% em metanol por 15 minutos.

5. Lavagem dos tecidos com tampão de lavagem (PBS) (3 x por 3 minutos).

6. **Bloquear sítios inespecíficos** – Incubação dos tecidos com soro normal (da espécie em que o anticorpo secundário tenha sido produzido) em câmara úmida por 30 minutos em temperatura ambiente.

7. Lavagem dos tecidos com tampão de lavagem (2 x por 3 minutos).

8. Incubação dos tecidos com **Anticorpo Primário** em câmara úmida por 1 hora em temperatura ambiente, na diluição recomendada.

9. Lavagem dos tecidos com tampão de lavagem (PBS) em câmara úmida (3 x por 3 minutos).

10. Incubação dos tecidos com **Anticorpo Secundário Biotinilado (C)** em câmara úmida por 30 minutos em temperatura ambiente.

11. Lavagem dos cortes com tampão de lavagem em câmara úmida (3 x por 3 minutos).

12. Incubação com o **Complexo Avidina Biotina(AB)** por 30 minutos em câmara úmida em temperatura ambiente.
13. Lavagem dos cortes com tampão de lavagem (3 x por 3 minutos).
14. Aplicação da solução de **substrato-cromógeno DAB**(em ambiente escuro) por 5 minutos, ou até que o preparado adquira cor acastanhada.
15. Lavagem dos tecidos em água destilada.
16. Desidratação dos tecidos em uma bateria crescente de álcoois: 80%, 95%, 100% (2x) e xilol (2x).
17. Montagem das lâminas com Entellan.

Quadro 2. Detalhes dos anticorpos primário utilizados neste estudo.

Anticorpo Primário	Código	Diluição	Laboratório
Anti-Gastrina	G0785	1:1.000	Sigma-Aldrich, Inc. USA
Anti-Somatostatina	A566	1:300	Dako Corp., CA, USA
Anti-Glucagon	G2654	1:2.000	Sigma-Aldrich, Inc. USA
Anti-Serotonina	S5545	1:8.000	Sigma-Aldrich, Inc. USA

4 RESULTADOS

4.1 Coruja-orelhuda

Os resultados relativos à essa espécie foram consolidados no quadro 3.

4.1.1 Esôfago

No estudo histológico realizado por meio da técnica de coloração de hematoxilina e eosina (figuras 1, 2 e 3), o esôfago, tanto na região proximal quanto na distal, apresenta as camadas mucosa, submucosa, muscular e adventícia (figura 1). A camada mucosa, com dobras longitudinais (figura 1), é revestida por um epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado, com poucas camadas celulares, onde desembocam glândulas mucosas tubulosas (figuras 2 e 3), podendo apresentar ramificações. A lâmina própria é constituída por tecido conjuntivo frouxo apresentando infiltração linfóide difusa (figuras 2 e 3). A muscular da mucosa é formada por músculo liso orientado em sentido longitudinal. A camada submucosa é composta por tecido conjuntivo com vasos sanguíneos e linfáticos, além do plexo de Meissner. A camada muscular apresenta células musculares estriadas esqueléticas em corte transversal e lisas em cortes transversal e longitudinal. A adventícia é formada por tecido conjuntivo frouxo (figura 1).

Por meio das técnicas histoquímicas do ácido periódico de Schiff (PAS) (figuras 4, 5 e 6) e do alcian blue (AB) PH 2,5 (figuras 7, 8 e 9) foi possível identificar a marcação positiva nas glândulas da mucosa para glicosaminoglicanos neutros e ácidos, respectivamente. Para a técnica de AB PH 2,5 foi possível identificar a reação mais forte na região basal das glândulas (figura 9).

Não foram observadas células imunorreativas à gastrina, glucagon, serotonina e somatostatina no esôfago.

4.1.2 Proventrículo

As camadas mucosa, submucosa, muscular e serosa foram observadas no proventrículo no estudo histológico realizado por meio da técnica de coloração de hematoxilina e eosina (figura 10). A camada mucosa é pregueada, formando dobras separadas por sulcos (figura 11). O epitélio da mucosa é simples cilíndrico mucossecretor e se estende para o interior dos sulcos (figura 11). As glândulas mucosas tubulares ramificadas se abrem nas bases dos sulcos (figura 11). A lâmina própria é formada por tecido conjuntivo frouxo e apresenta infiltração linfóide. A muscular da mucosa é formada por células musculares lisas longitudinalmente orientadas. A camada submucosa do proventrículo é estreita, formando septos interglandulares, e deslocada pelas grandes e numerosas glândulas submucosas tubulares (figura 12). A camada muscular é constituída pelas camadas longitudinal interna, circular média e longitudinal externa. A camada serosa é formada por tecido conjuntivo frouxo revestido por um epitélio simples pavimentoso (mesotélio).

As técnicas histoquímicas evidenciaram as células produtoras de mucopolissacarídeo no epitélio de revestimento, demonstrando um epitélio mucossecretor (figuras 13 a 16).

Foram observadas nas glândulas submucosas células imunorreativas à gastrina (figuras 17 a 20), ao glucagon (figuras 21 a 23), à serotonina (figuras 24 e 25) e à somatostatina (figuras 26 a 29).

4.1.3 Ventrículo (moela ou estômago mecânico)

As camadas mucosa, muscular e serosa foram observadas no ventrículo no estudo histológico realizado por meio da técnica de coloração de hematoxilina e eosina.

O epitélio de revestimento da camada mucosa é formado por células cilíndricas em arranjo simples. A superfície do epitélio está revestida por um produto de secreção, que é produzido pelas glândulas tubulares, evidenciadas pelas técnicas histoquímicas. A lâmina própria é constituída por tecido conjuntivo frouxo e glândulas. A camada muscular é formada por músculo liso e por tecido conjuntivo, enquanto a serosa é formada por tecido conjuntivo frouxo e mesotélio.

Não foram detectadas no ventrículo células imunorreativas à gastrina, ao glucagon, à serotonina e à somatostatina.

4.1.4 Intestinos

No estudo histológico realizado por meio da técnica de coloração de hematoxilina e eosina foram evidenciadas as camadas mucosa, submucosa, muscular e serosa (figura 30).

No intestino delgado podem ser observadas vilosidades e criptas de Lieberkühn, que são glândulas intestinais que se estendem até a camada muscular da mucosa, formada por células musculares lisas (figura 30).

O revestimento da camada mucosa apresenta um epitélio simples cilíndrico com células caliciformes e borda estriada (figura 30), representando os microvilos em microscopia óptica. As células caliciformes apresentam-se fortemente coradas pelas técnicas de PAS (figura 31) e AB PH 2,5 (figuras 32 e 33). Esta última técnica também evidenciou a presença de células secretoras de muco na base das criptas, corando fortemente suas regiões apicais (figura 33). A lâmina própria e a camada submucosa contêm tecido linfóide nodular e difuso. A camada muscular é constituída por uma camada circular interna e uma longitudinal externa. A serosa é formada por tecido conjuntivo frouxo e mesotélio.

Ligados à junção entre o intestino delgado e o intestino grosso encontram-se os cecos, que são dois apêndices em fundo cego. Os vilos estão presentes no orifício, mas diminuem e são perdidos no final do órgão. A lâmina própria e a túnica submucosa contêm tecido linfóide difuso e agregado. O intestino grosso apresenta características similares ao intestino delgado, porém com vilos mais curtos e espessos e uma quantidade maior de células caliciformes.

Foram observadas no epitélio e nas glândulas de Lieberkühn células imunorreativas ao glucagon (figuras 34, 35 e 36) e à serotonina (figuras 37 a 41).

Foram identificadas células imunorreativas à gastrina somente no epitélio (figura 42).

Não foram identificadas células marcadas com antisoro anti-somatostatina em nenhuma região dos intestinos.

4.2 Carcará

Os resultados relativos à essa espécie foram consolidados no quadro 4.

4.2.1 Esôfago

No estudo histológico realizado por meio da técnica de coloração de hematoxilina e eosina, o esôfago apresenta as camadas mucosa, submucosa, muscular e adventícia (figura 43). A

camada mucosa, com dobras longitudinais (figura 43), é revestida por um epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado (figura 44), onde desembocam glândulas mucosas tubuloacinosas, bem evidenciadas pelas técnicas histoquímicas de PAS (figuras 45 e 46) e AB PH 2,5 (figuras 47 e 48). Algumas glândulas foram observadas apenas na base e outras secretando para o lúmen. A lâmina própria é constituída por tecido conjuntivo frouxo apresentando infiltração linfóide difusa. A muscular da mucosa é formada por músculo liso orientado em sentido longitudinal. A camada submucosa é composta por tecido conjuntivo com vasos sanguíneos e linfáticos. A camada muscular apresenta células musculares estriadas esqueléticas em corte transversal e lisas em cortes transversal e longitudinal. A adventícia é formada por tecido conjuntivo frouxo (figura 43).

Não foram observadas células imunorreativas à somatostatina (figura 49), glucagon (figura 50), gastrina (figura 51), serotonina (figura 52) no esôfago.

4.2.2 Proventrículo

As camadas mucosa, submucosa, muscular e serosa foram observadas no proventrículo no estudo histológico realizado por meio da técnica de coloração de hematoxilina e eosina (figuras 53 e 54). A camada mucosa é pregueada, formando dobras separadas por sulcos (figura 55). O epitélio da mucosa é simples cilíndrico e se estende para o interior dos sulcos (figuras 53 e 55). As glândulas mucosas tubulares se abrem nas bases dos sulcos (figura 53 e 54). A lâmina própria é formada por tecido conjuntivo frouxo e apresenta infiltração linfóide. A muscular da mucosa é formada por células musculares lisas longitudinalmente orientadas. A camada submucosa do proventrículo é estreita e deslocada pelas grandes e numerosas glândulas submucosas tubulares (figura 54). A camada muscular é constituída pelas camadas longitudinal interna, circular média e longitudinal externa. A camada serosa é formada por tecido conjuntivo frouxo revestido por um epitélio simples pavimentoso (mesotélio).

As técnicas histoquímicas de AB PH 2,5 (figuras 57 a 59) e PAS (figuras 61 e 62) evidenciaram com uma forte marcação as células produtoras de mucopolissacarídeo no epitélio de revestimento da região mucosa, demonstrando um epitélio mucossecretor. Também foi observada a marcação do produto de secreção na luz das glândulas submucosas, mais forte na técnica de PAS (figuras 63 e 64) e mais fraca na técnica de AB PH 2,5 (figura 60).

Foram observadas nas glândulas submucosas células imunorreativas ao glucagon (figuras 65 a 68) e à somatostatina (figuras 69 a 72).

Não foram observadas células imunorreativas à gastrina e à serotonina.

4.2.3 Ventrículo (moela)

As camadas mucosa, muscular e serosa foram observadas no ventrículo no estudo histológico realizado por meio da técnica de coloração de hematoxilina e eosina.

O epitélio de revestimento da camada mucosa é simples formado por células cilíndricas. A superfície do epitélio está revestida por um produto de secreção, que é produzido pelas glândulas tubulares, evidenciadas pelas técnicas histoquímicas de AB PH 2,5 (figuras 73 e 74) e PAS (figuras 75 a 78). As glândulas da mucosa são tubulares, podendo apresentar ramificações (figura 75). A lâmina própria é típica. A camada muscular é formada por músculo liso e por tecido conjuntivo, enquanto a serosa é formada por tecido conjuntivo frouxo e mesotélio.

Não foram detectadas nas glândulas tubulares nem no epitélio células imunorreativas à gastrina, ao glucagon, à serotonina e à somatostatina.

4.2.4 Intestinos

No estudo histológico realizado por meio da técnica de coloração de hematoxilina e eosina foram evidenciadas as camadas mucosa, submucosa, muscular e serosa.

No intestino delgado foram observadas vilosidades e criptas de Lieberkühn, que são glândulas intestinais que se estendem até a camada muscular da mucosa, esta formada por células musculares lisas (figura 79).

O revestimento da camada mucosa apresenta um epitélio simples cilíndrico com células caliciformes e borda estriada, representando os microvilos em microscopia óptica. As células caliciformes apresentam-se coradas pelas técnicas de PAS (figura 80 e 81) e AB PH 2,5. A lâmina própria e a camada submucosa contêm tecido linfóide nodular e difuso. A camada muscular é constituída por uma camada circular interna e uma longitudinal externa. A serosa é formada por tecido conjuntivo frouxo e mesotélio.

Ligados à junção entre o intestino delgado e o intestino grosso encontram-se os cecos, que são dois apêndices em fundo cego. Os vilos estão presentes no orifício, mas diminuem e são perdidos no final do órgão. A lâmina própria e a túnica submucosa contêm tecido linfóide difuso e agregado. O intestino grosso apresenta características similares ao intestino delgado, porém com vilos mais curtos e espessos e uma quantidade maior de células caliciformes.

Foram observadas nas glândulas de Lieberkühn (figura 82) células imunorreativas ao glucagon.

Não foram identificadas células marcadas com antisoro anti-somatostatina, anti-serotonina e anti-gastrina em nenhuma região dos intestinos.

Quadro 3: Marcação imunohistoquímica em órgãos do TGI de *Asio clamator*.

	Gastrina	Glucagon	Serotonina	Somatostatina
Esôfago	-	-	-	-
Proventrículo (Glândulas Submucosas)	+	+	+	+
Proventrículo (Epitélio)	-	-	-	-
Ventrículo	-	-	-	-
Intestinos (Glândulas de Liberkühn)	-	+	+	-
Intestinos (Epitélio)	+	-	-	-

Legenda: Ausente –
Presente +

Quadro 4: Marcação imunohistoquímica em órgãos do TGI de *Caracara plancus*.

	Gastrina	Glucagon	Serotonina	Somatostatina
Esôfago	-	-	-	-
Proventrículo (Glândulas Submucosas)	-	+	-	+
Proventrículo (Epitélio)	-	-	-	-
Ventrículo	-	-	-	-
Intestinos (Glândulas de Liberkühn)	-	+	-	-
Intestinos (Epitélio)	-	-	-	-

Legenda: Ausente –
Presente +

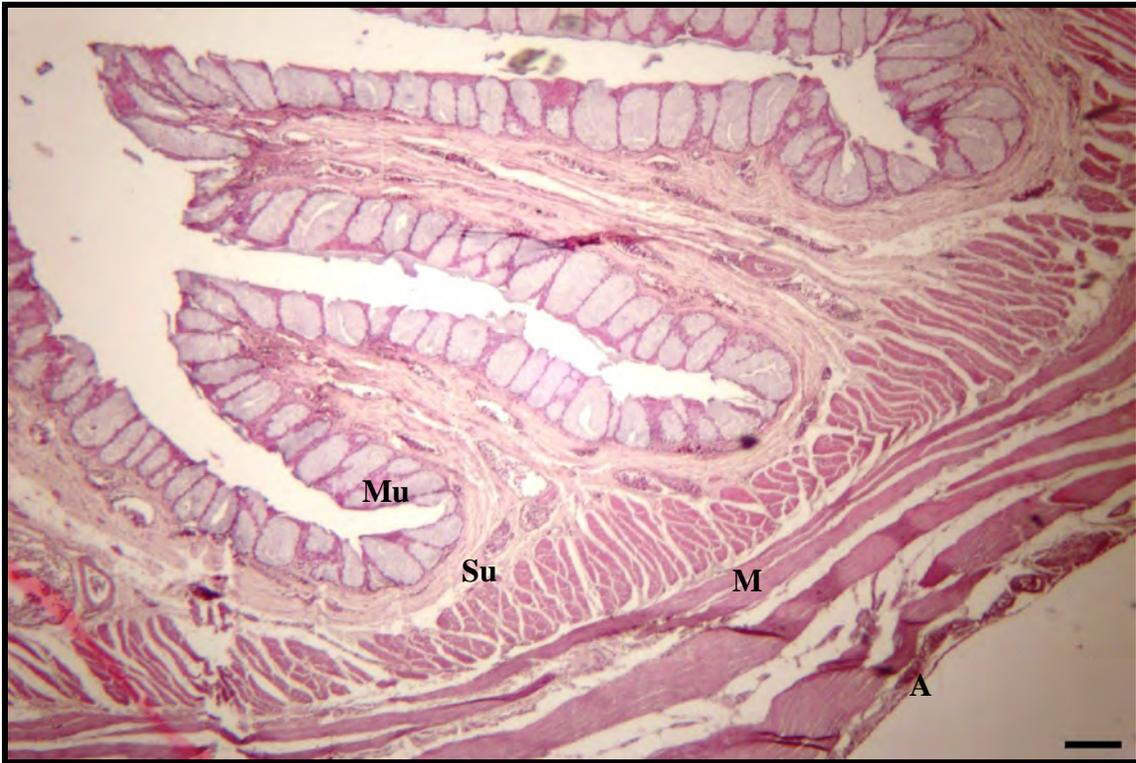


Figura 1: Esôfago de *Asio clamator*. Região proximal. Técnica: Hematoxilina e Eosina. Escala: 100µm. Mu – Mucosa, Su – Submucosa, M – Muscular e A – Adventícia.



Figura 2: Esôfago de *Asio clamator*. Camada mucosa. Técnica: Hematoxilina e Eosina. Escala: 50µm. Ep – Epitélio; GT – Glândula tubulosa

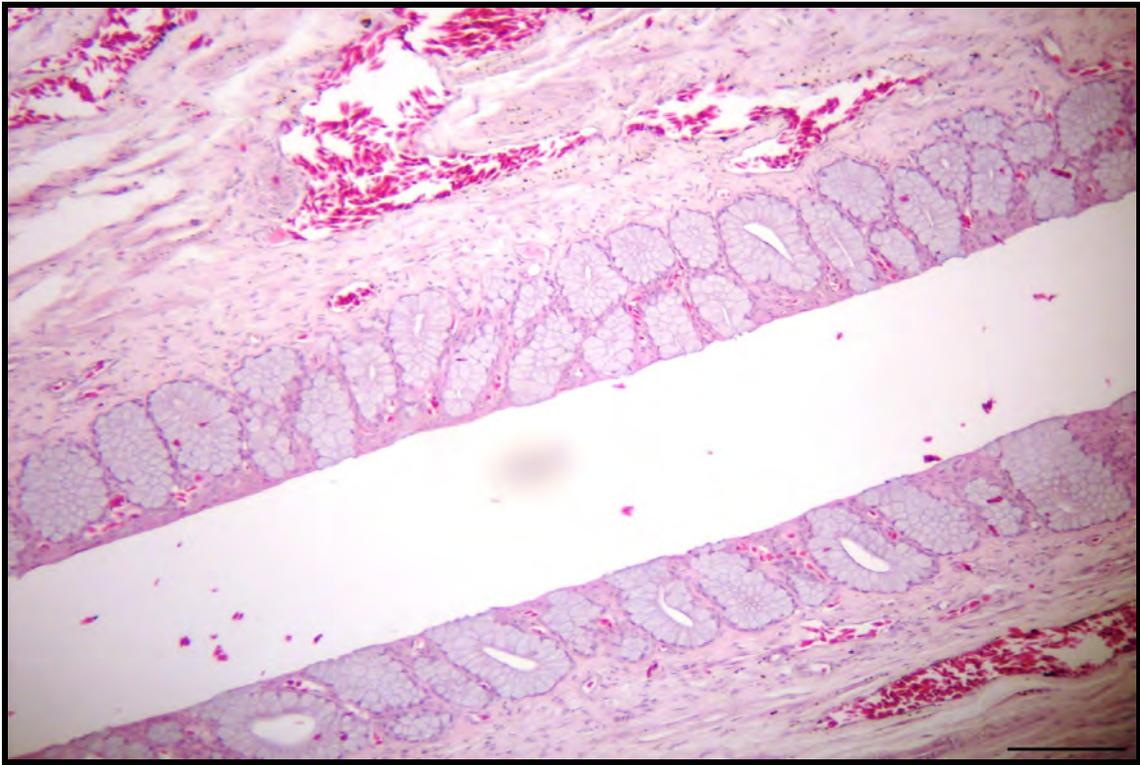


Figura 3: Esôfago de *Asio clamator*. Região distal. Técnica: Hematoxilina e Eosina. Escala: 50 μ m



Figura 4: Esôfago de *Asio clamator*. Técnica: PAS. Escala: 100 μ m

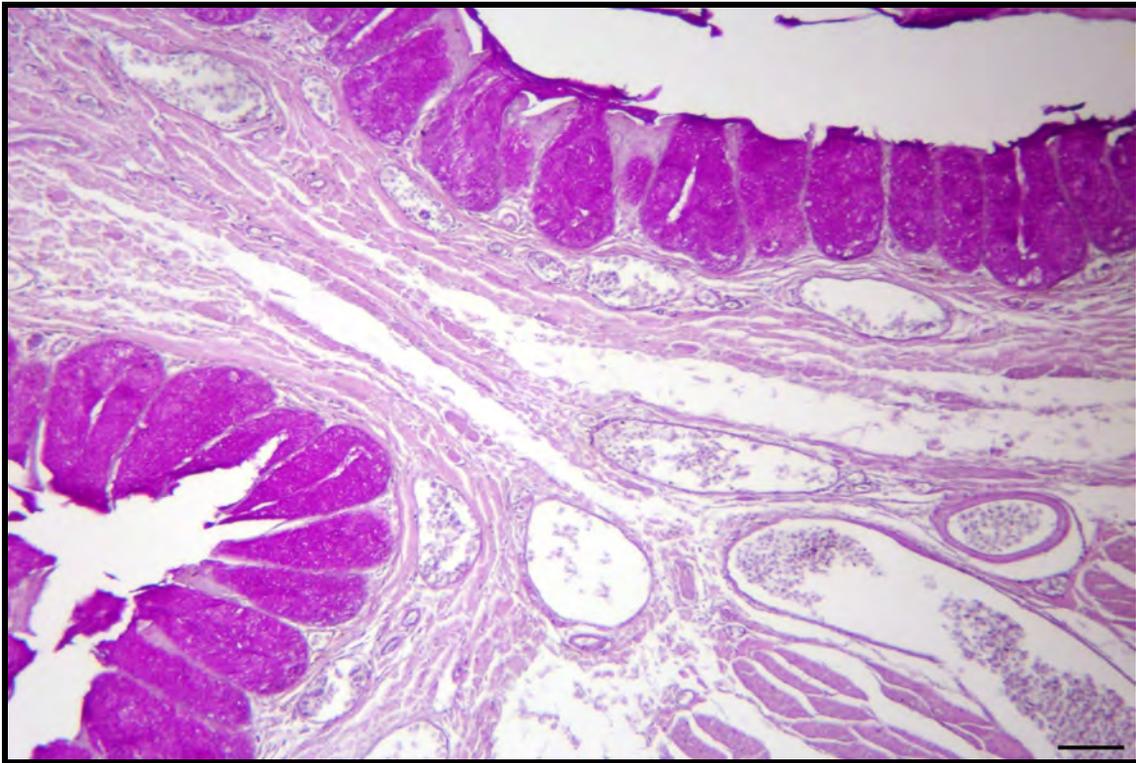


Figura 5: Esôfago de *Asio clamator*. Técnica: PAS. Escala: 50 μ m

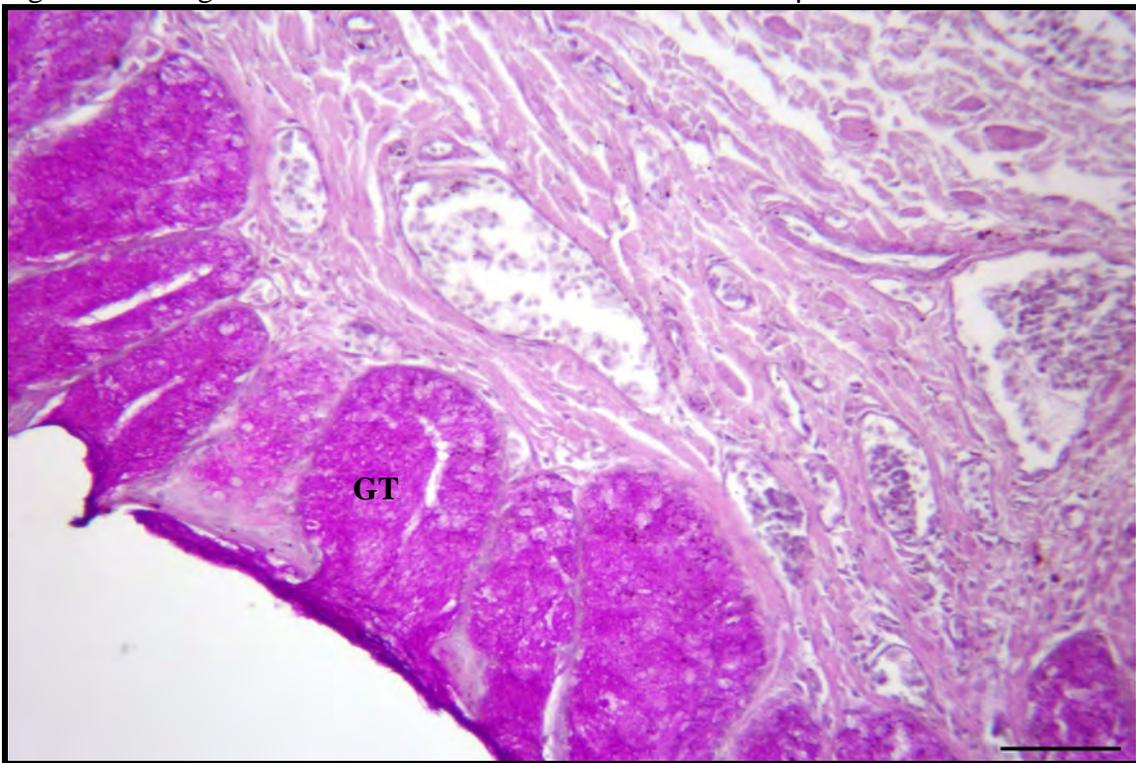


Figura 6: Esôfago de *Asio clamator*. Técnica: PAS. Escala: 50 μ m. GT – Glândula tubulosa



Figura 7: Esôfago de *Asio clamator*. Técnica: AB pH 2,5. Escala: 100µm



Figura 8: Esôfago de *Asio clamator*. Técnica: AB pH 2,5. Escala: 50µm

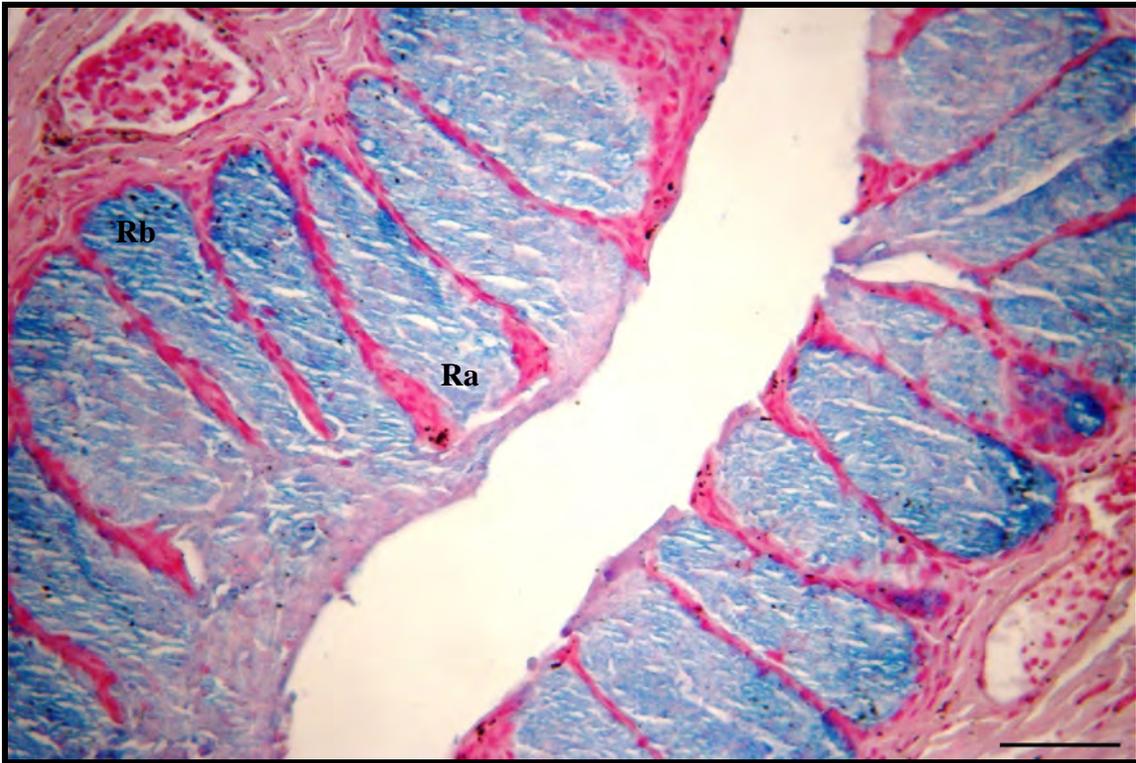


Figura 9: Esôfago de *Asio clamator*. Técnica: AB pH 2,5. Escala: 100 μ m. Ra – Região apical; Rb- Região basal

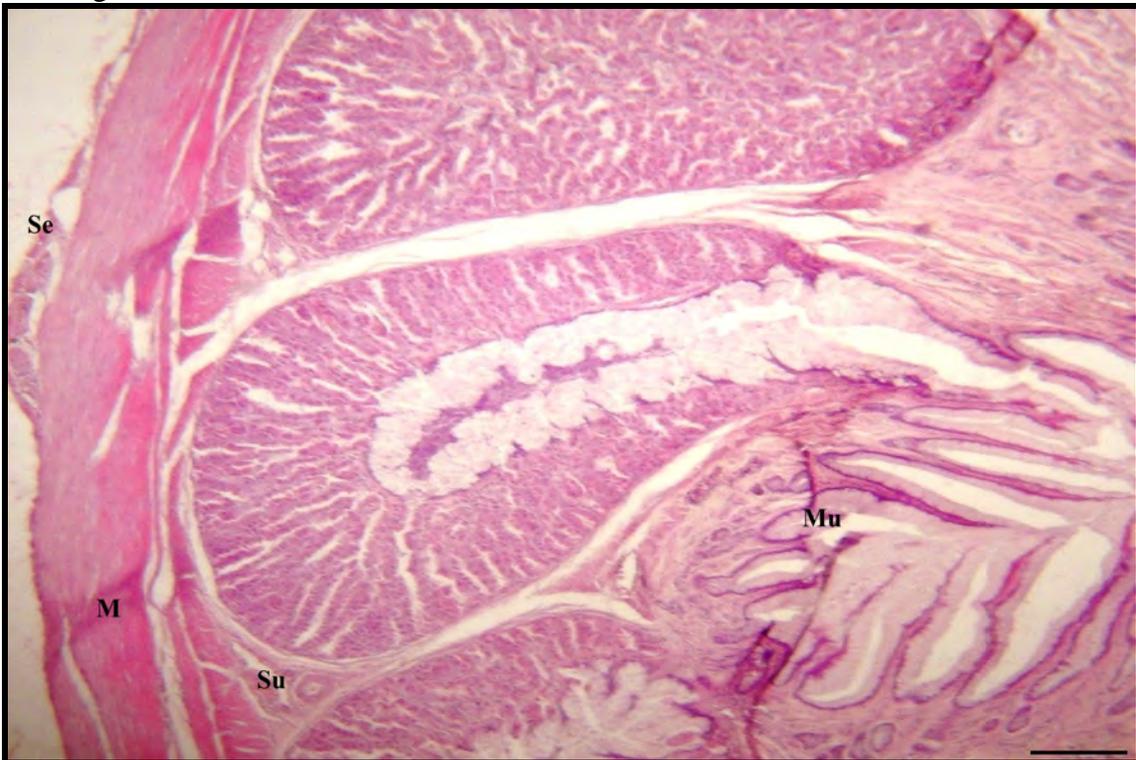


Figura 10: Proventrículo de *Asio clamator*. Técnica: Hematoxilina e Eosina. Escala: 100 μ m
Mu – Mucosa, Su – Submucosa, M – Muscular e S – Serosa.

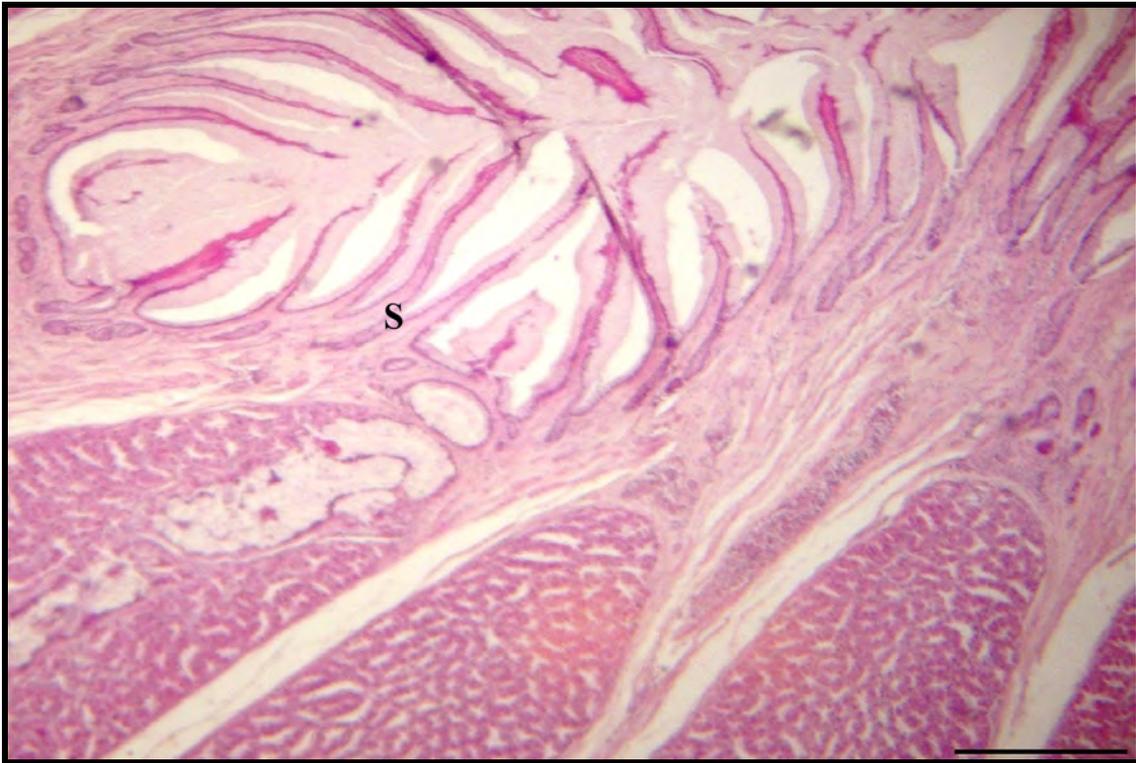


Figura 11: Proventrículo de *Asio clamator*. Técnica: Hematoxilina e Eosina. Escala: 100 μ m
S- Sulcos

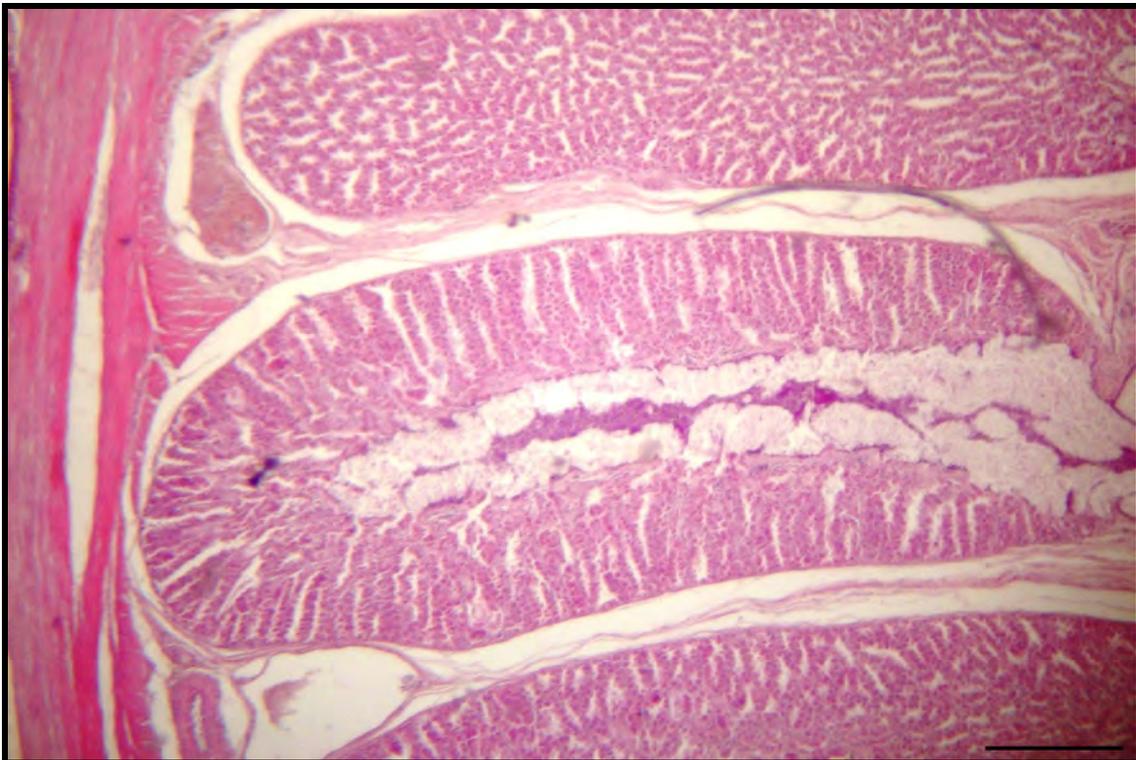


Figura 12: Proventrículo de *Asio clamator*. Técnica: Hematoxilina e Eosina. Escala: 50 μ m

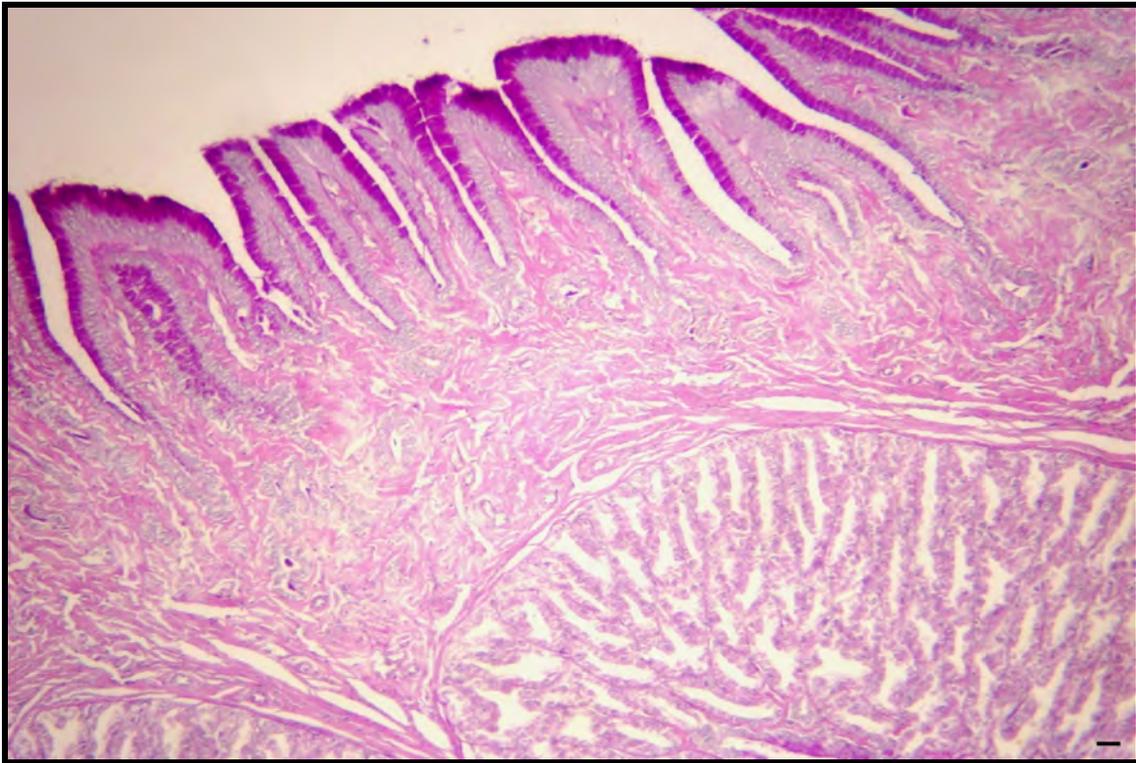


Figura 13: Proventrículo de *Asio clamator*. Técnica: PAS. Escala: 100µm

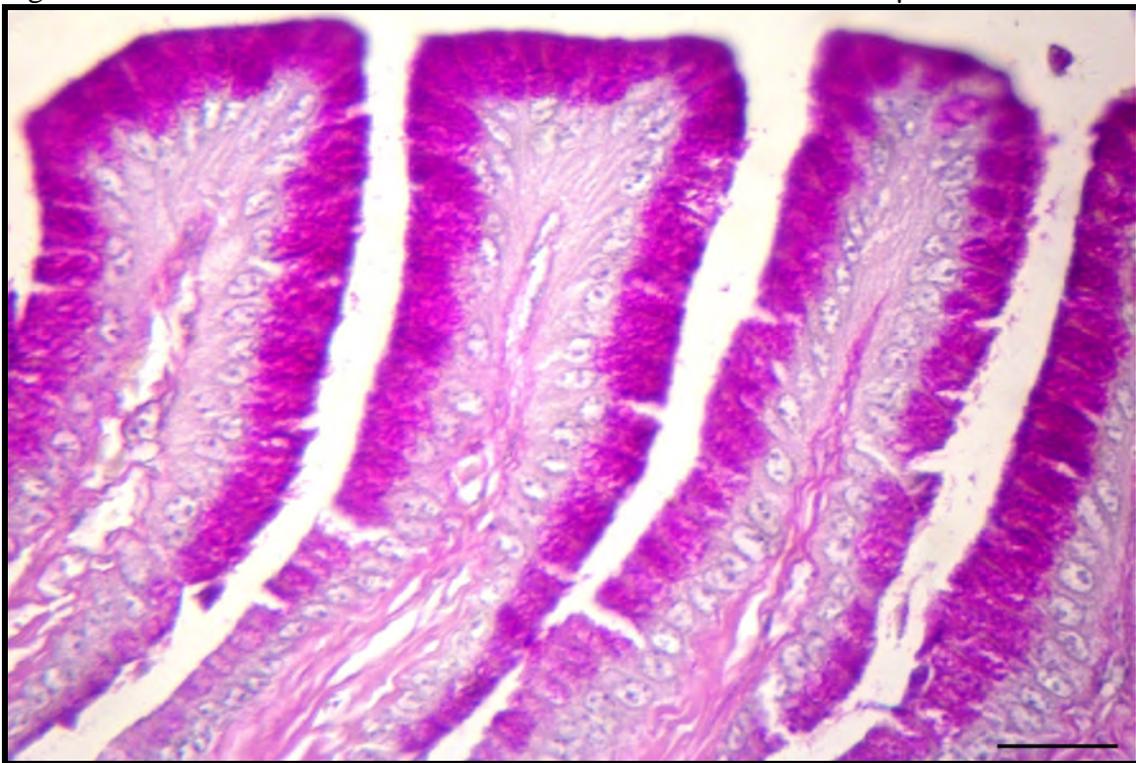


Figura 14: Proventrículo de *Asio clamator*. Técnica: PAS. Escala: 50µm

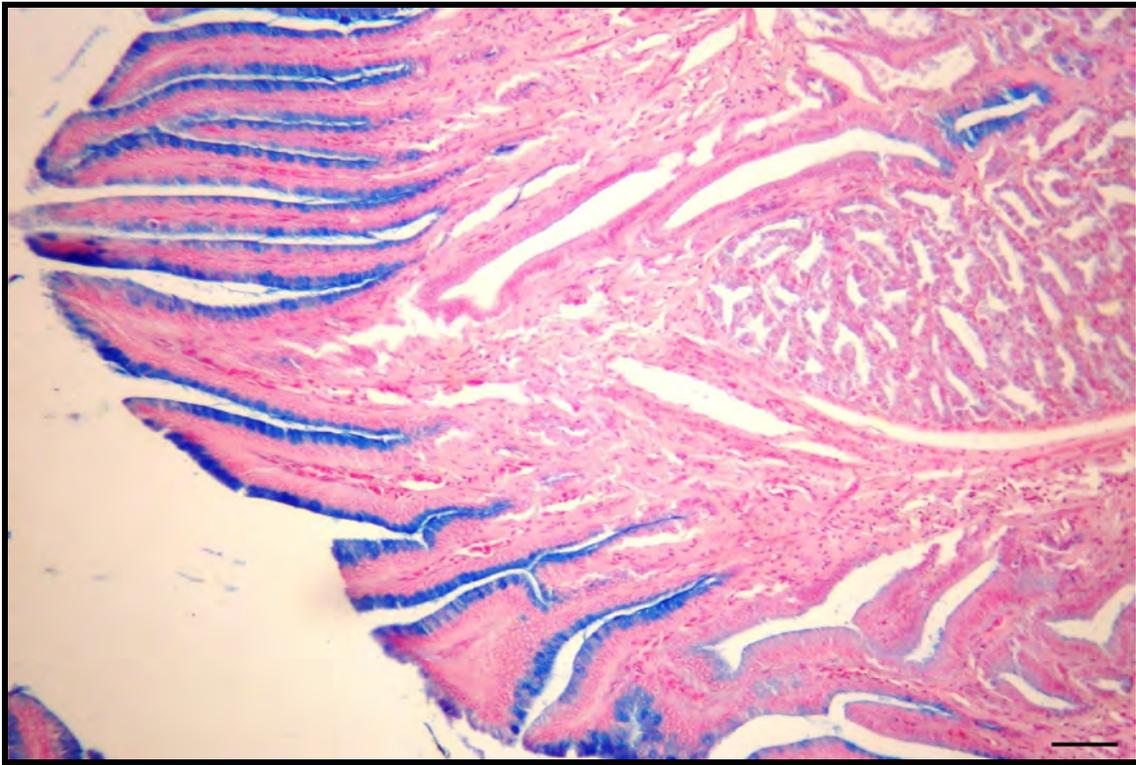


Figura 15: Proventrículo de *Asio clamator*. Técnica: AB pH 2,5. Escala: 100µm

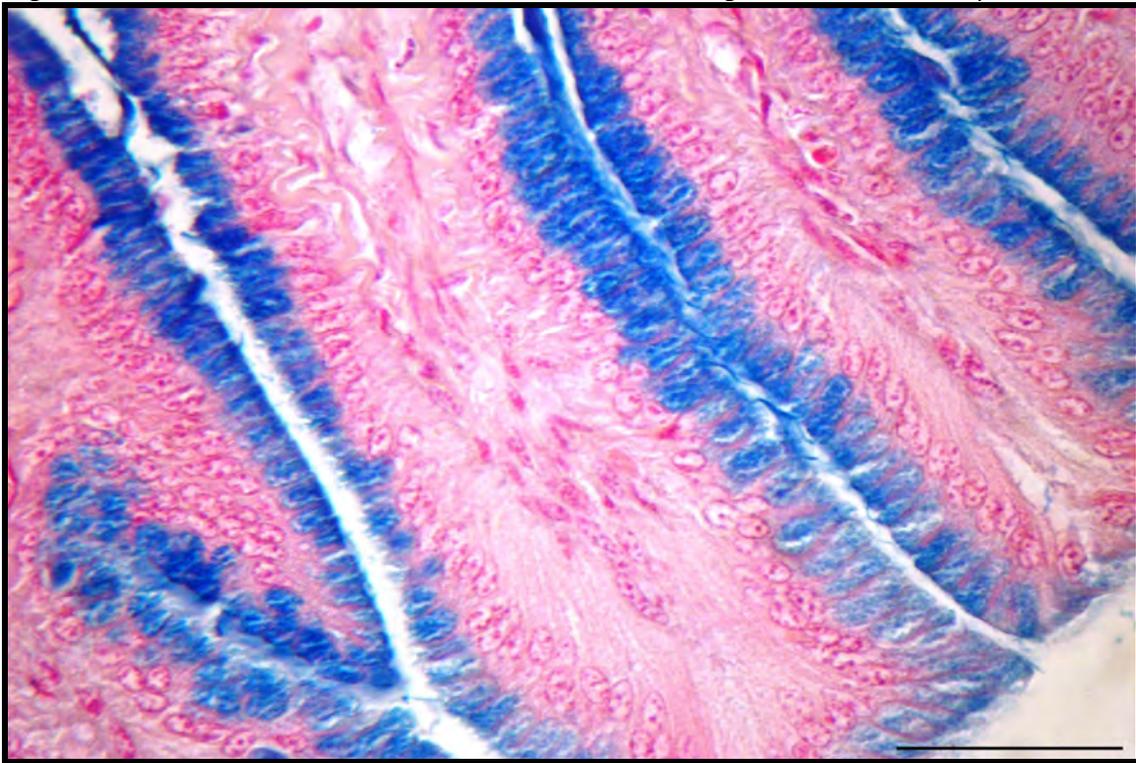


Figura 16: Proventrículo de *Asio clamator*. Técnica: AB pH 2,5. Escala: 50µm

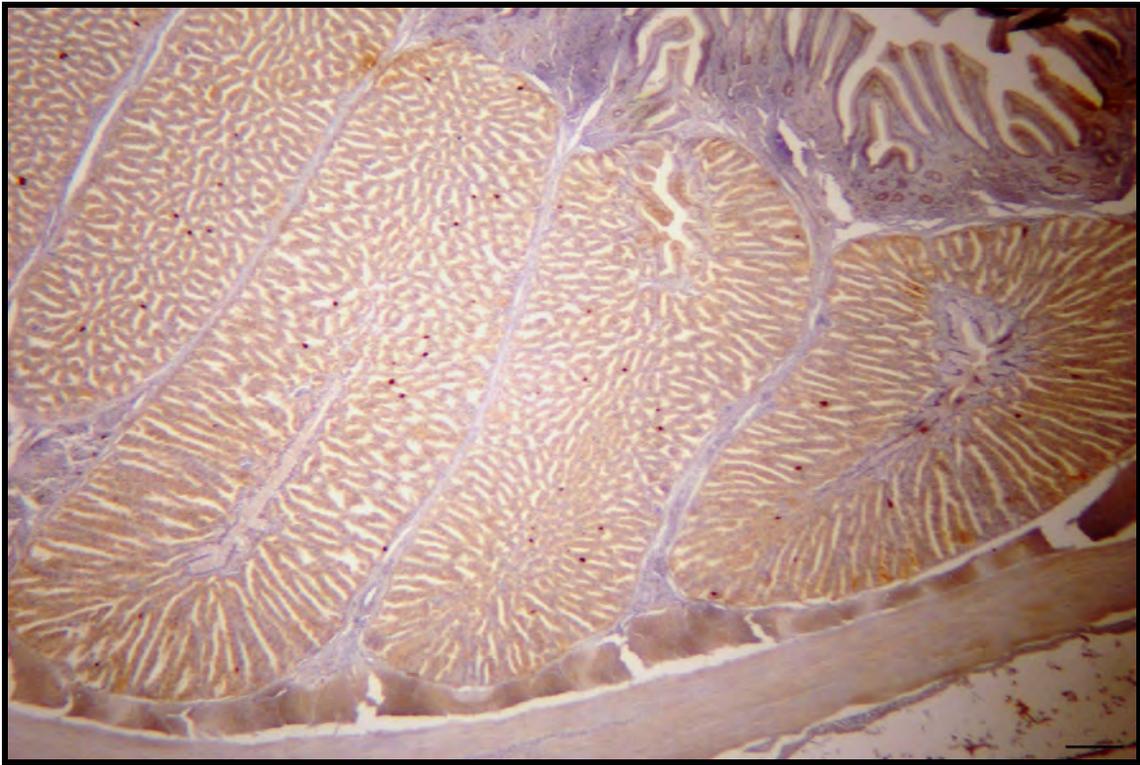


Figura 17: Proventrículo de *Asio clamator*. Técnica: Inmunoistoquímica / Células endócrinas inmunoreactivas para Gastrina. Escala: 100 μ m

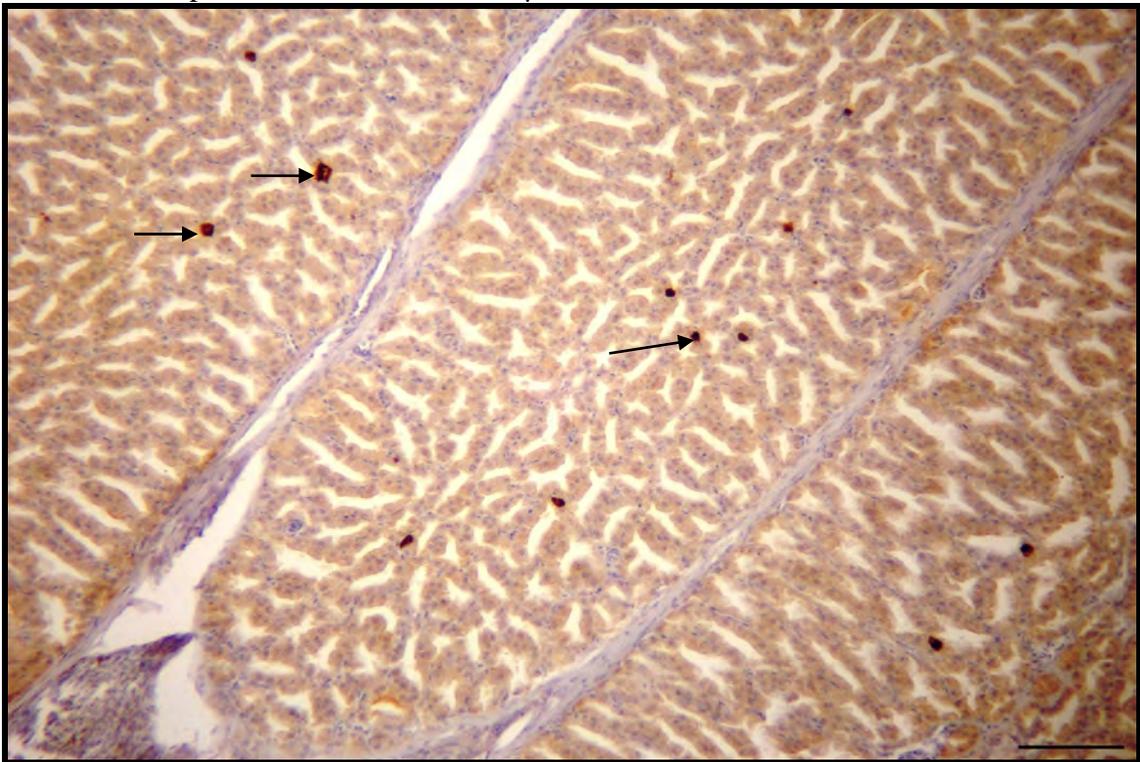


Figura 18: Proventrículo de *Asio clamator*. Técnica: Inmunoistoquímica / Células endócrinas inmunoreactivas para Gastrina. Escala: 50 μ m

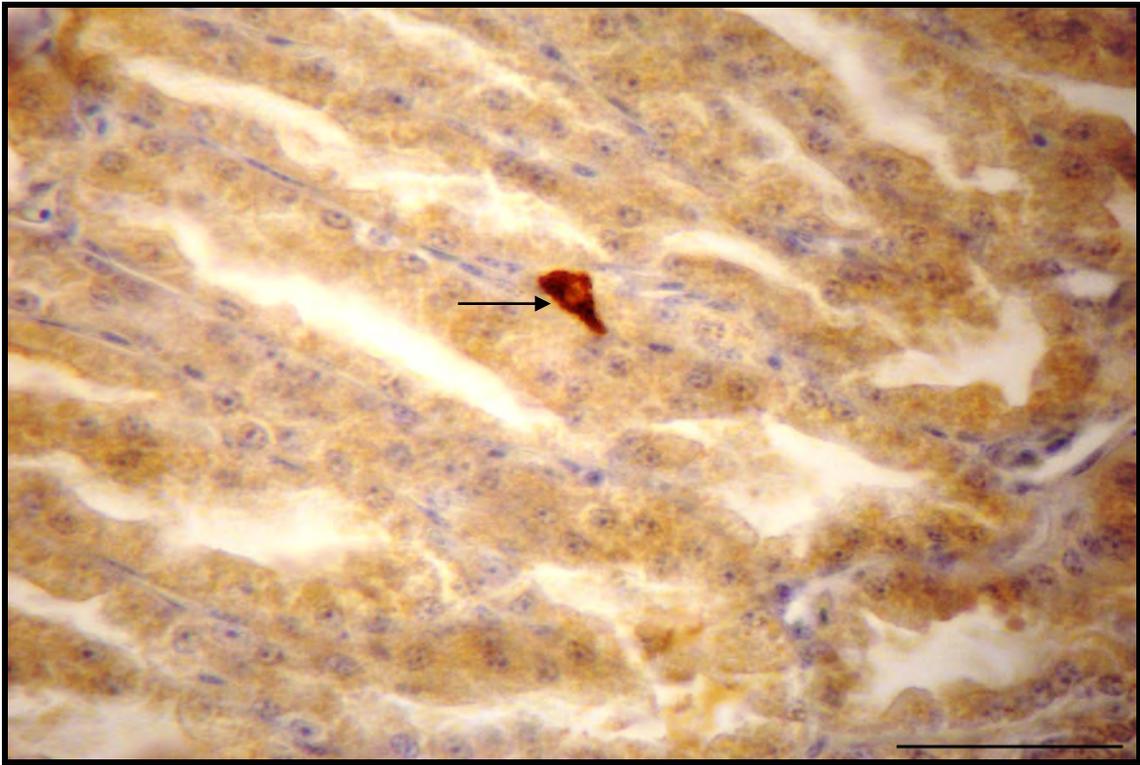


Figura 19: Proventrículo de *Asio clamator*. Técnica: Inmunoistoquímica / Células endócrinas inmunorreativas para Gastrina. Escala: 50µm

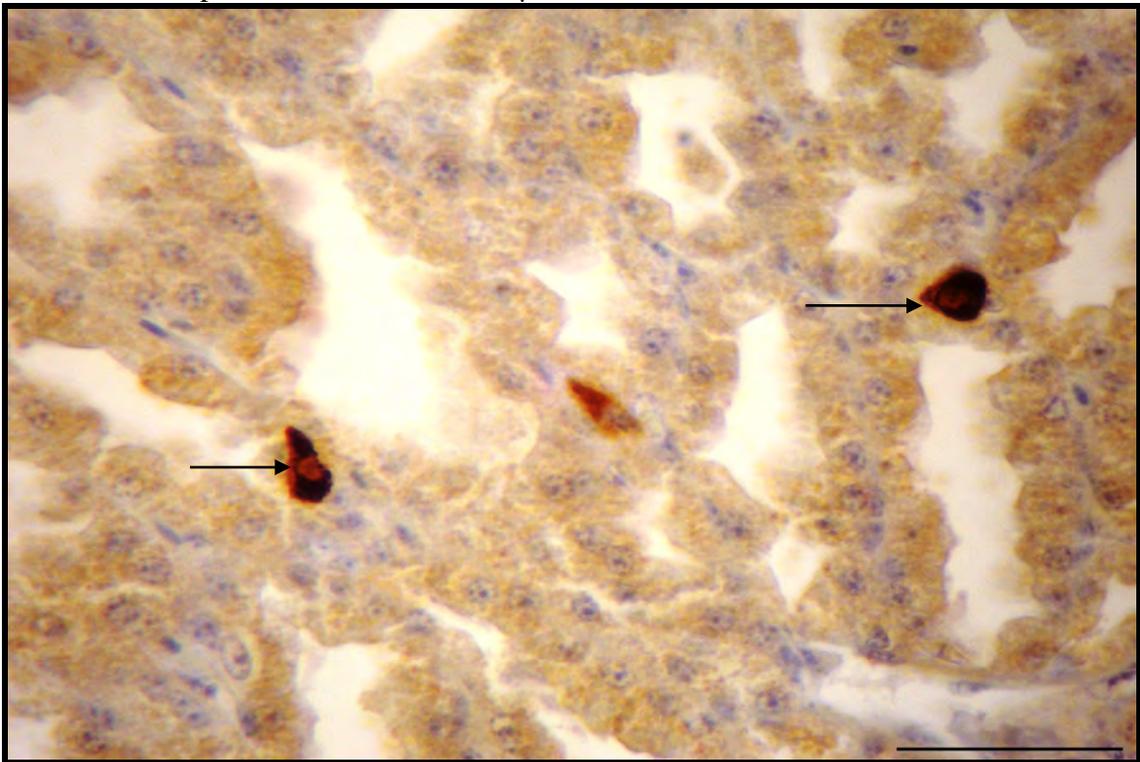


Figura 20: Proventrículo de *Asio clamator*. Técnica: Inmunoistoquímica / Células endócrinas inmunoreactivas para Gastrina. Escala: 50µm

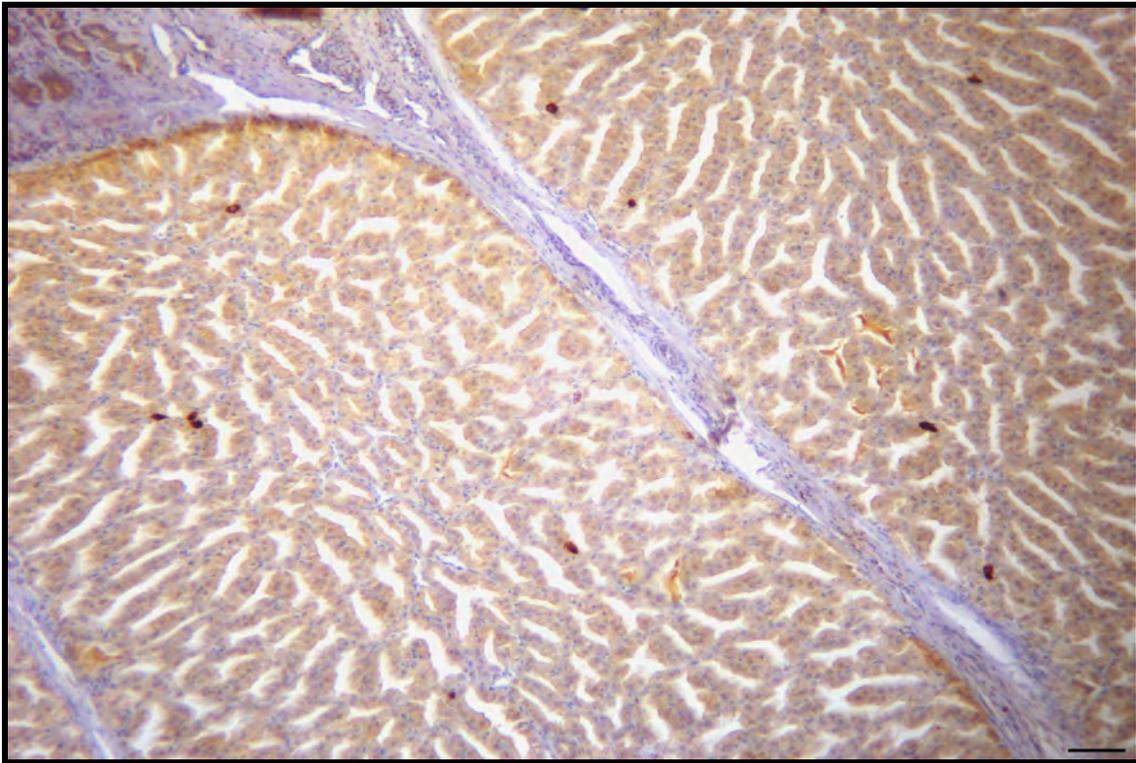


Figura 21: Proventrículo de *Asio clamator*. Técnica: Inmunoistoquímica / Células endócrinas inmunoreactivas para Glucagon. Escala: 100 μ m

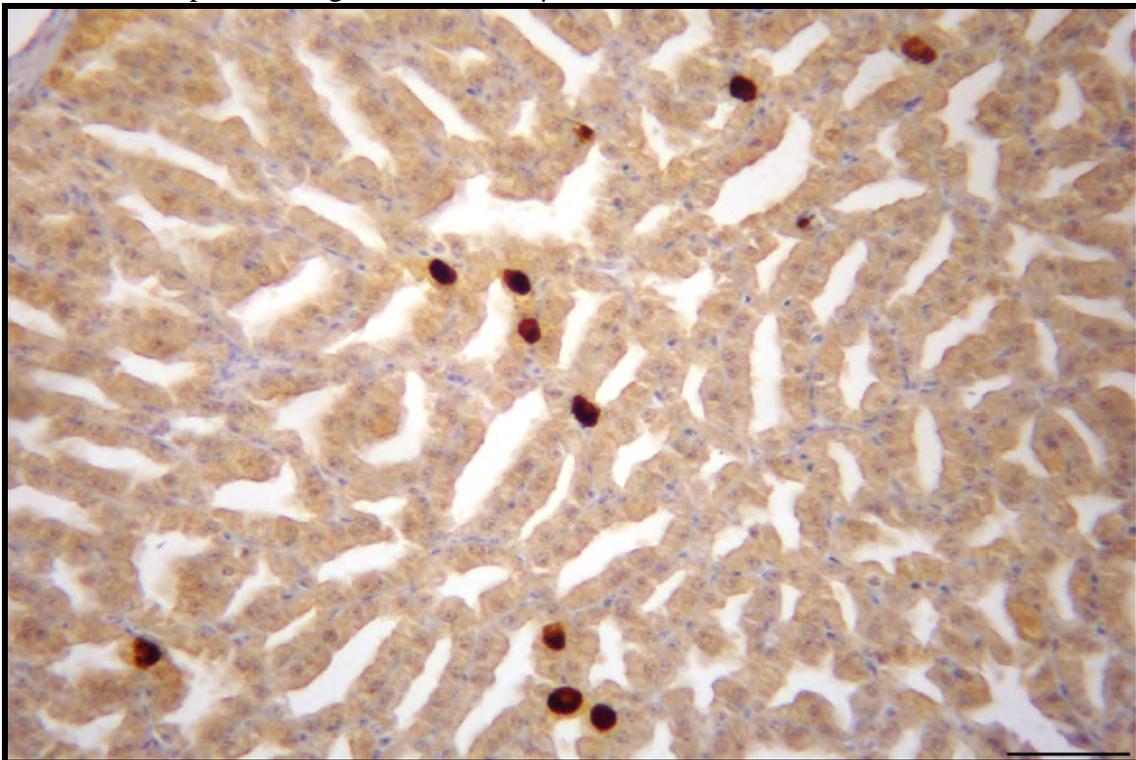


Figura 22: Proventrículo de *Asio clamator*. Técnica: Inmunoistoquímica / Células endócrinas inmunoreactivas para Glucagon. Escala: 50 μ m

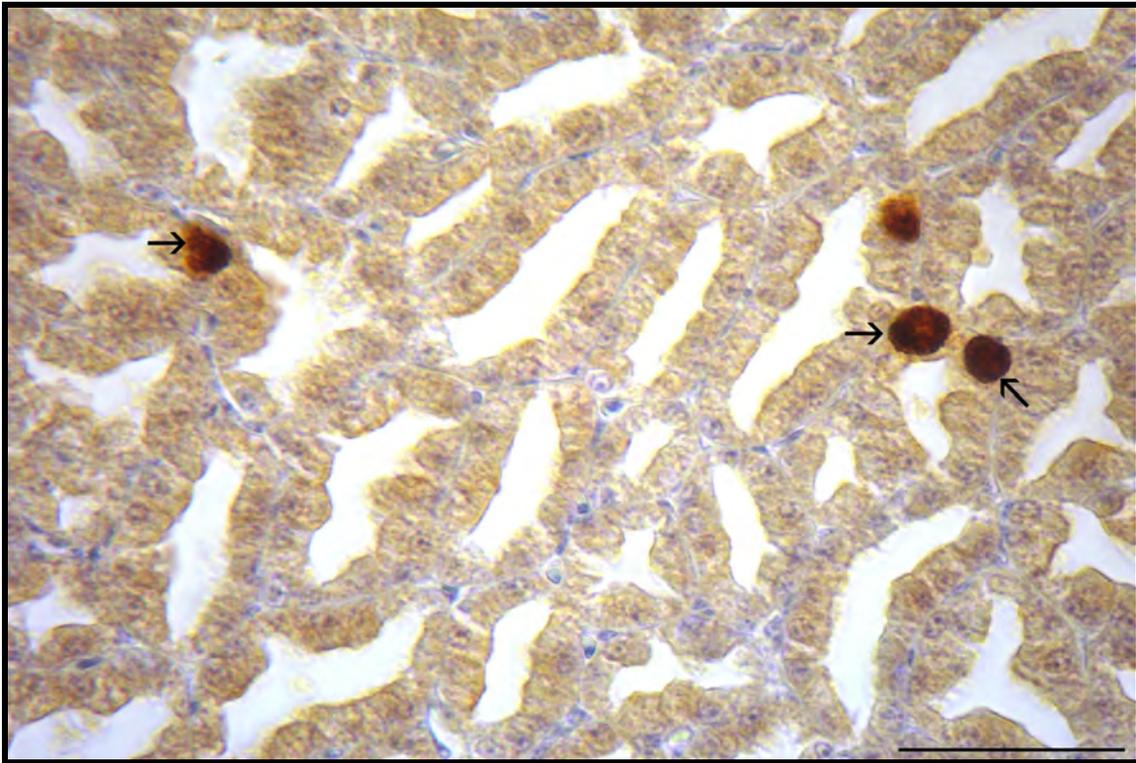


Figura 23: Proventrículo de *Caracara plancus*. Técnica: Inmunoistoquímica / Células endócrinas inmunoreactivas para Glucagon. Escala: 50 μ m

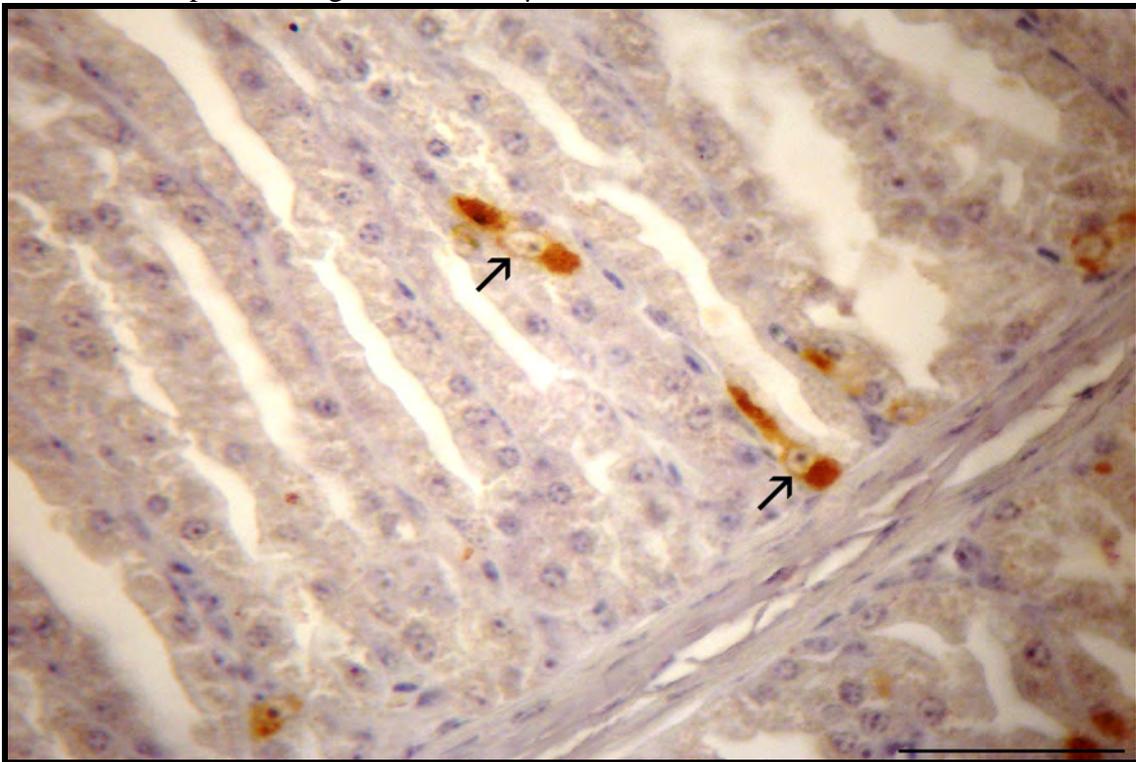


Figura 24: Proventrículo de *Asio clamator*. Técnica: Inmunoistoquímica / Células endócrinas inmunoreactivas para Serotonina. Escala: 50 μ m

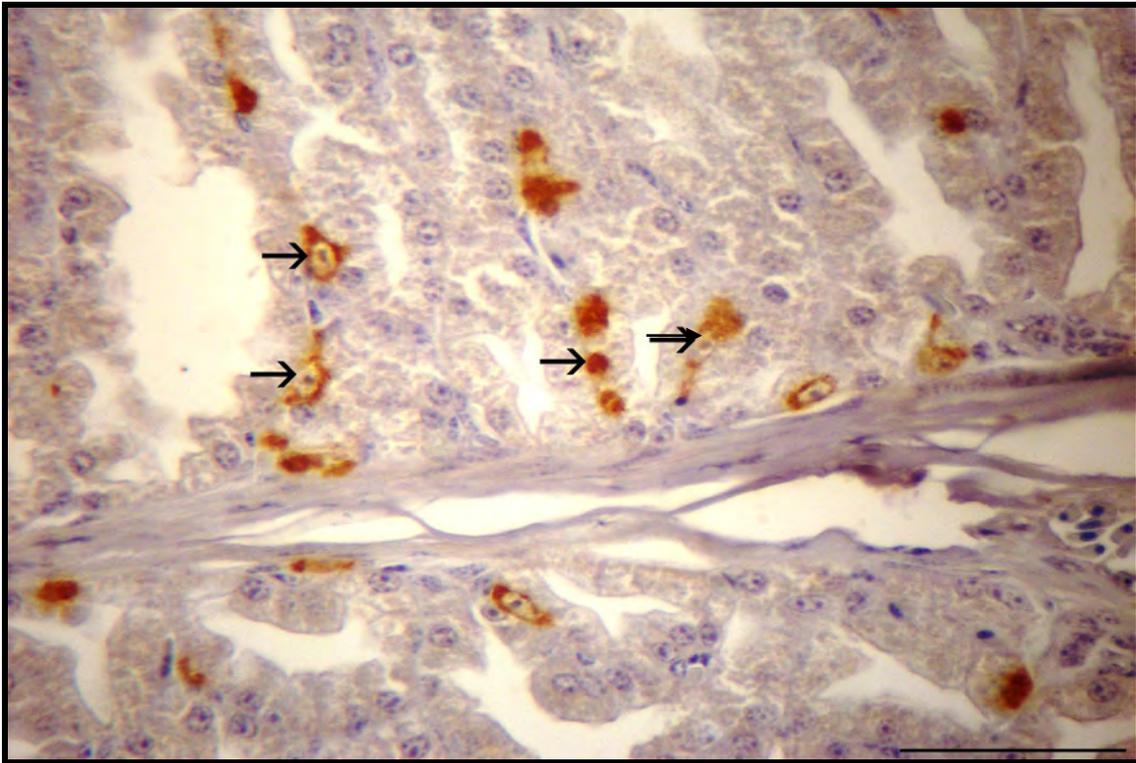


Figura 25: Proventrículo de *Asio clamator*. Técnica: Inmunistoquímica / Células endócrinas inmunoreactivas para Serotonina. Escala: 50 μ m

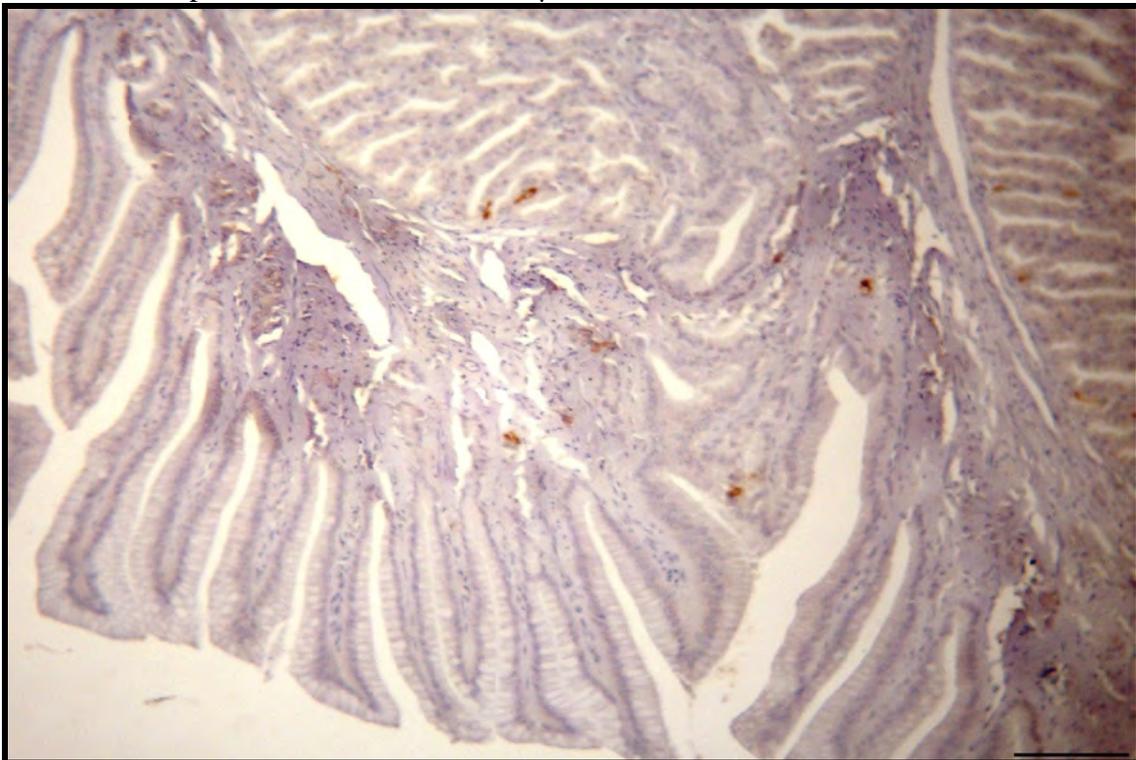


Figura 26: Proventrículo de *Asio clamator*. Técnica: Inmunistoquímica / Células endócrinas inmunoreactivas para Somatostatina. Escala: 100 μ m

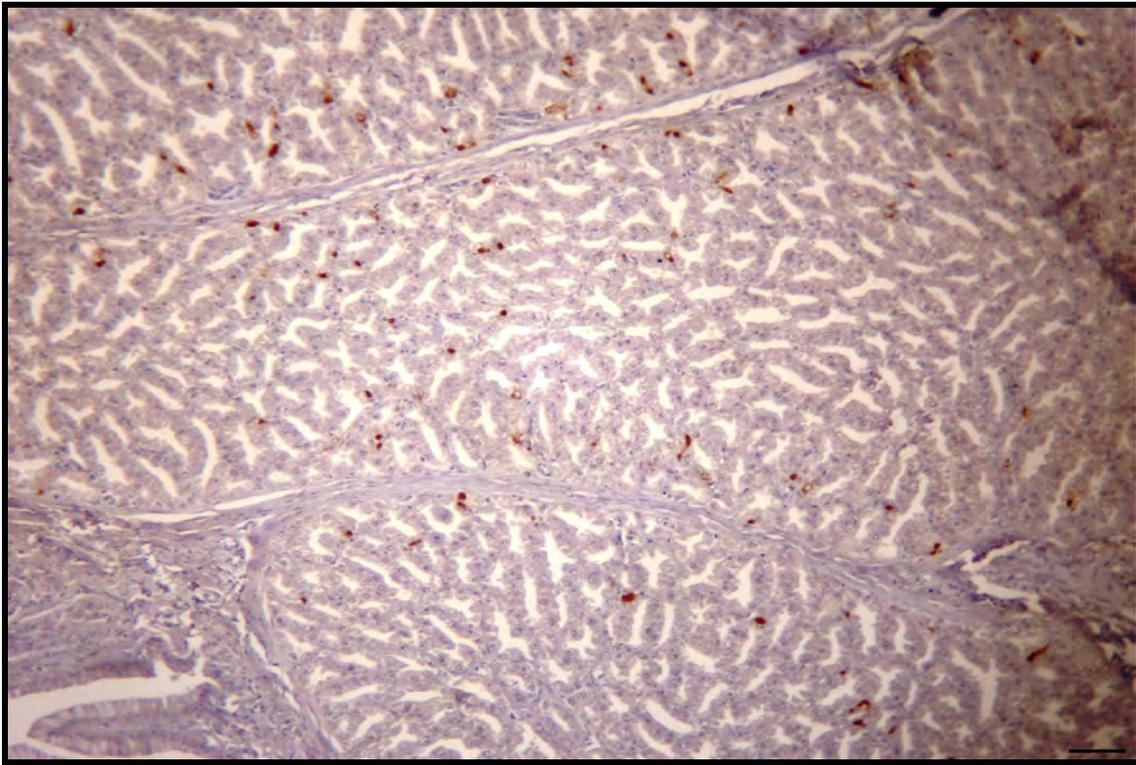


Figura 27: Proventrículo de *Asio clamator*. Técnica: Imunoistoquímica / Células endócrinas inmunoreactivas para Somatostatina. Escala: 100 μ m

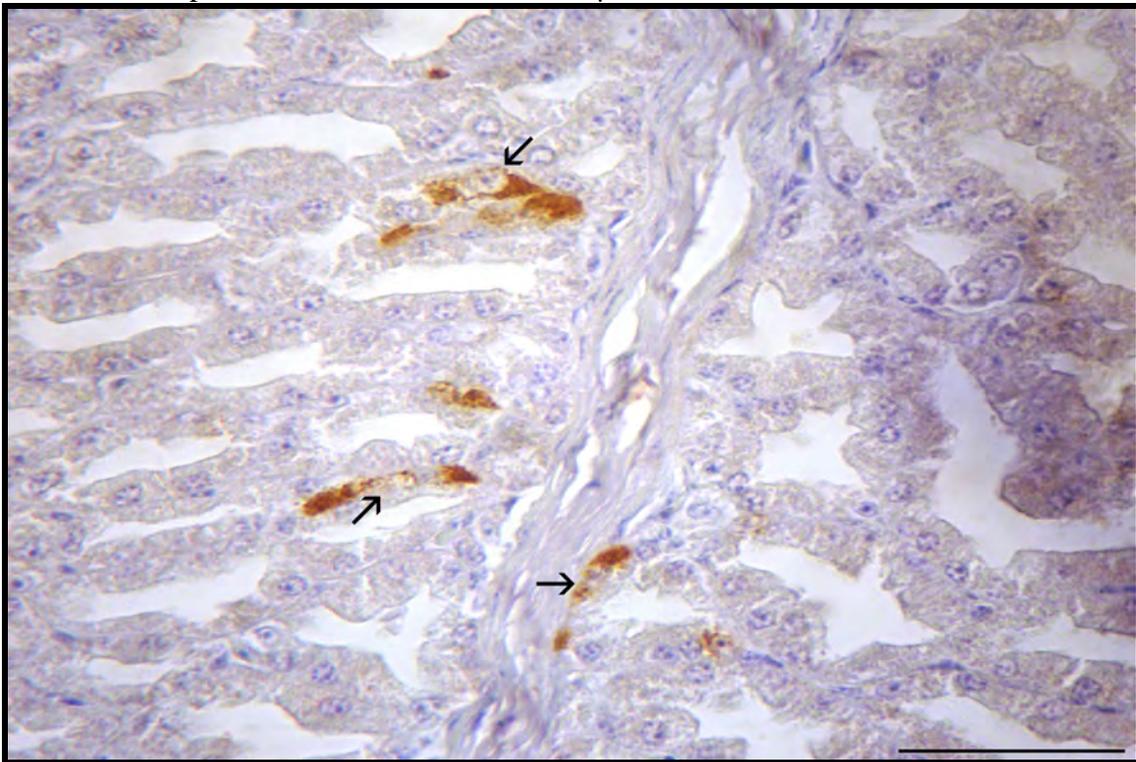


Figura 28: Proventrículo de *Asio clamator*. Técnica: Imunoistoquímica / Células endócrinas inmunoreactivas para Somatostatina. Escala: 50 μ m

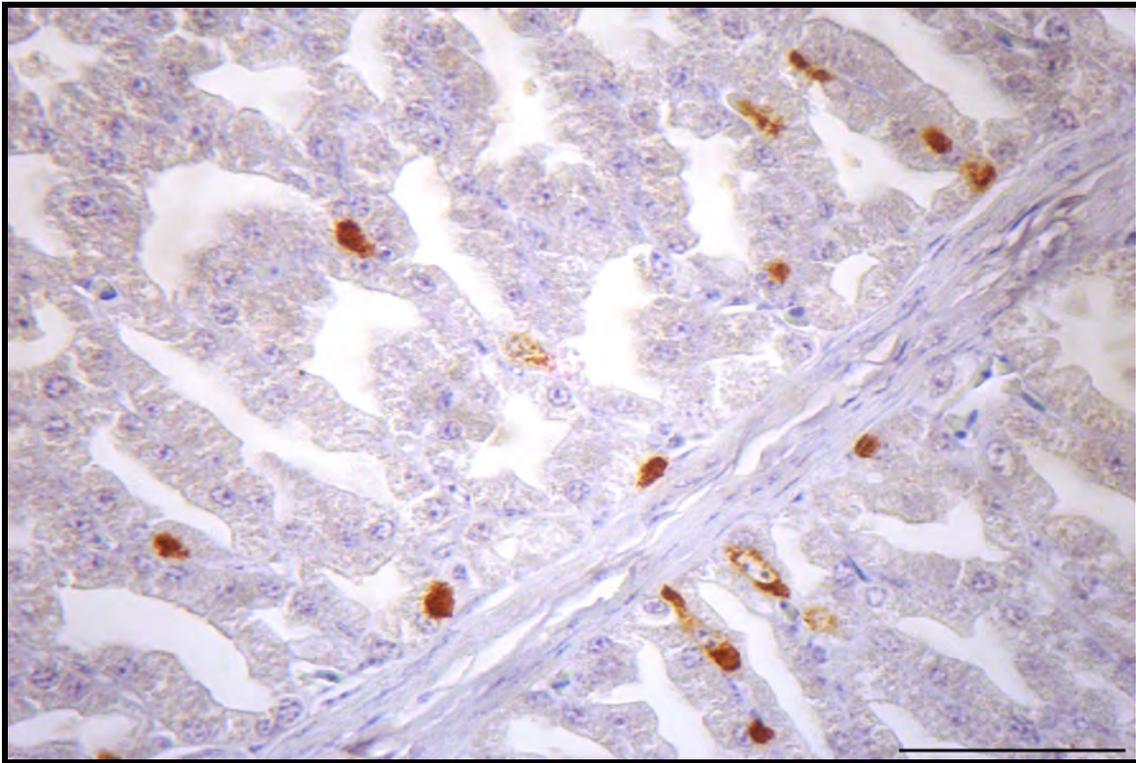


Figura 29: Proventrículo de *Asio clamator*. Técnica: Imunoistoquímica / Células endócrinas imunoreativas para Somatostatina. Escala: 50µm

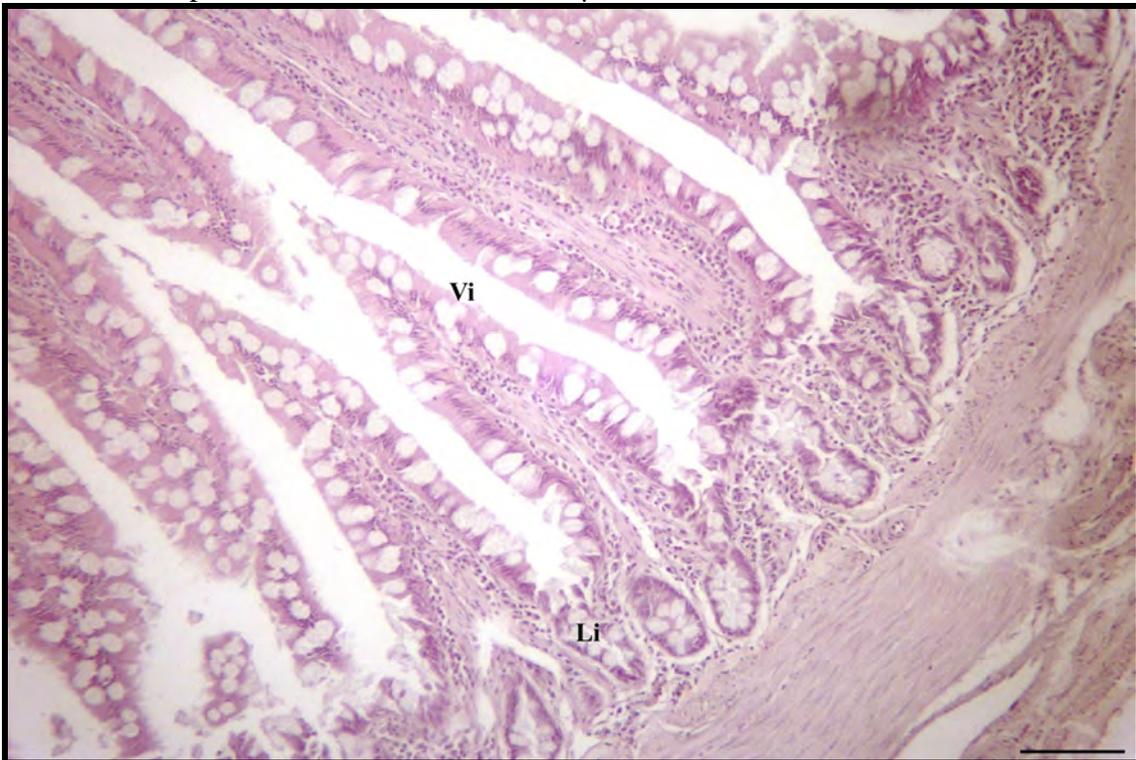


Figura 30: Intestino (vilosidades) de *Asio clamator*. Técnica: Hematoxilina e Eosina. Escala: 50 µm. Vi- Vilosidades; Li - Criptas de Liberkuhn.

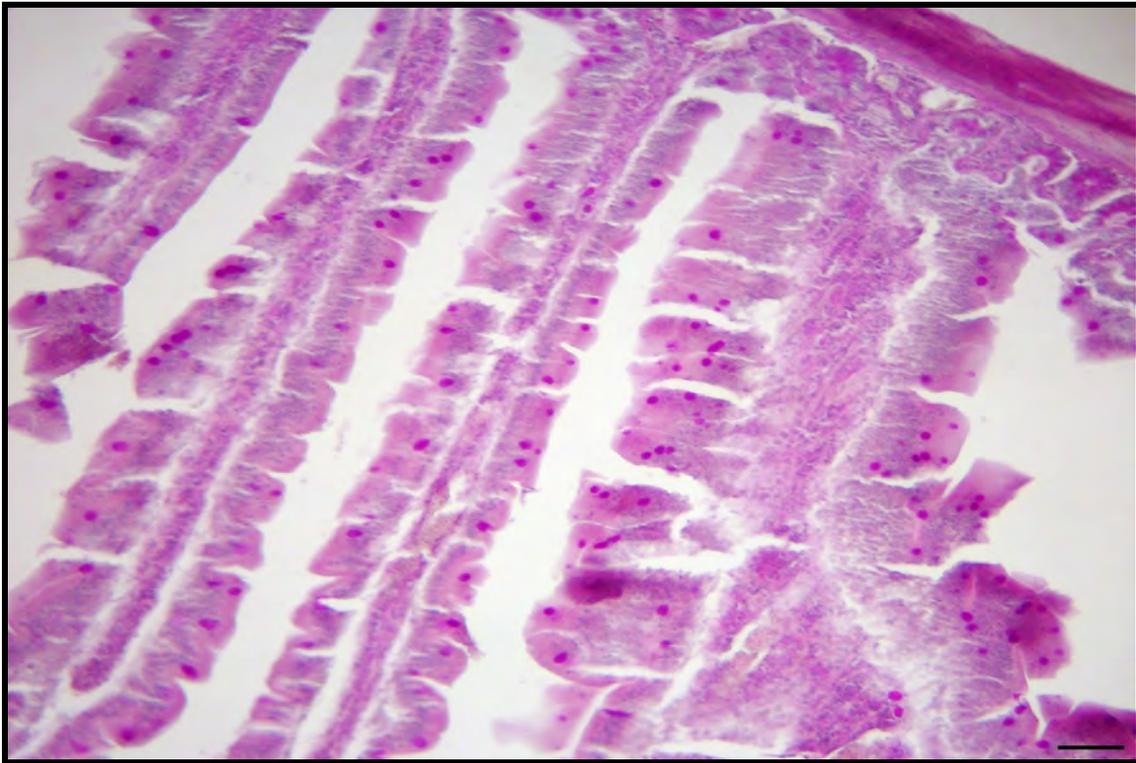


Figura 31: Intestino de *Asio clamator*. Técnica: PAS. Escala: 100 μ m

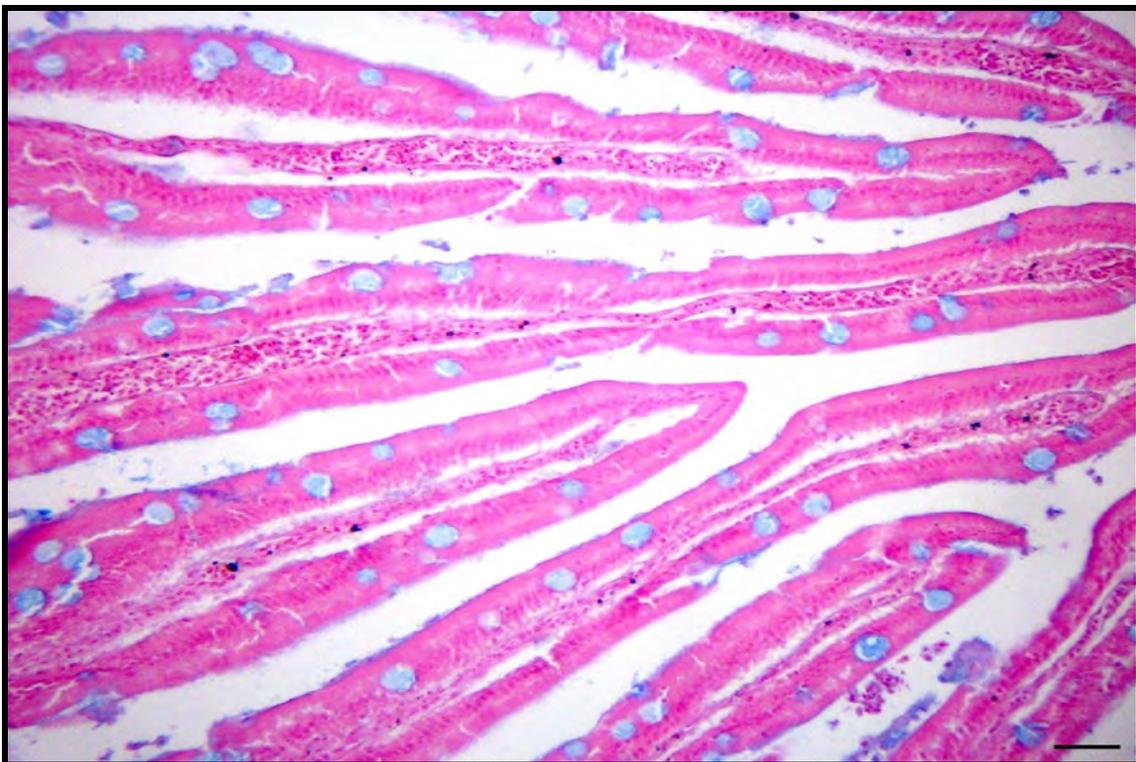


Figura 32: Intestino de *Asio clamator*. Técnica: AB pH 2,5. Escala: 100 μ m

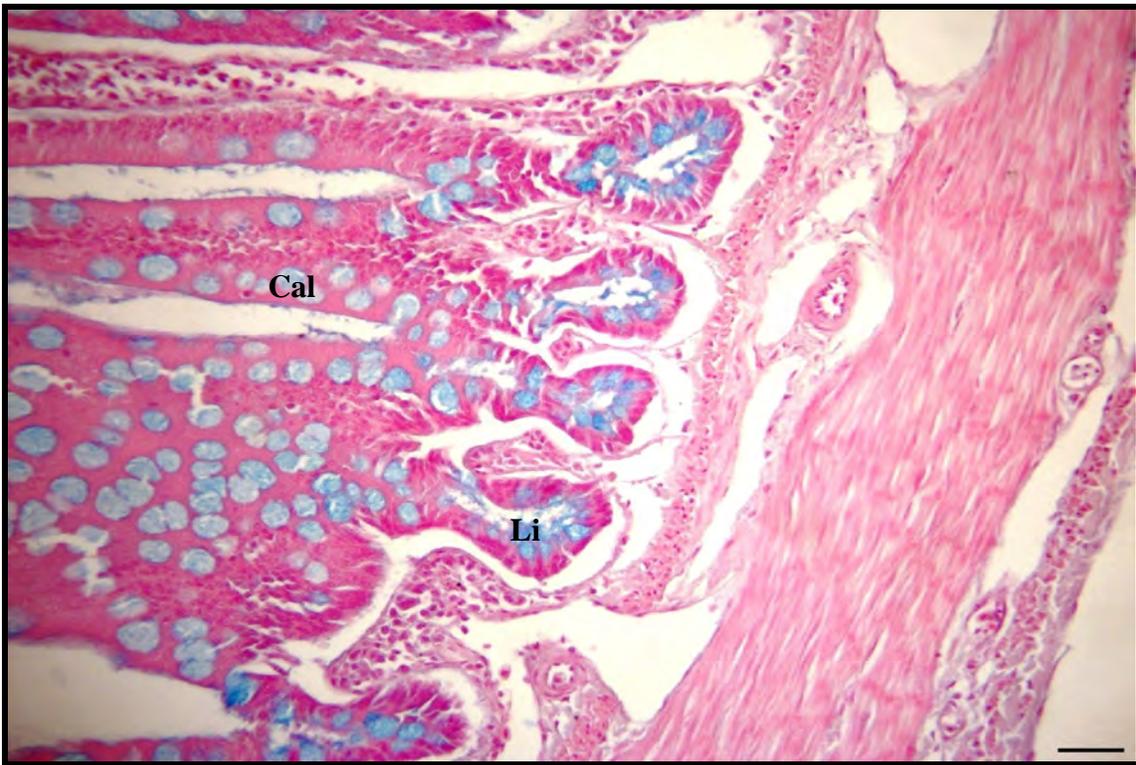


Figura 33: Intestino de *Asio clamator*. Técnica: AB pH 2,5. Escala: 100 μ m. Cal – Células caliciformes; Li - Criptas de Lieberkühn

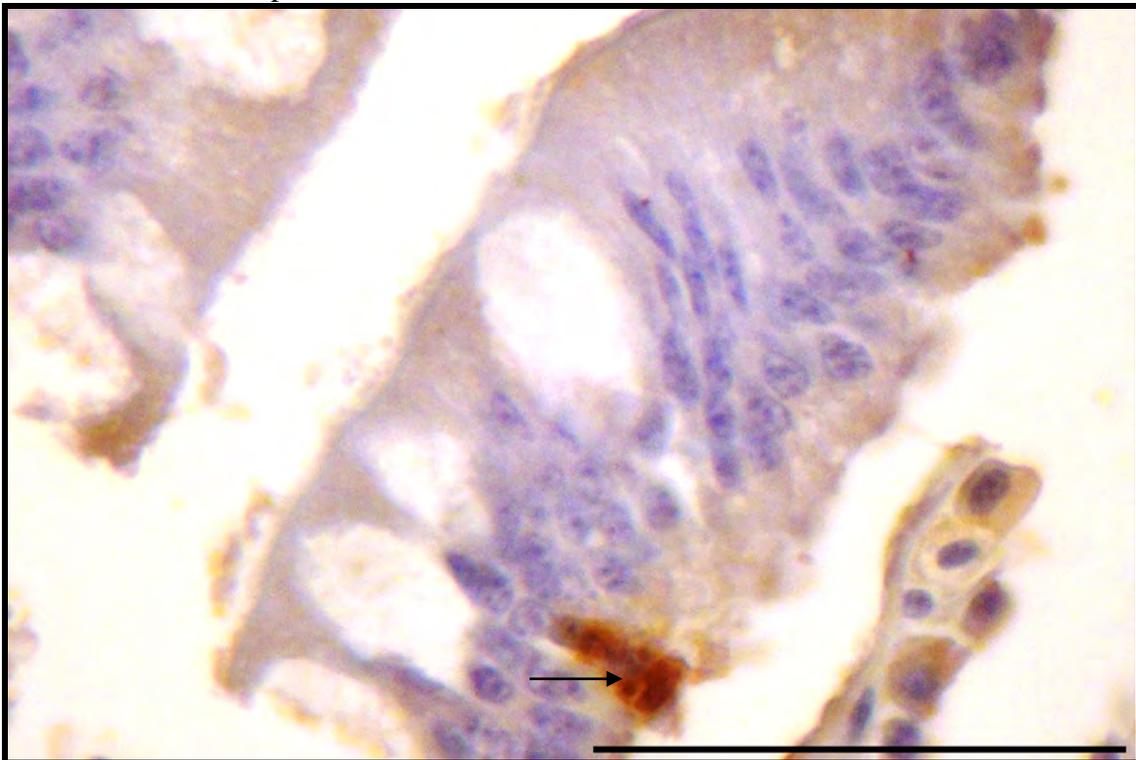


Figura 34: Intestino de *Asio clamator*. Técnica: Inmunoistoquímica / Células endócrinas inmunoreactivas para Glucagon. Escala: 50 μ m

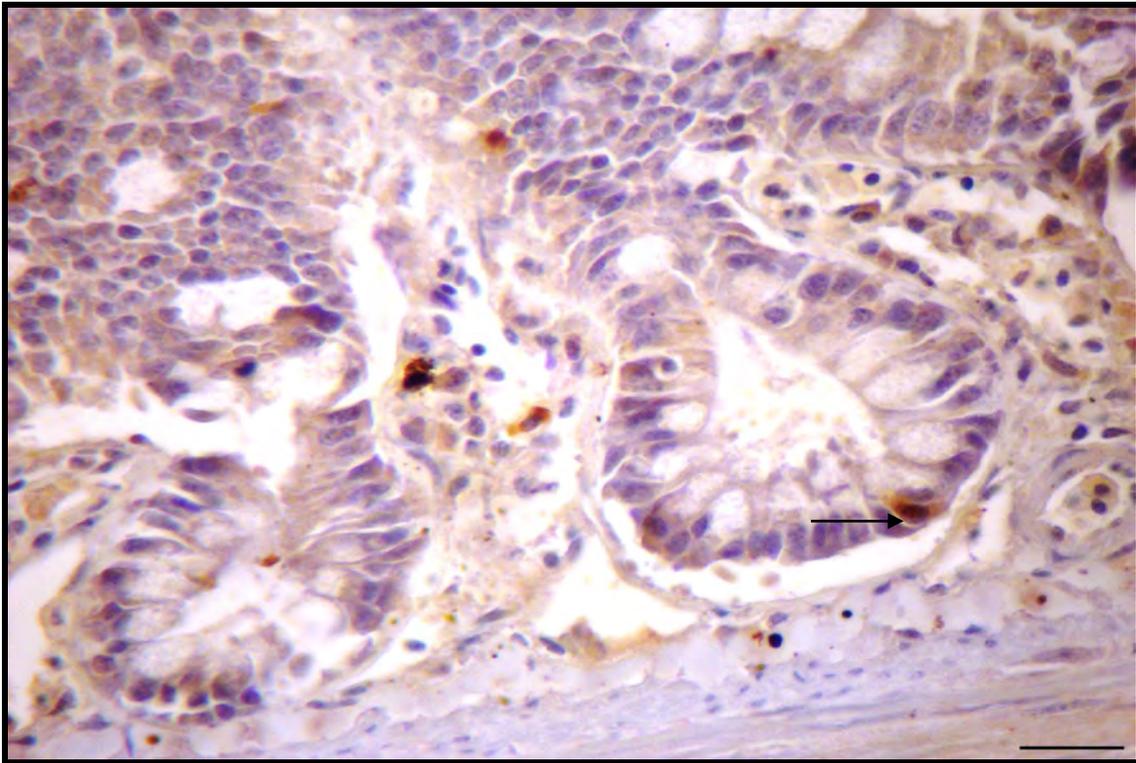


Figura 35: Intestino de *Asio clamator*. Técnica: Inmunohistoquímica / Células endócrinas inmunoreactivas para Glucagon. Escala: 50 μ m

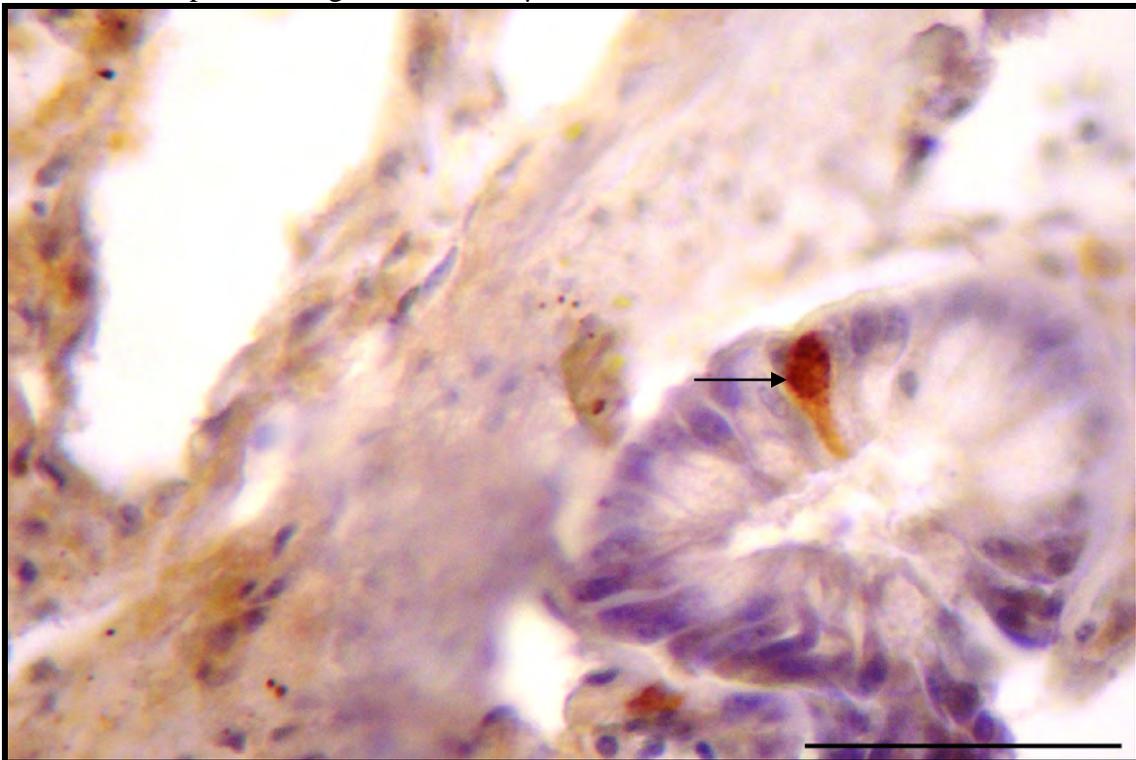


Figura 36: Intestino de *Asio clamator*. Técnica: Inmunohistoquímica / Células endócrinas inmunoreactivas para Glucagon. Escala: 50 μ m

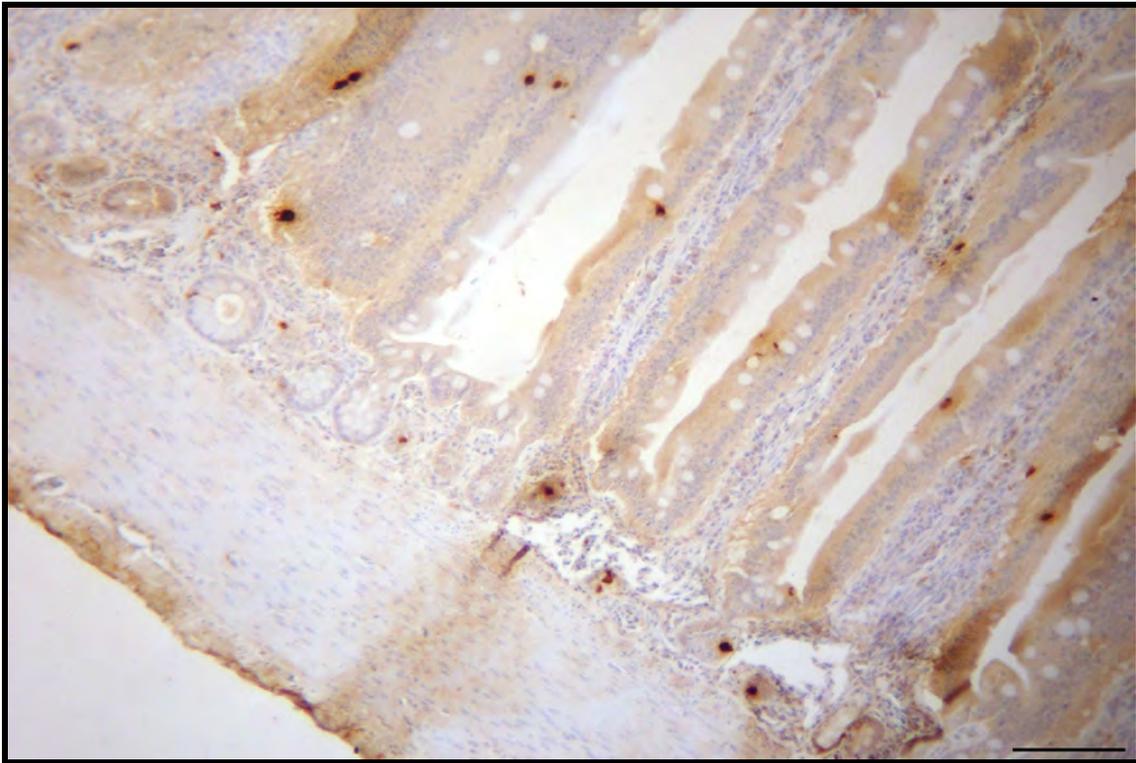


Figura 37: Intestino de *Asio clamator*. Técnica: Inmunoistoquímica / Células endócrinas inmunoreactivas para Serotonina. Escala: 100 μ m

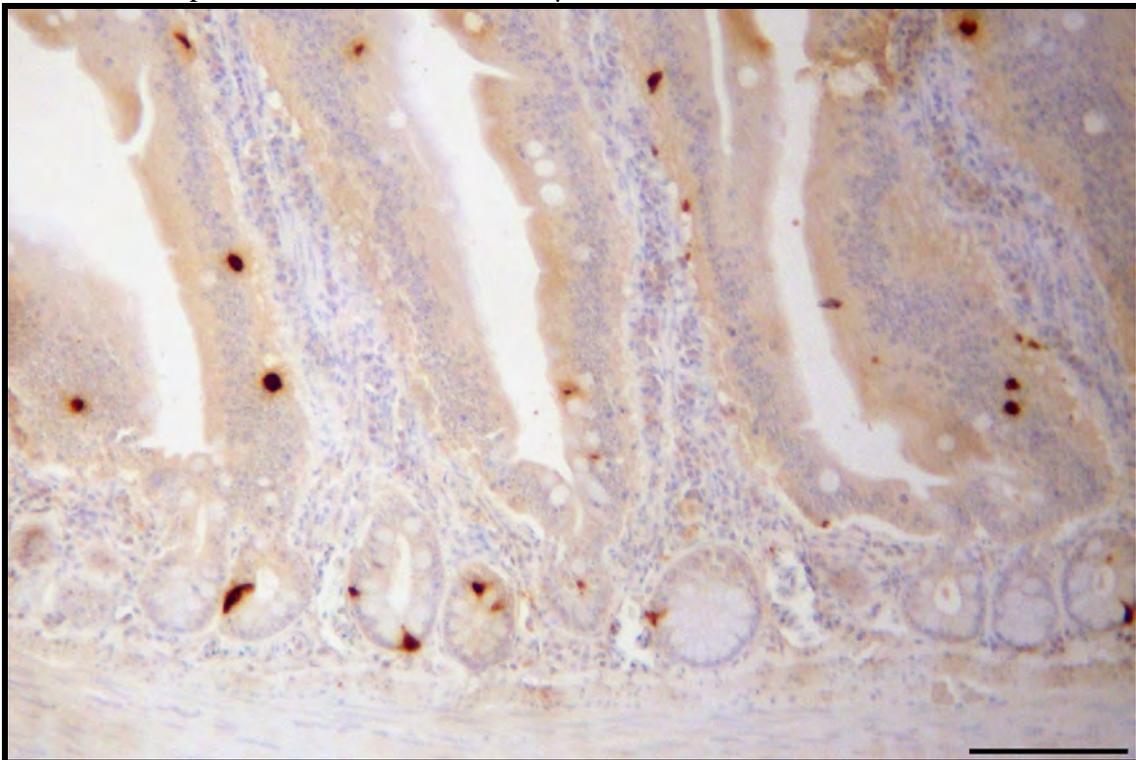


Figura 38: Intestino de *Asio clamator*. Técnica: Inmunoistoquímica / Células endócrinas inmunoreactivas para Serotonina. Escala: 50 μ m



Figura 39: Intestino de *Asio clamator*. Técnica: Inmunoistoquímica / Células endócrinas inmunoreactivas para Serotonina. Escala: 50 μ m

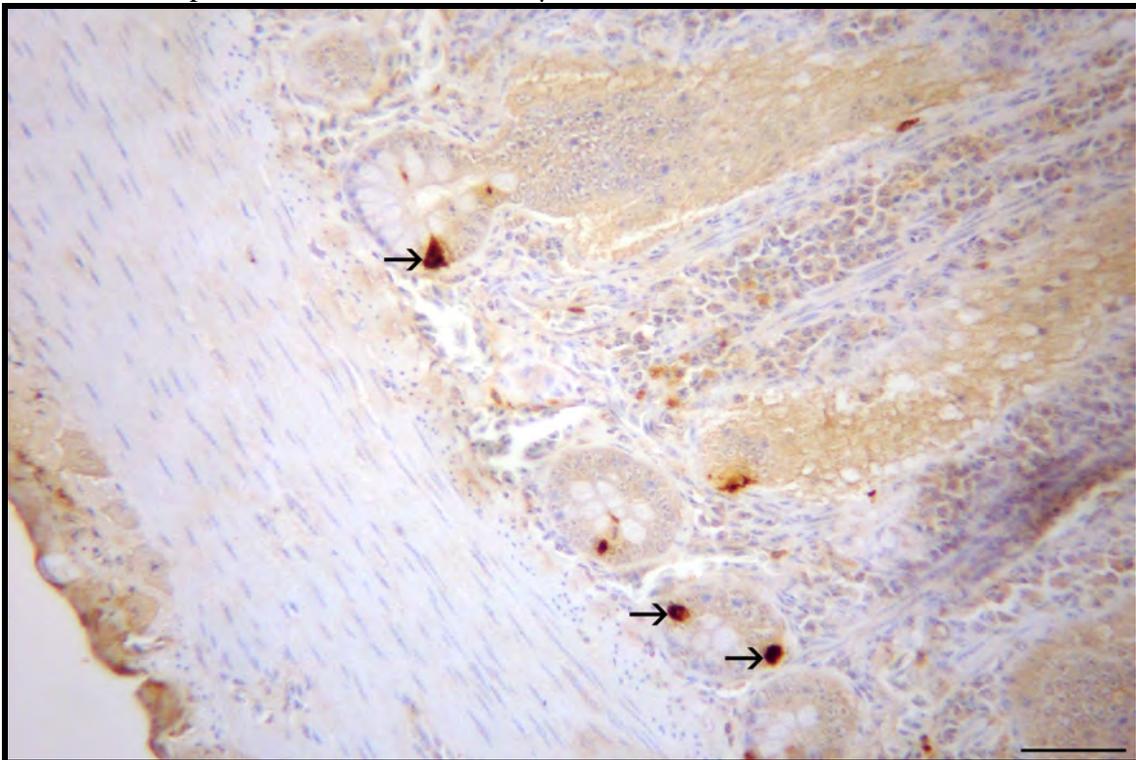


Figura 40: Intestino de *Asio clamator*. Técnica: Inmunoistoquímica / Células endócrinas inmunoreactivas para Serotonina. Escala: 50 μ m

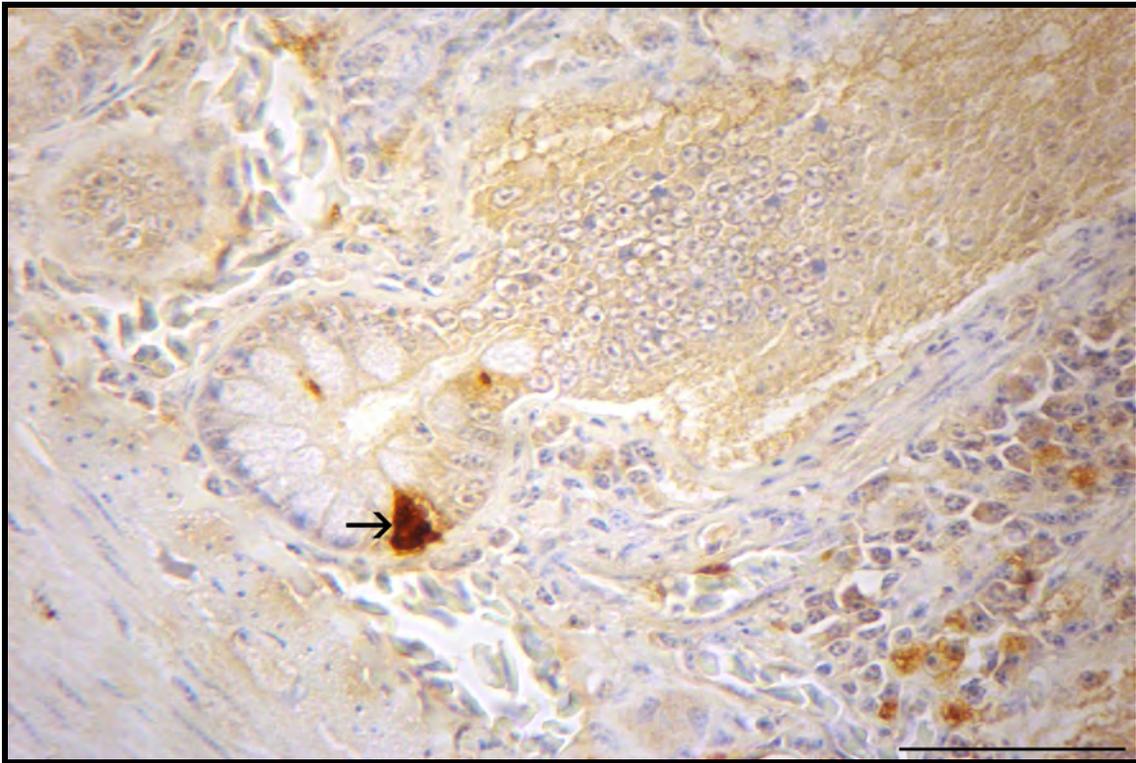


Figura 41: Intestino de *Asio clamator*. Técnica: Inmunoistoquímica / Células endócrinas inmunoreactivas para Serotonina. Escala: 50 μ m

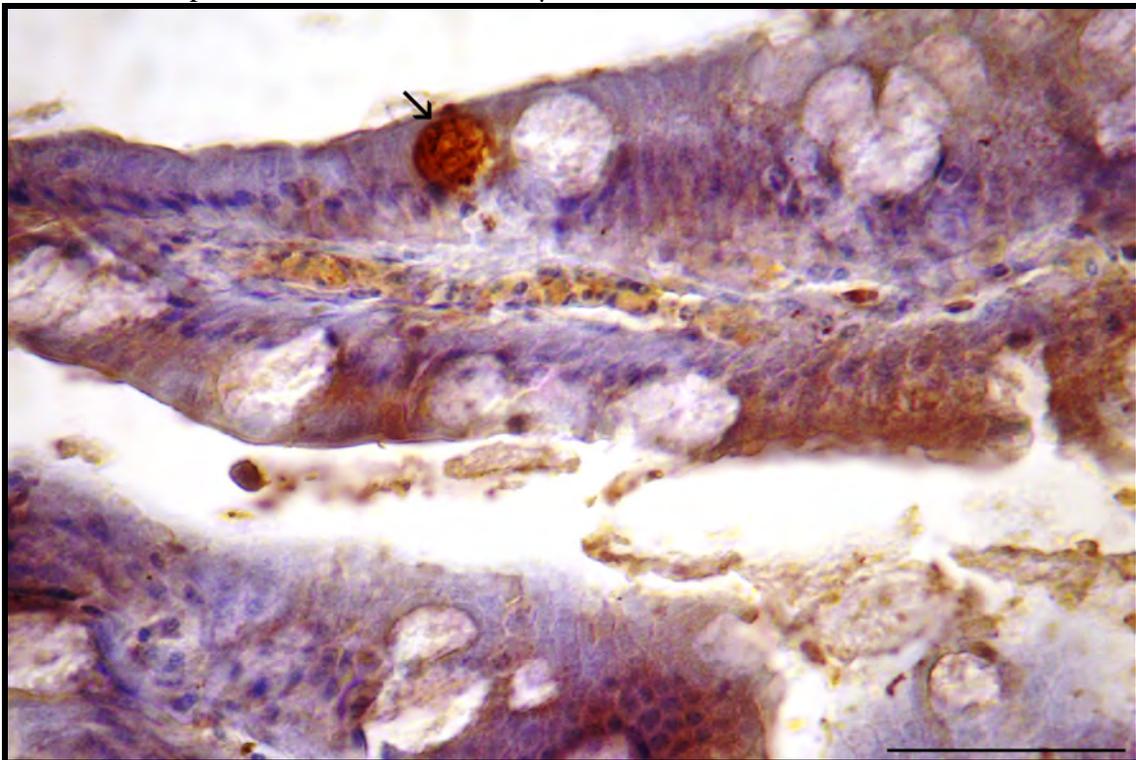


Figura 42: Intestino de *Asio clamator*. Técnica: Inmunoistoquímica / Células endócrinas inmunoreactivas para Gastrina. Escala: 50 μ m

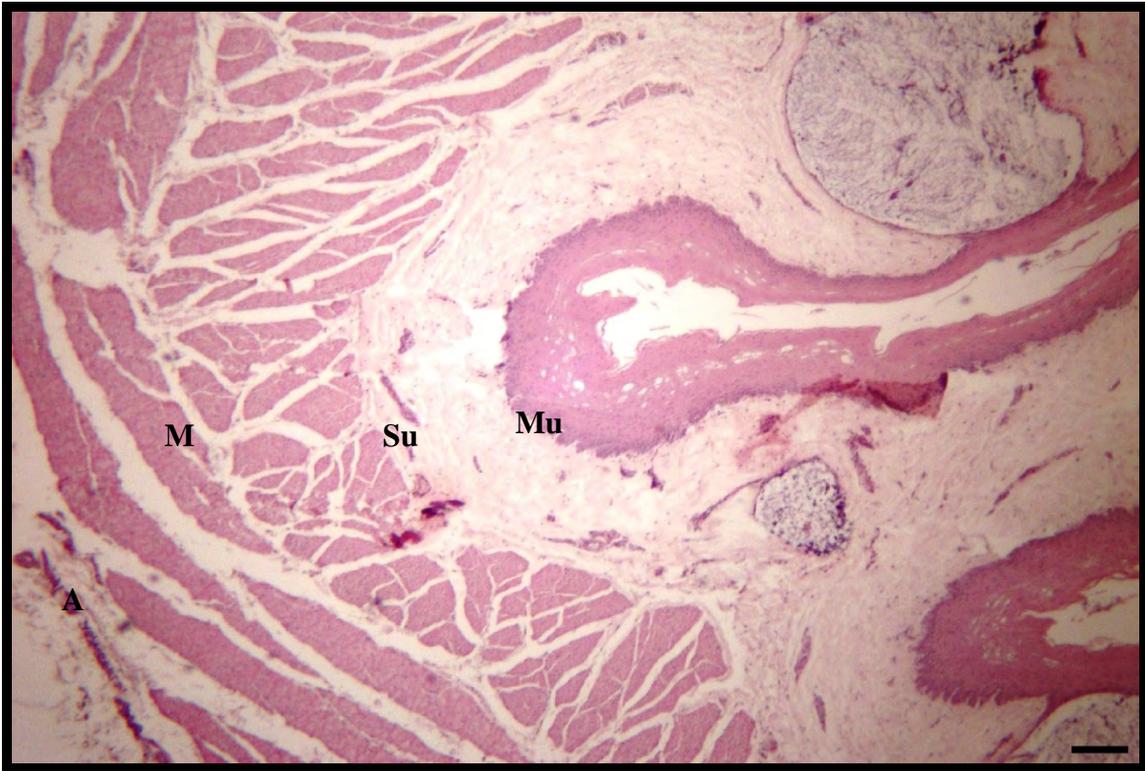


Figura 43: Esôfago de *Caracara plancus*. Técnica: Hematoxilina e Eosina. Escala: 100µm. Mu – Mucosa, Su – Submucosa, M – Muscular e A – Adventícia.

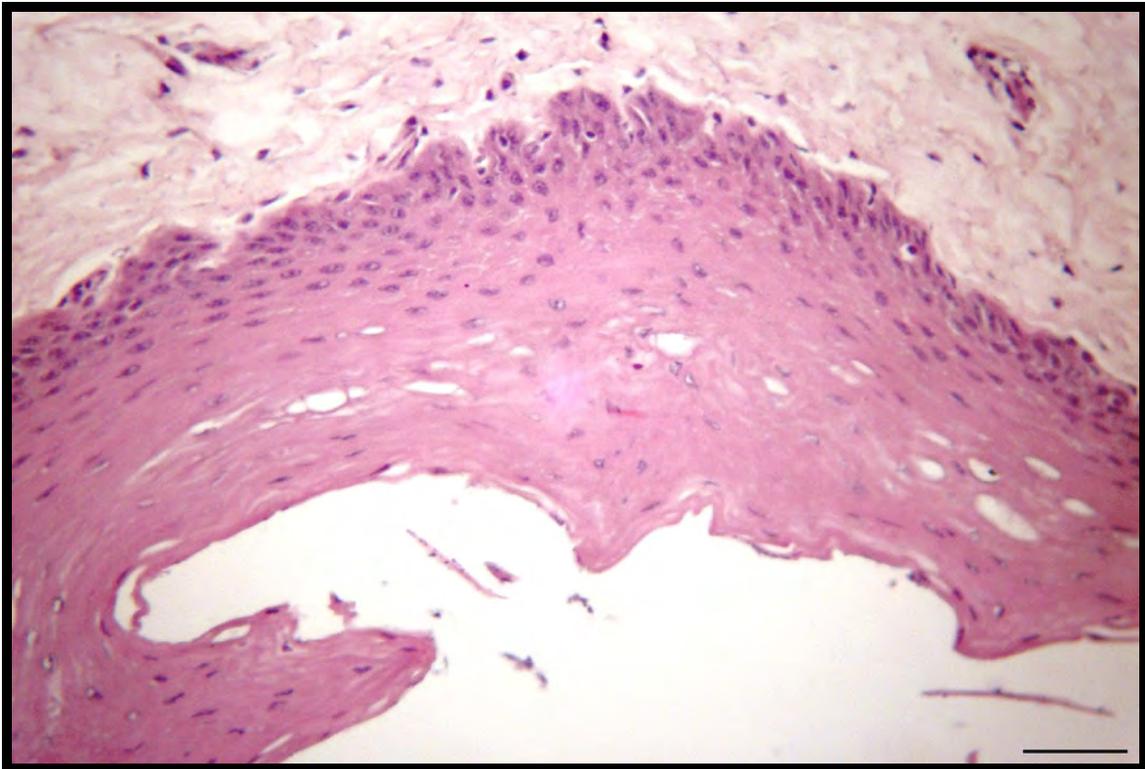


Figura 44: Esôfago de *Caracara plancus*. Técnica: Hematoxilina e Eosina. Escala: 50µm

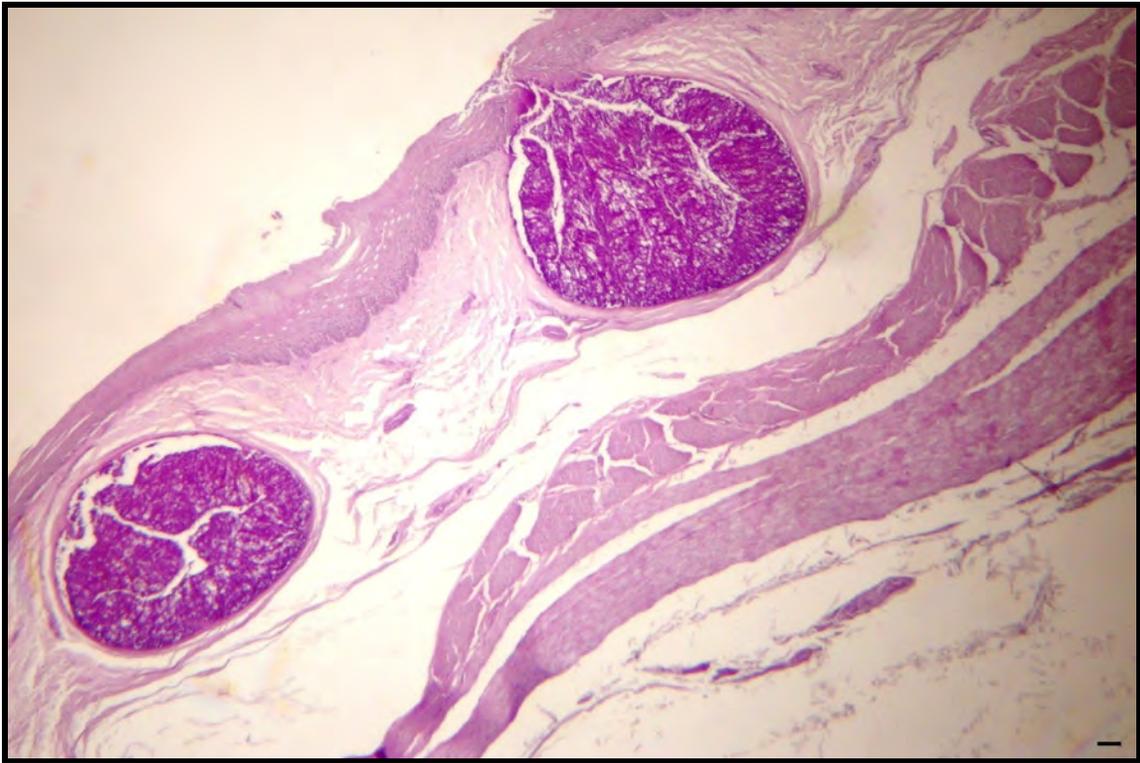


Figura 45: Esôfago de *Caracara plancus*. Técnica: PAS. Escala: 100µm



Figura 46: Esôfago de *Caracara plancus*. Técnica: PAS. Escala: 50µm



Figura 47: Esôfago de *Caracara plancus*. Técnica: AB pH 2,5. Escala: 100 μ m

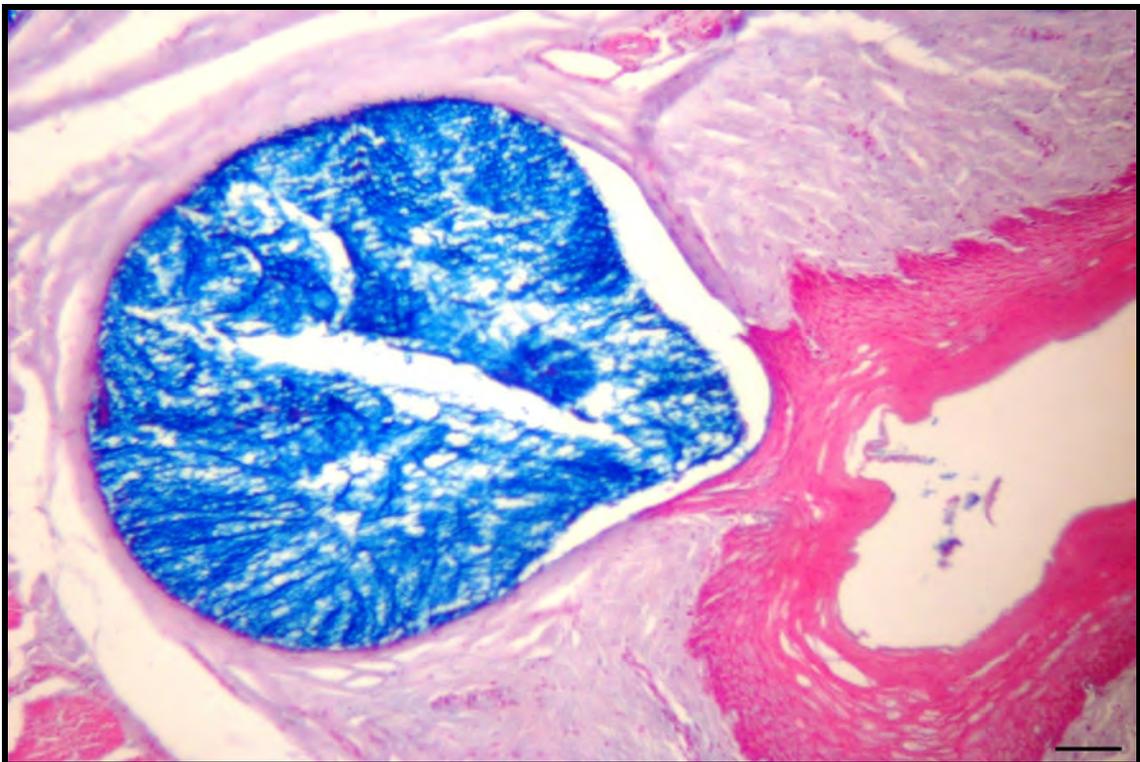


Figura 48: Esôfago de *Caracara plancus*. Técnica: AB pH 2,5. Escala: 50 μ m

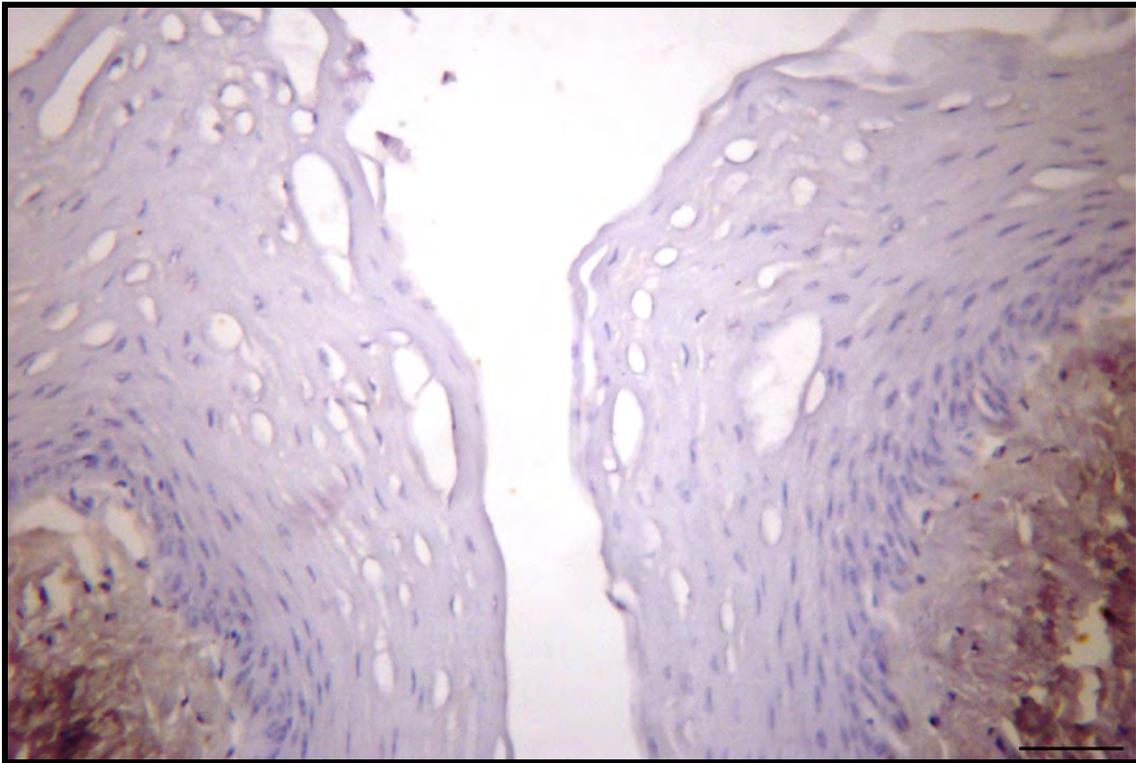


Figura 49: Esôfago de *Caracara plancus* – Somatostatina ausente no epitélio
Escala: 50µm

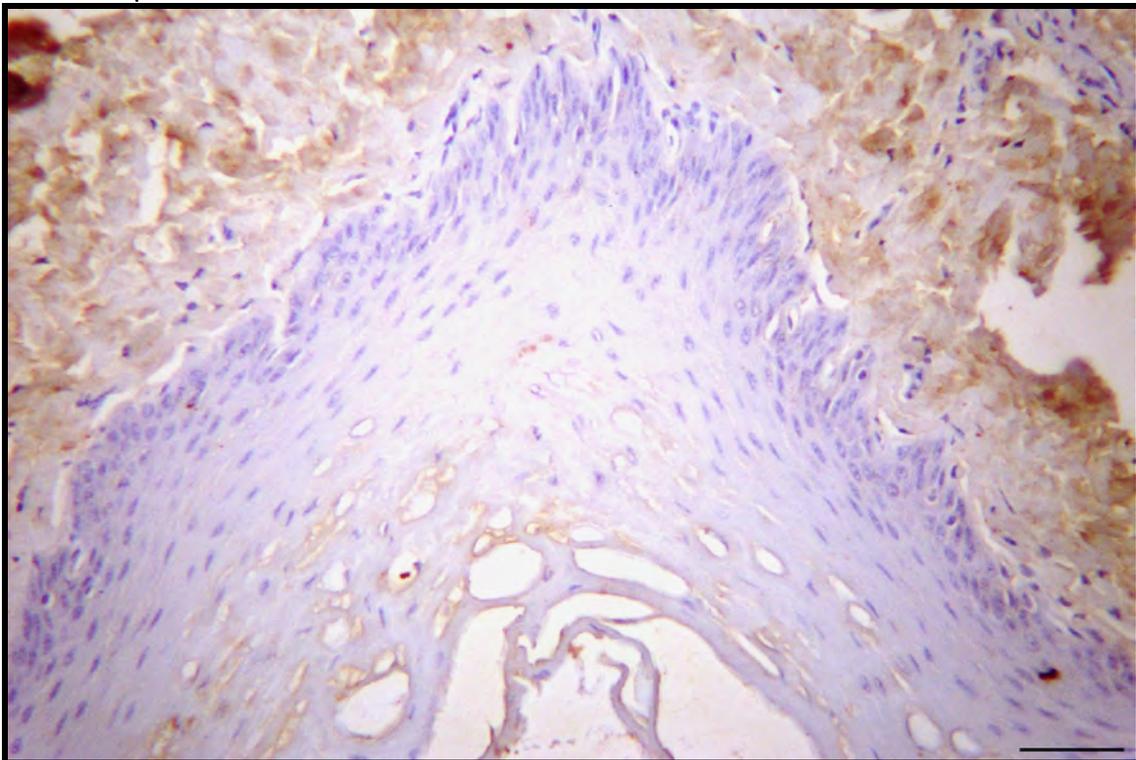


Figura 50: Esôfago de *Caracara plancus* - Glucagon ausente no epitélio. Escala: 50µm

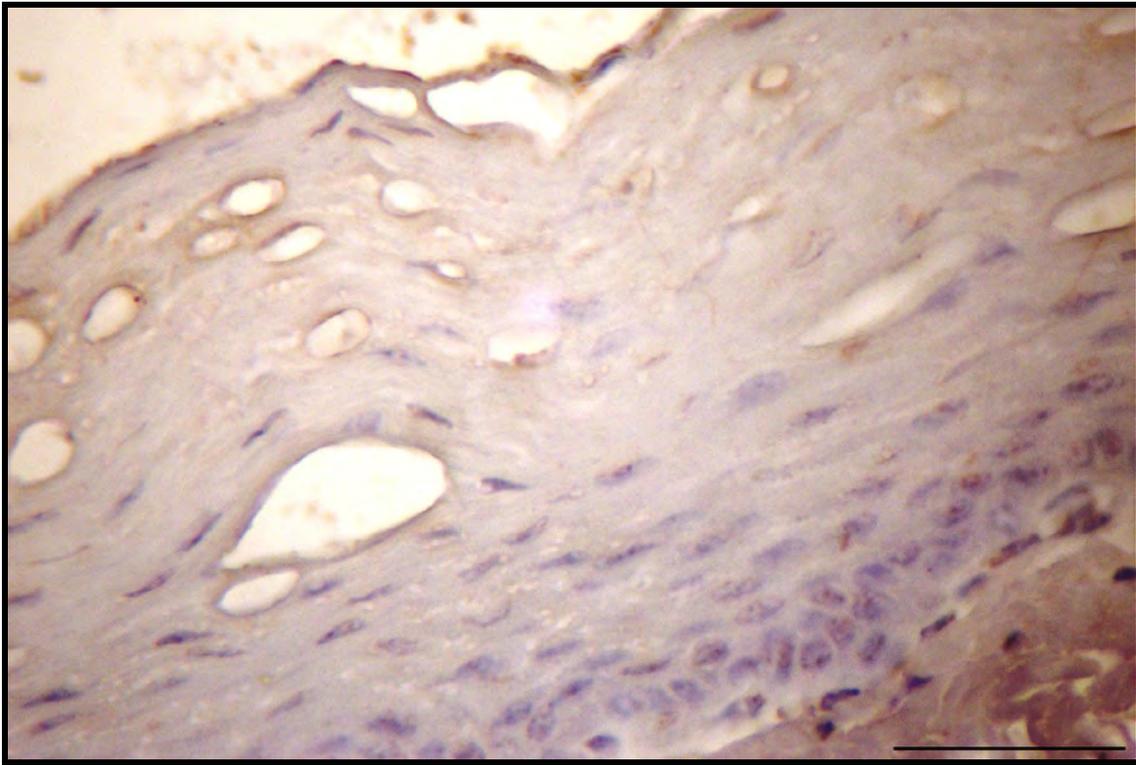


Figura 51: Esôfago de *Caracara plancus* – Gastrina ausente no epitélio. Escala: 50 μ m

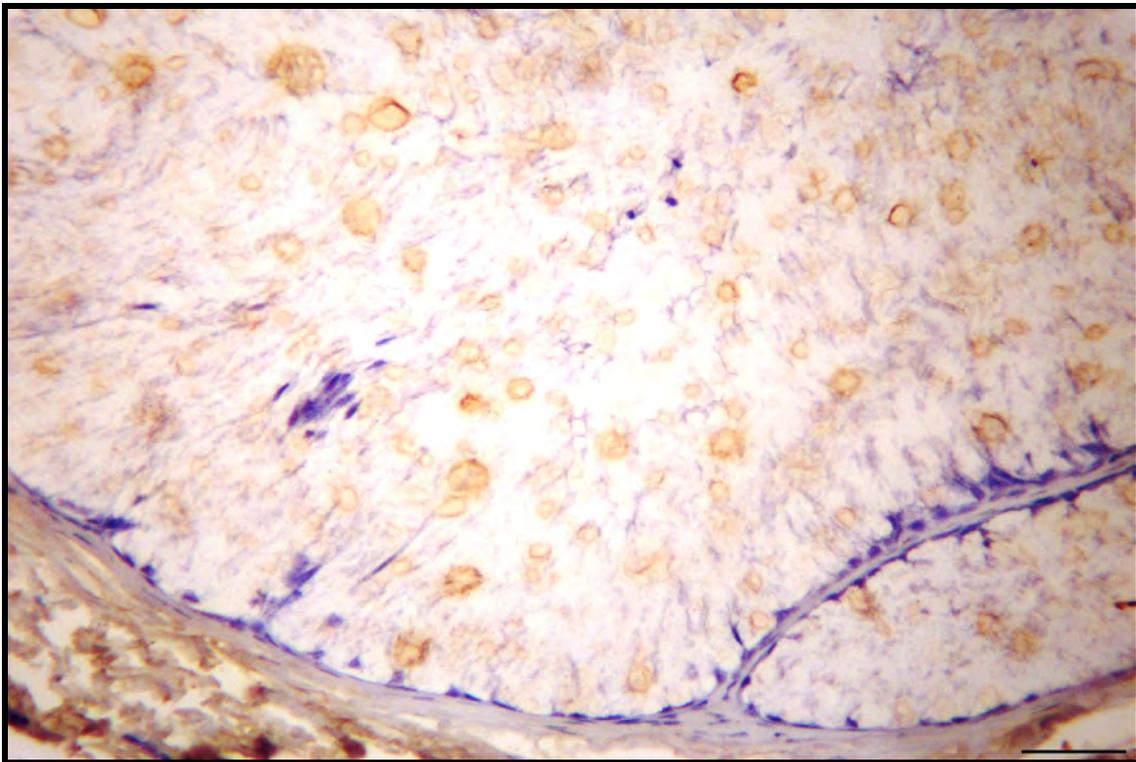


Figura 52: Esôfago de *Caracara plancus*– 5HT Ausente nas glândulas. Escala: 50 μ m

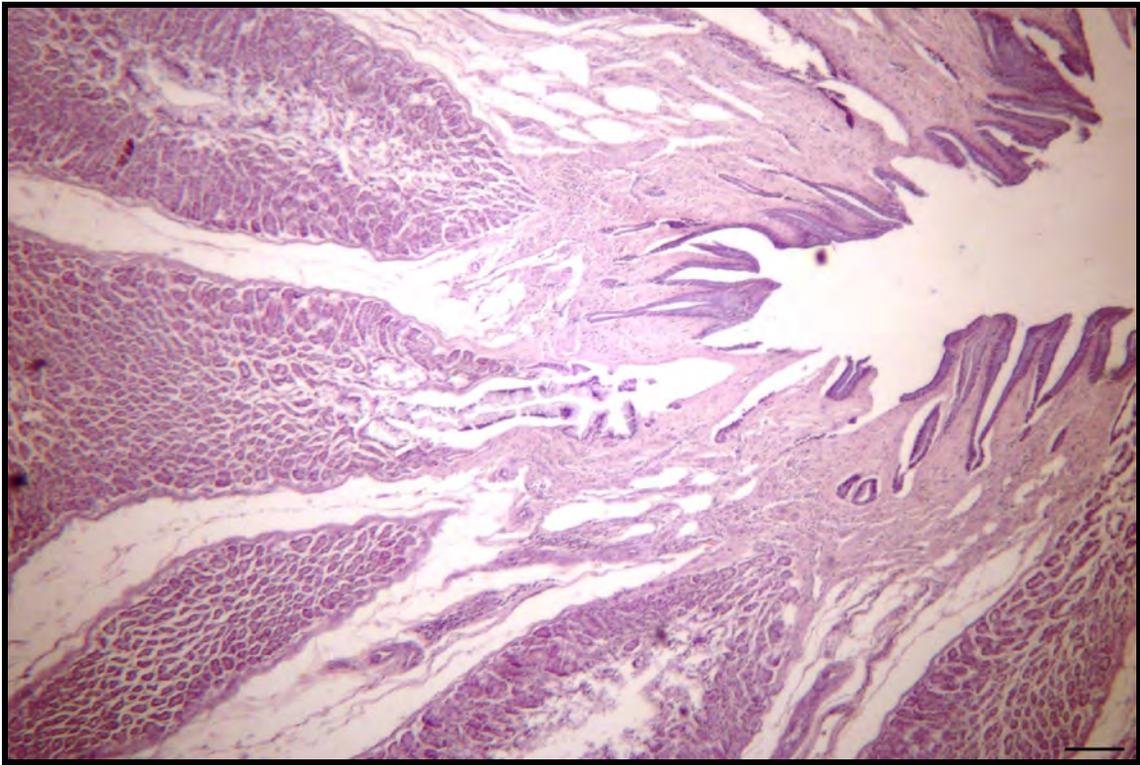


Figura 53: Proventrículo de *Caracara plancus*. Técnica: Hematoxilina e Eosina. Escala: 100 μ m

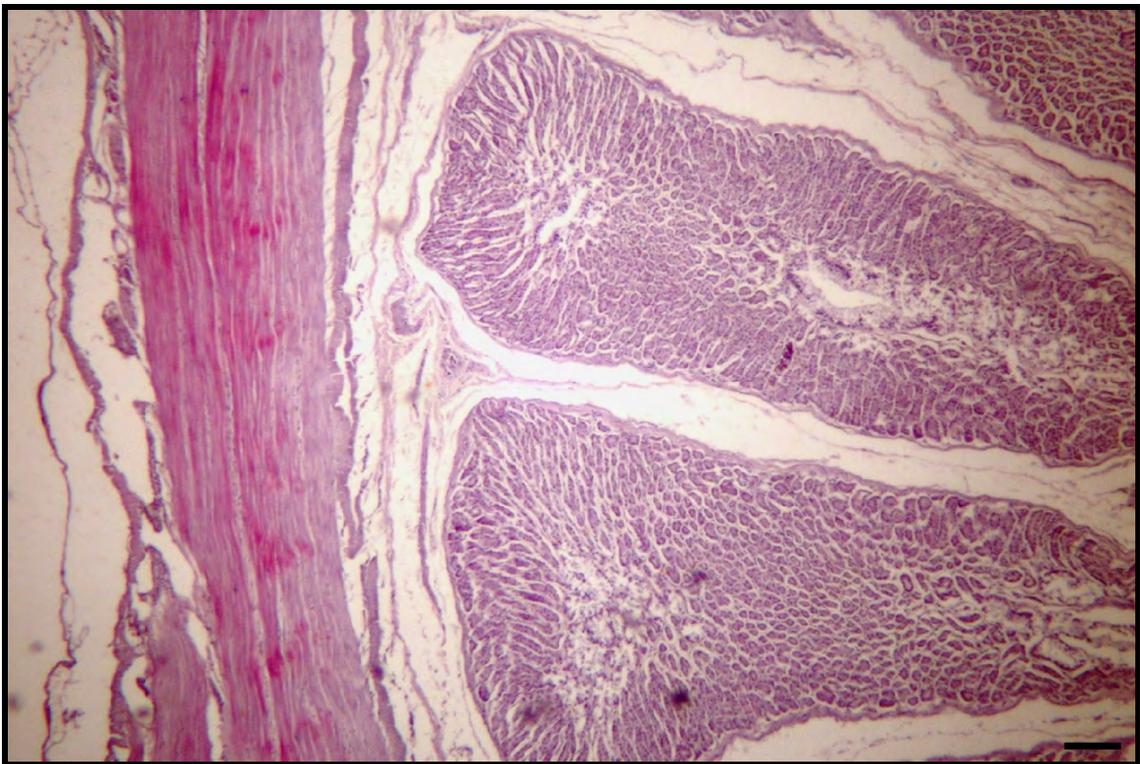


Figura 54: Proventrículo de *Caracara plancus*. Técnica: Hematoxilina e Eosina. Escala: 100 μ m

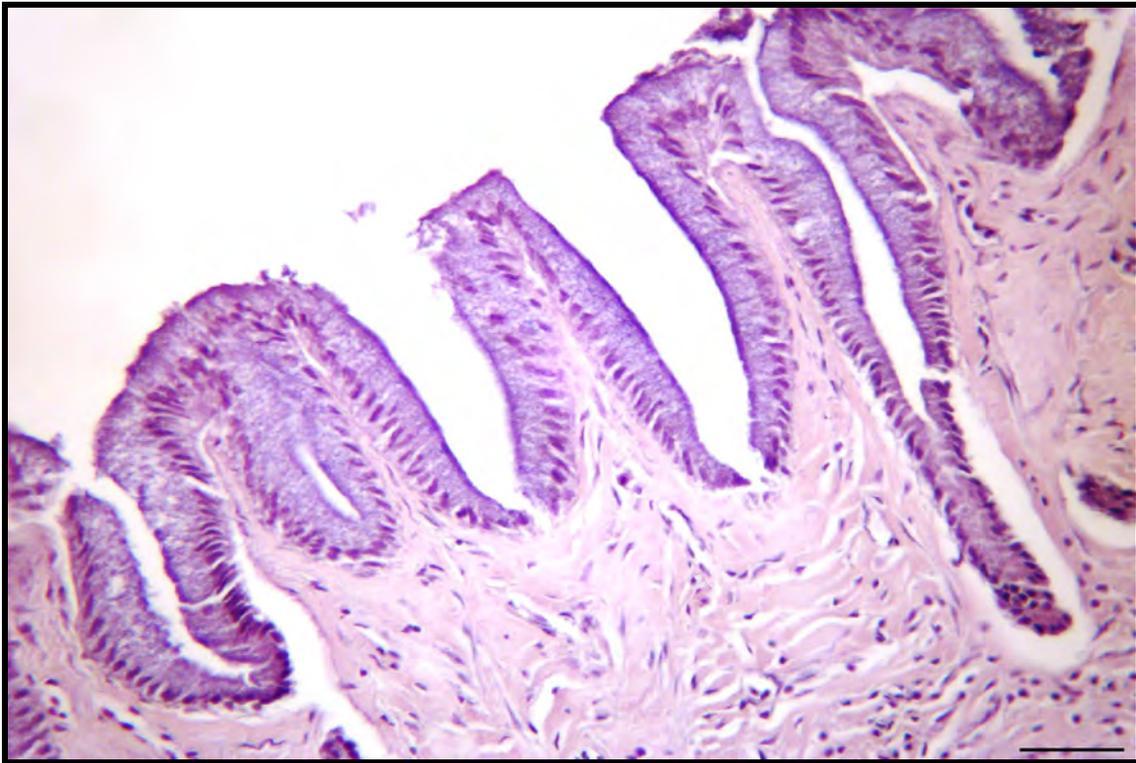


Figura 55: Proventrículo de *Caracara plancus*. Técnica: Hematoxilina e Eosina. Escala: 50 μ m

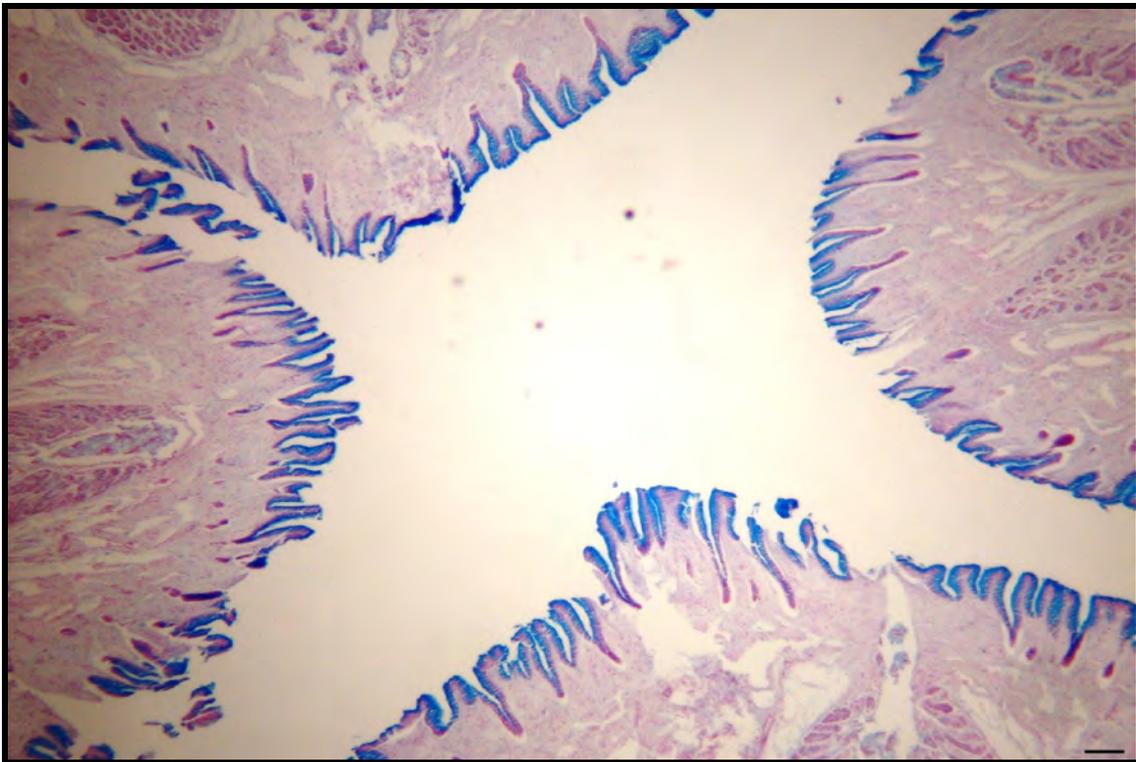


Figura 56: Proventrículo de *Caracara plancus*. Técnica: AB pH 2,5. Escala: 100 μ m

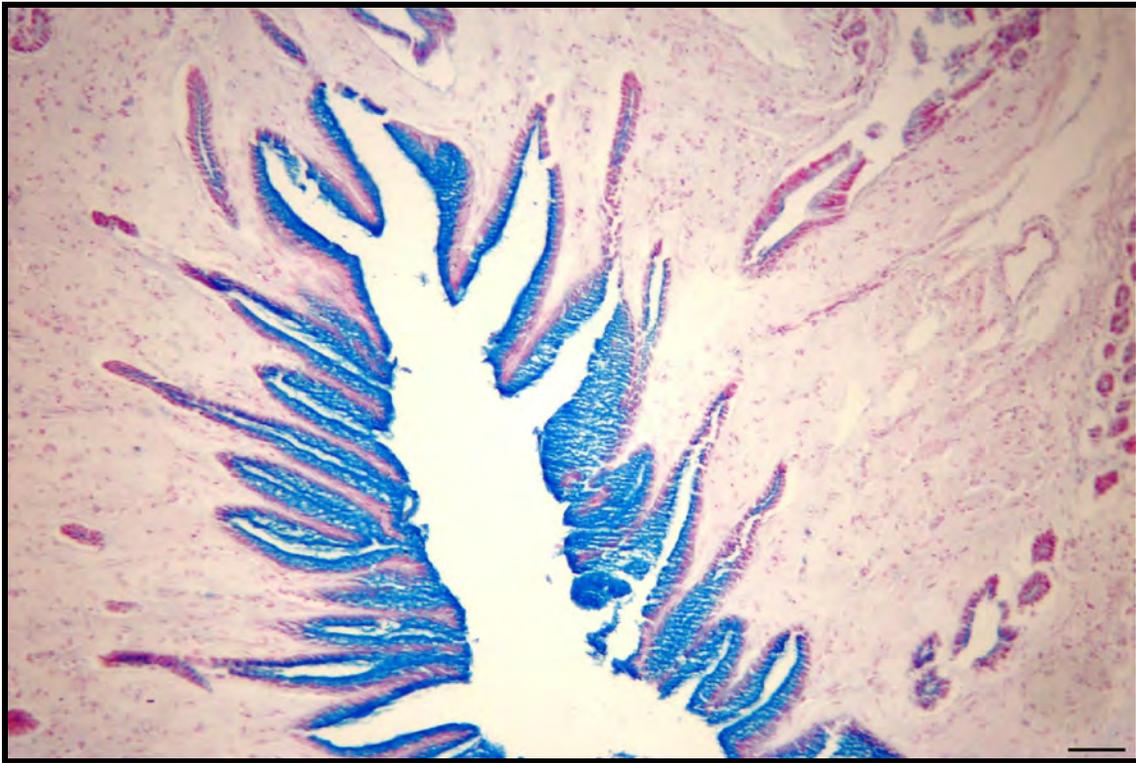


Figura 57: Proventrículo de *Caracara plancus*. Técnica: AB pH 2,5. Escala: 50 μ m

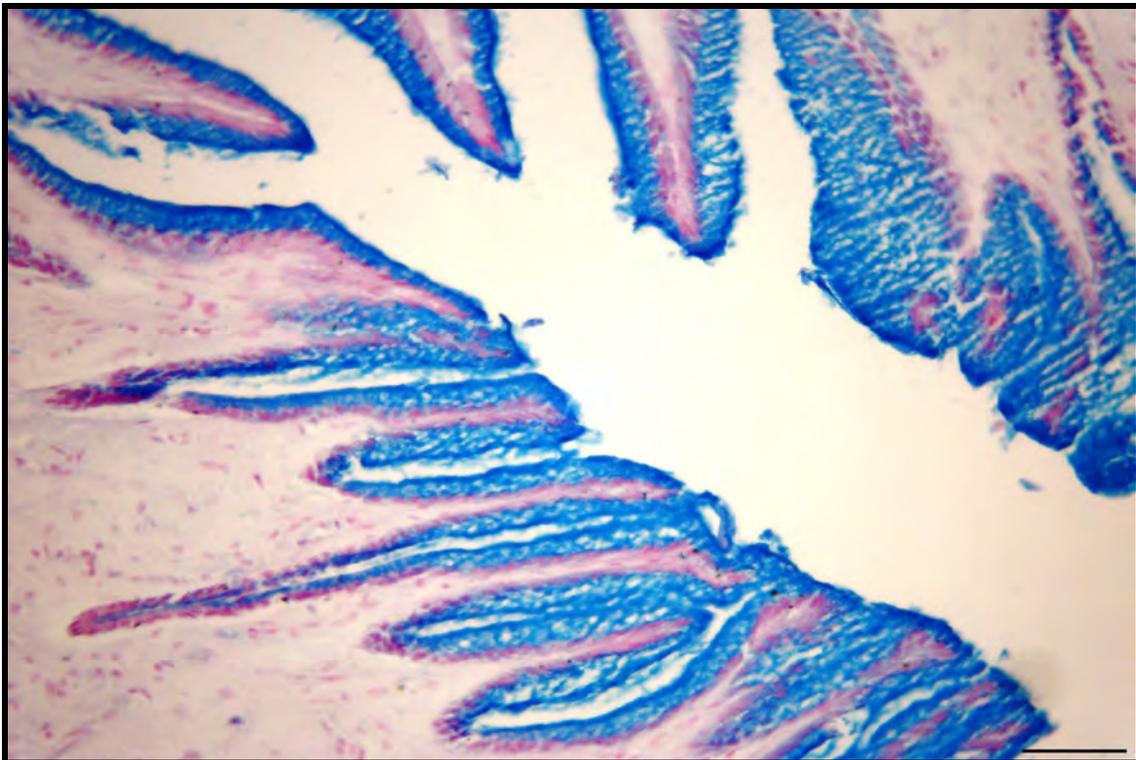


Figura 58: Proventrículo de *Caracara plancus*. Técnica: AB pH 2,5. Escala: 50 μ m

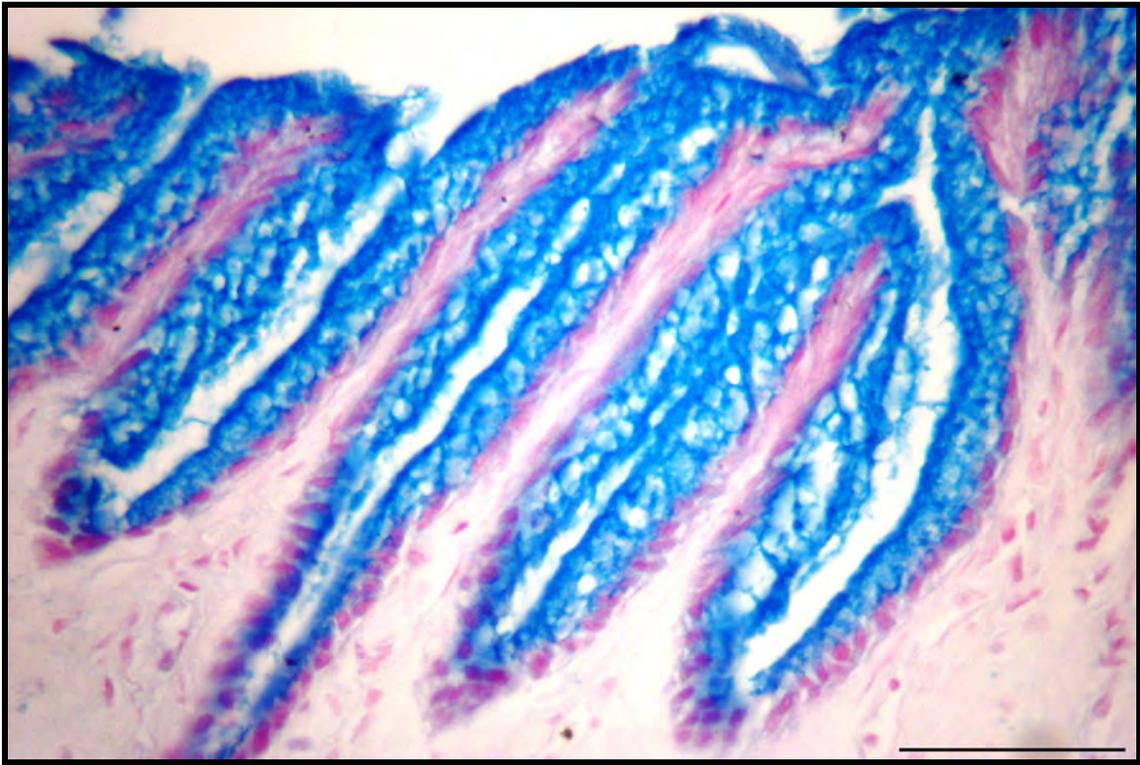


Figura 59: Proventrículo de *Caracara plancus*. Técnica: AB pH 2,5. Escala: 50 μ m

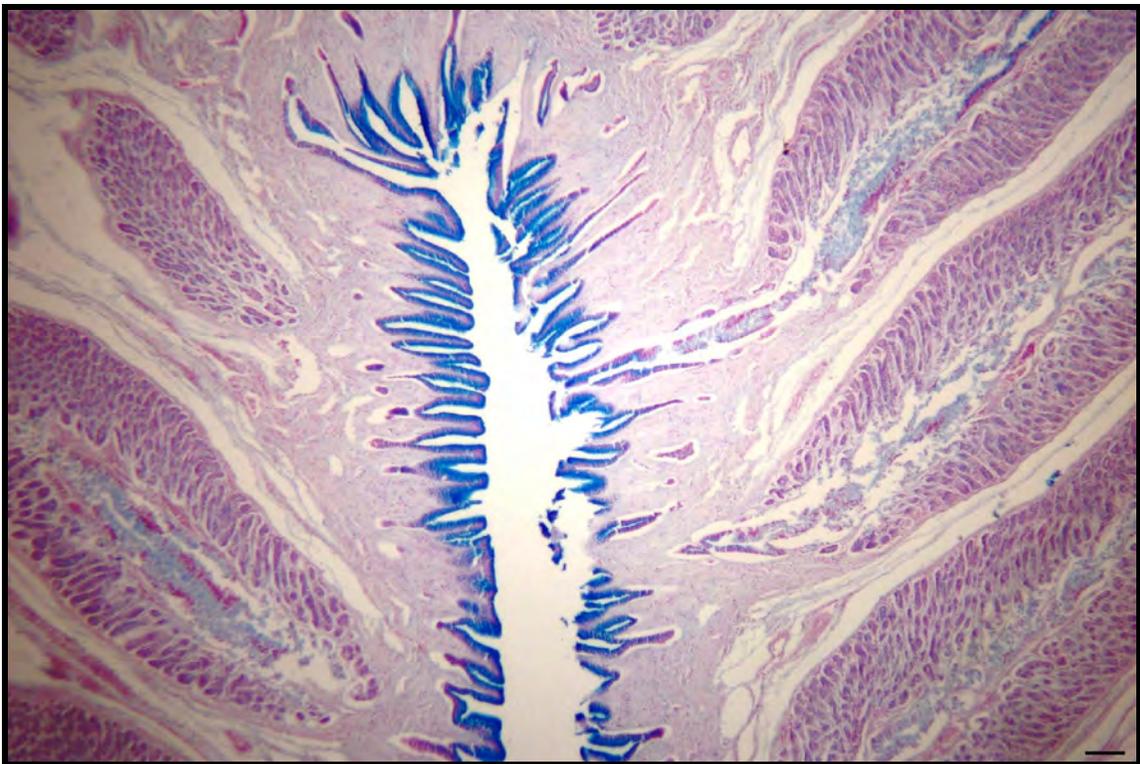


Figura 60: Proventrículo de *Caracara plancus*. Técnica: AB pH 2,5. Escala: 100 μ m

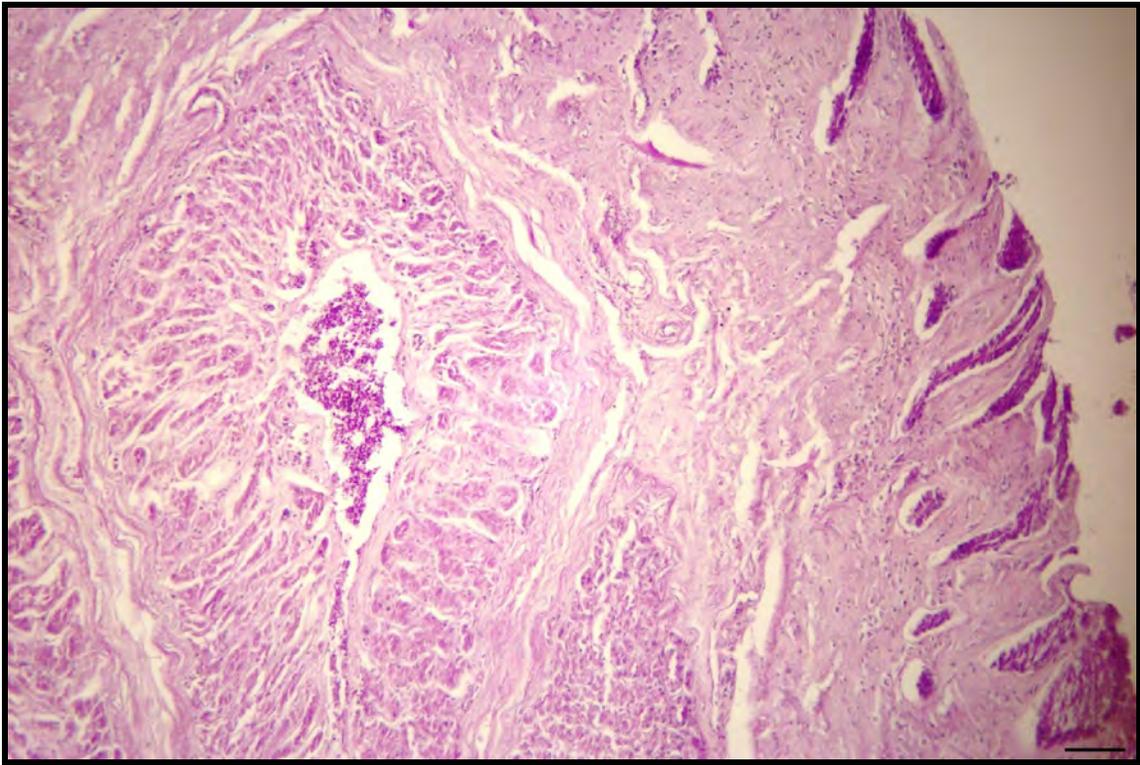


Figura 61: Proventrículo de *Caracara plancus*. Técnica: PAS. Escala: 50 μ m

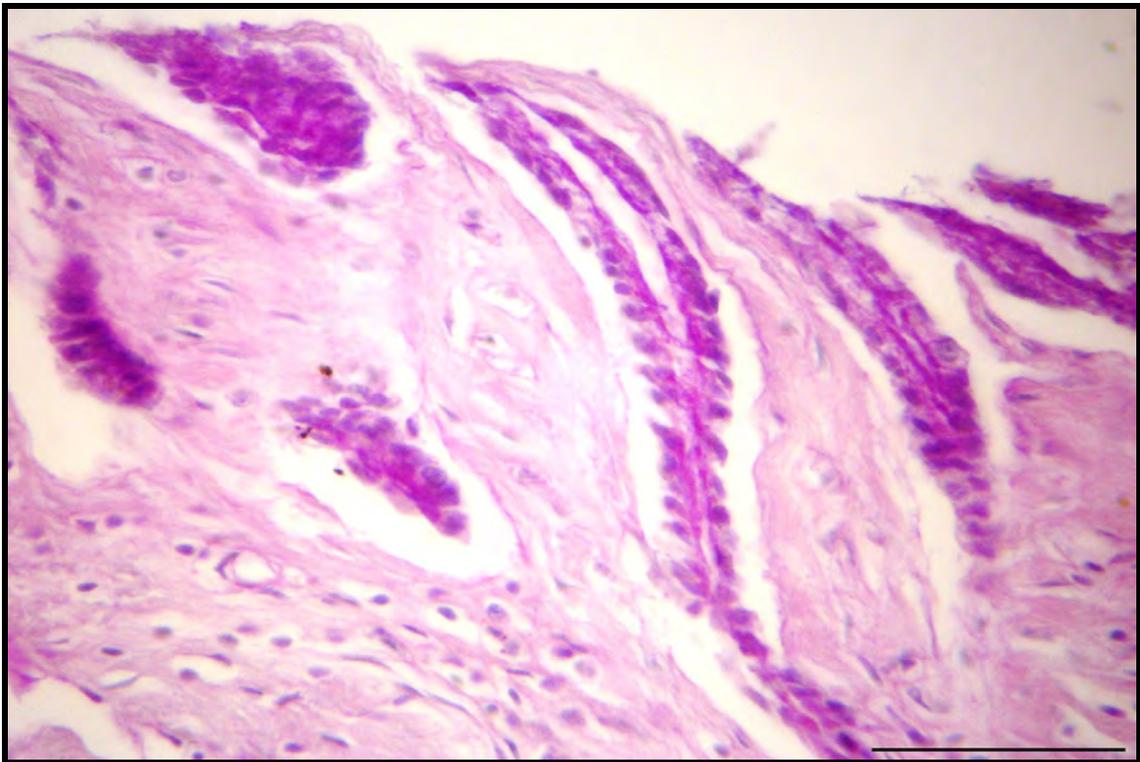


Figura 62: Proventrículo de *Caracara plancus*. Técnica: PAS. Escala: 50 μ m

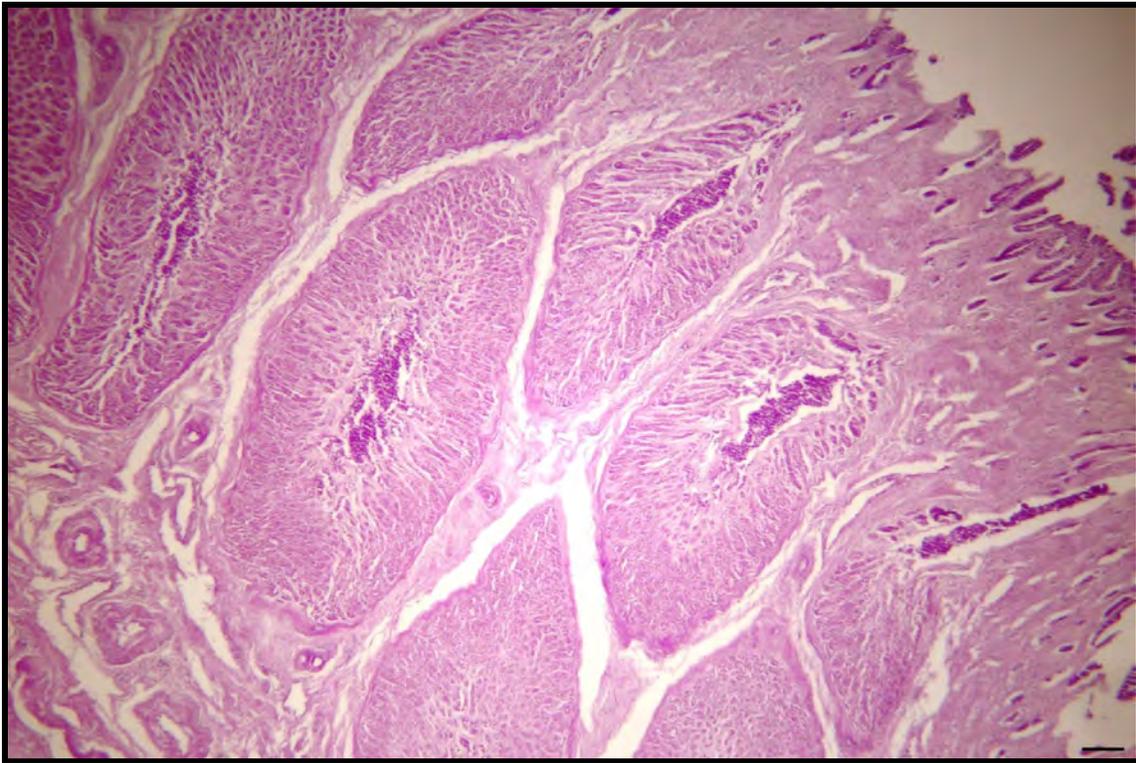


Figura 63: Proventrículo de *Caracara plancus*. Técnica: PAS. Escala: 100µm

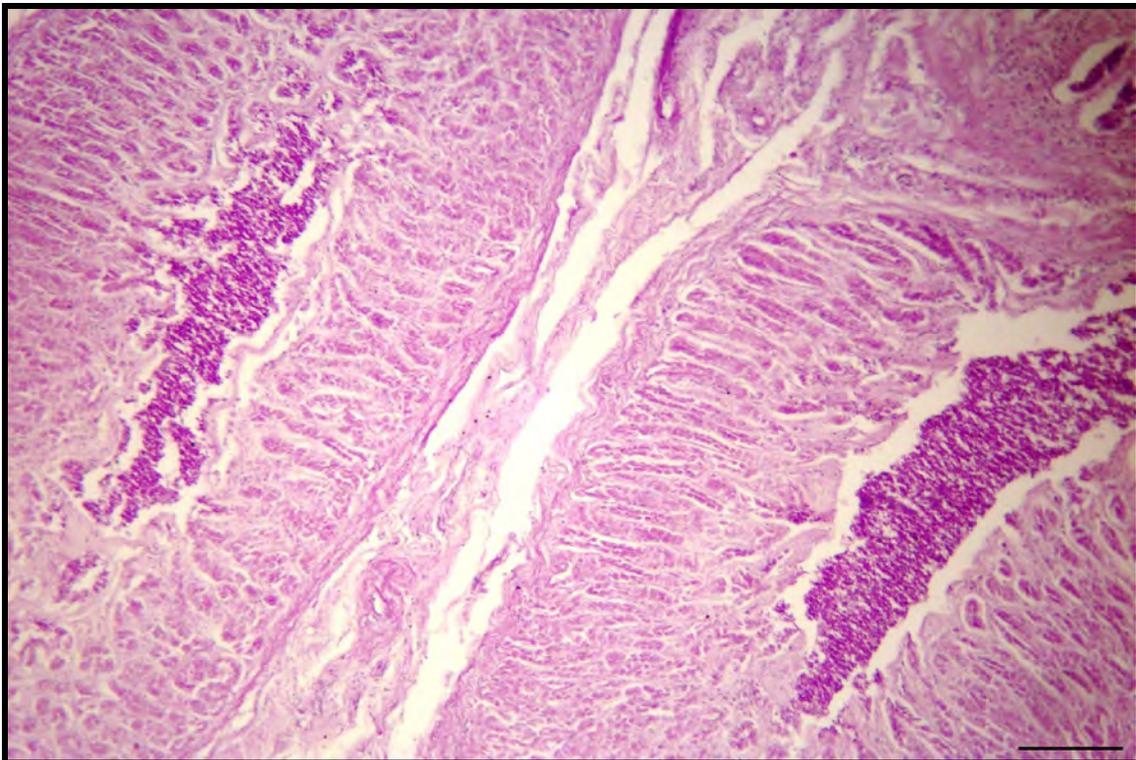


Figura 64: Proventrículo de *Caracara plancus*. Técnica: PAS. Escala: 100µm

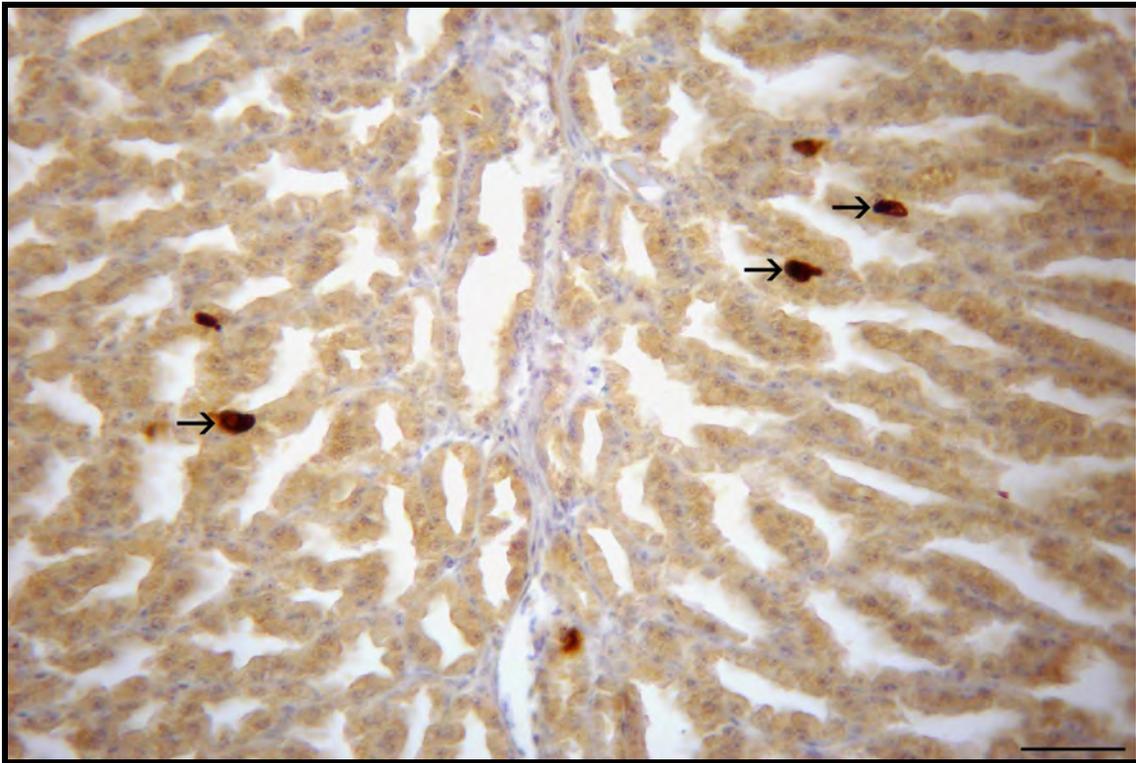


Figura 65: Proventrículo de *Caracara plancus*. Técnica: Inmunoistoquímica / Células endócrinas inmunoreactivas para Glucagon. Escala: 50 μ m

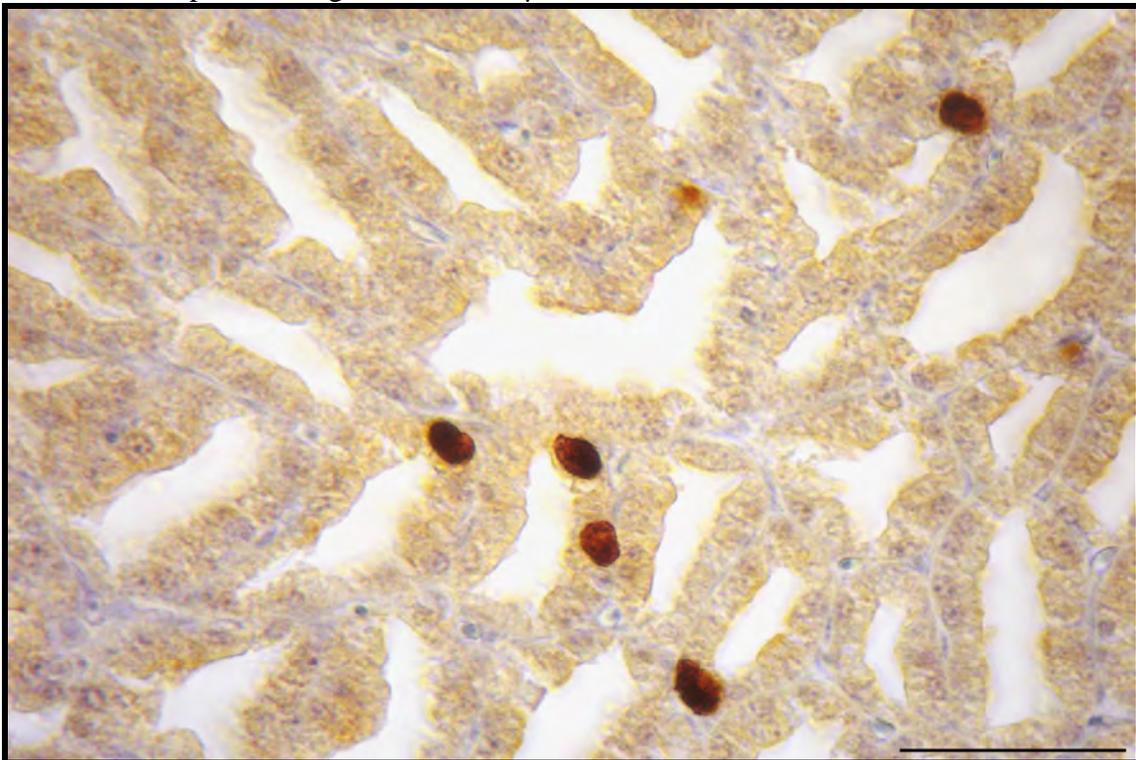


Figura 66: Proventrículo de *Caracara plancus*. Técnica: Inmunoistoquímica / Células endócrinas inmunoreactivas para Glucagon. Escala: 50 μ m

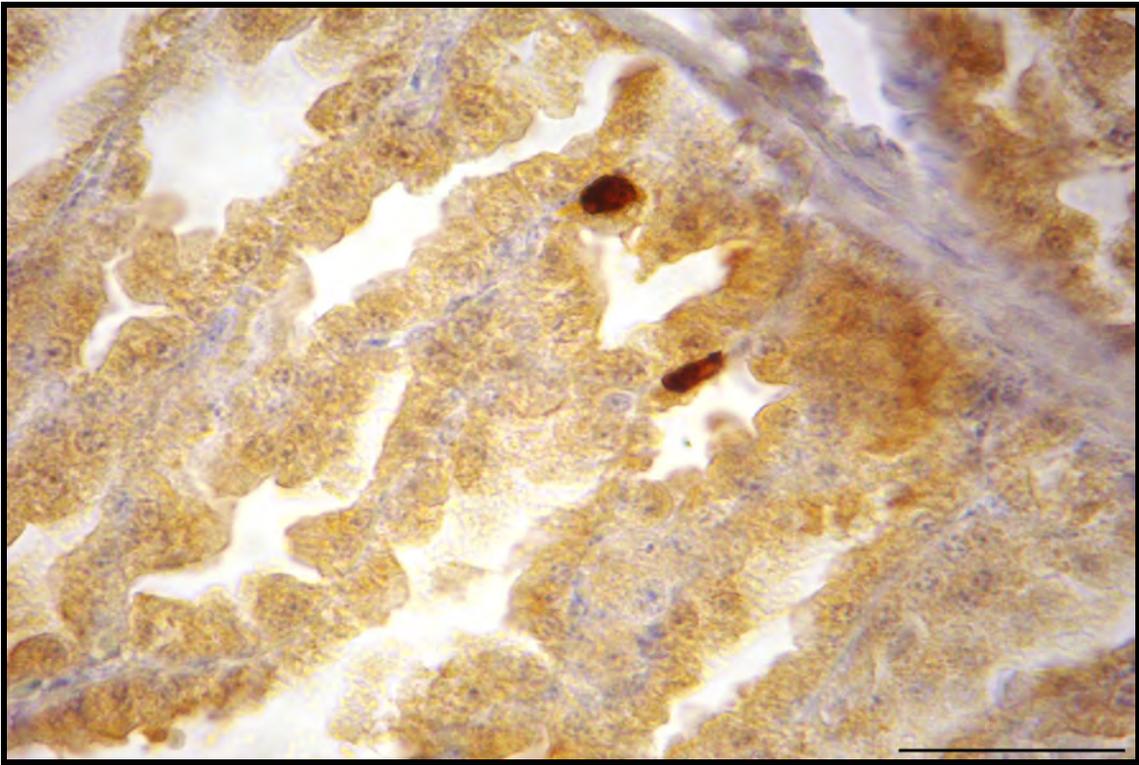


Figura 67: Proventrículo de *Caracara plancus*. Técnica: Inmunoistoquímica / Células endócrinas inmunoreactivas para Glucagon. Escala: 50 μ m

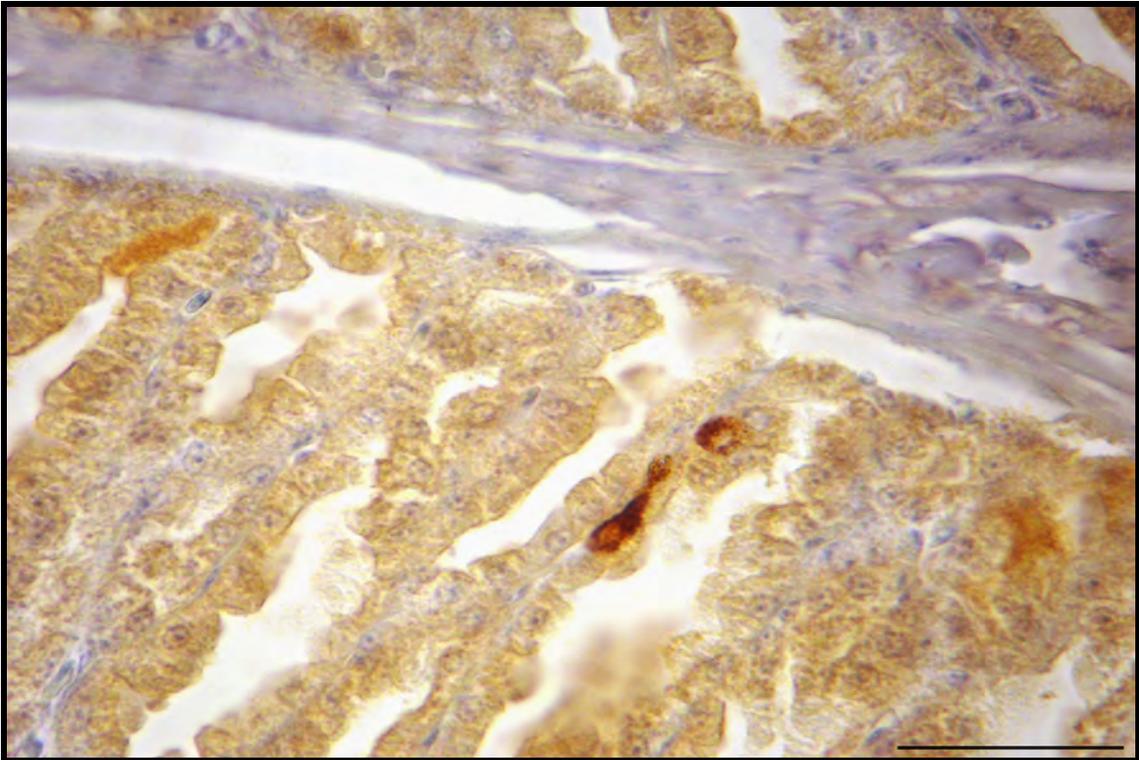


Figura 68: Proventrículo de *Caracara plancus*. Técnica: Inmunoistoquímica / Células endócrinas inmunoreactivas para Glucagon. Escala: 50 μ m

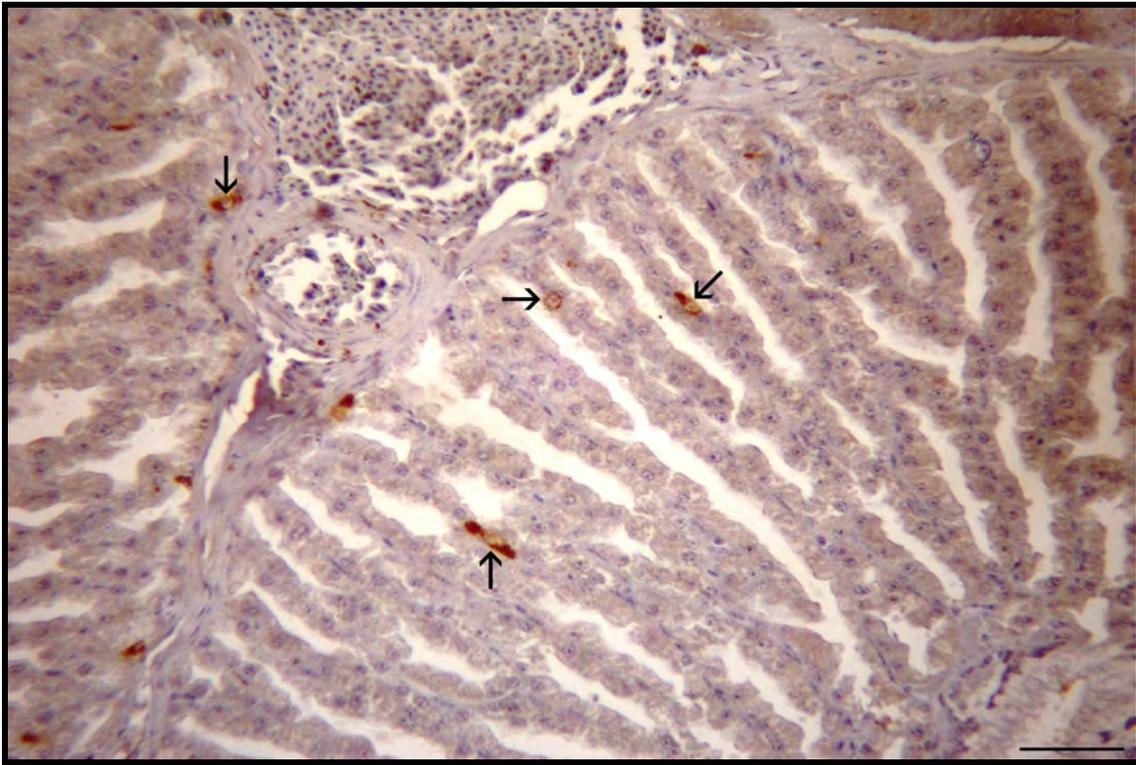


Figura 69: Proventrículo de *Caracara plancus*. Técnica: Inmunoistoquímica / Células endócrinas inmunoreactivas para Somatostatina. Escala: 100 μ m

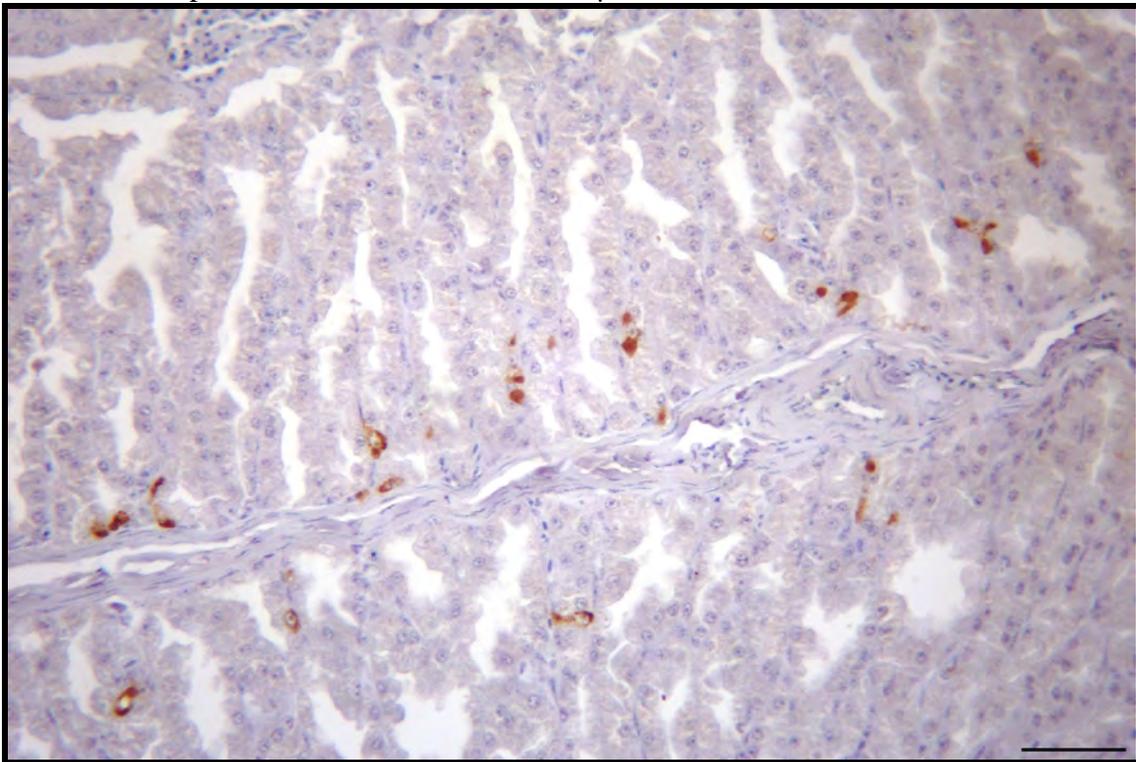


Figura 70: Proventrículo de *Caracara plancus*. Técnica: Inmunoistoquímica / Células endócrinas inmunoreactivas para Somatostatina. Escala: 50 μ m

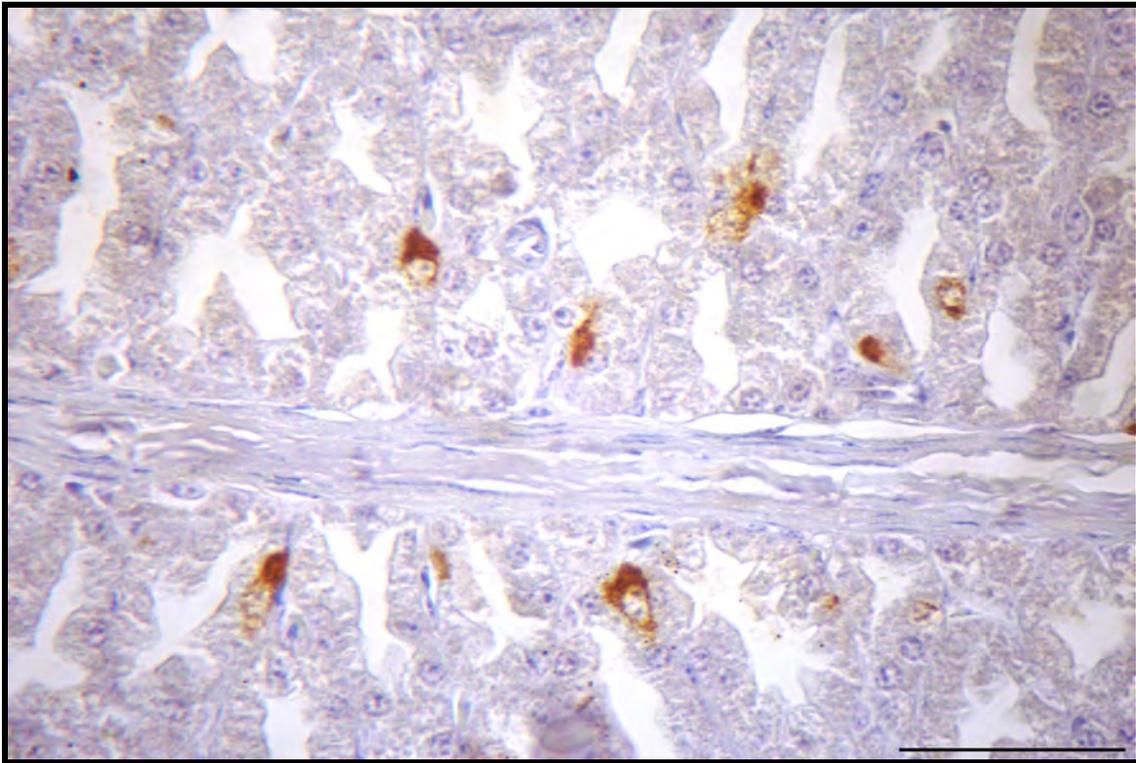


Figura 71: Proventrículo de *Caracara plancus*. Técnica: Inmunistoquímica / Células endócrinas inmunoreactivas para Somatostatina. Escala: 50 μ m

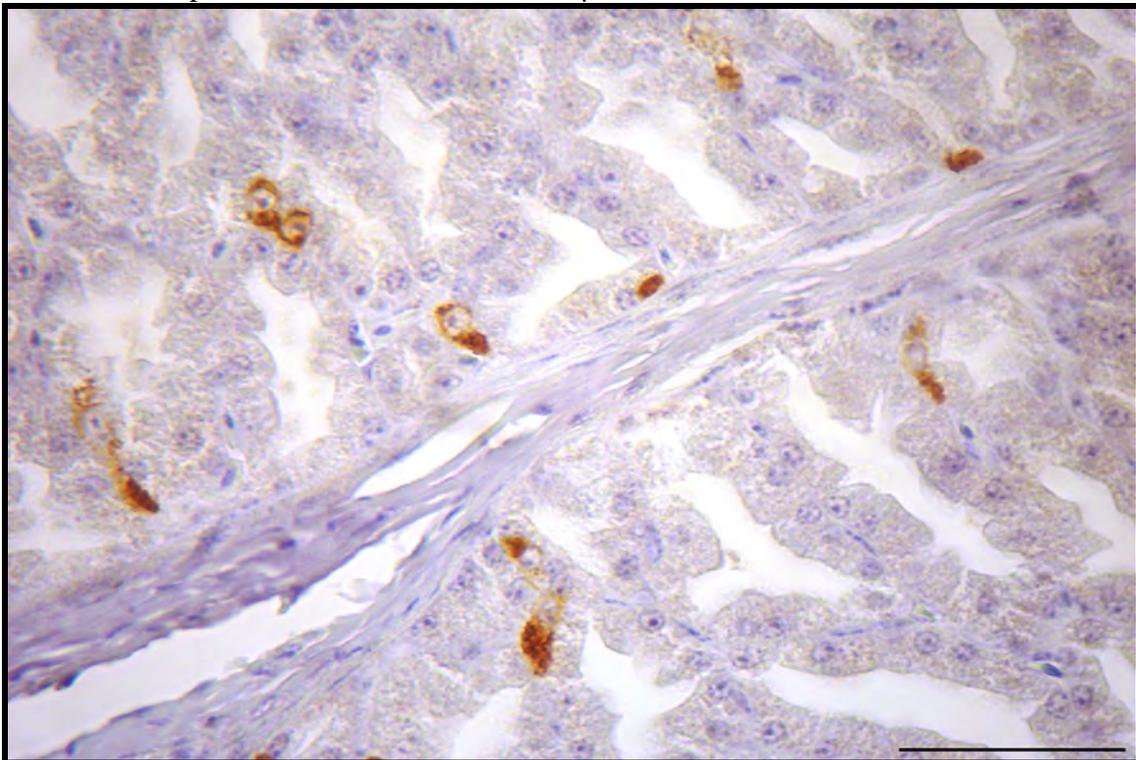


Figura 72: Proventrículo de *Caracara plancus*. Técnica: Inmunistoquímica / Células endócrinas inmunoreactivas para Somatostatina. Escala: 50 μ m

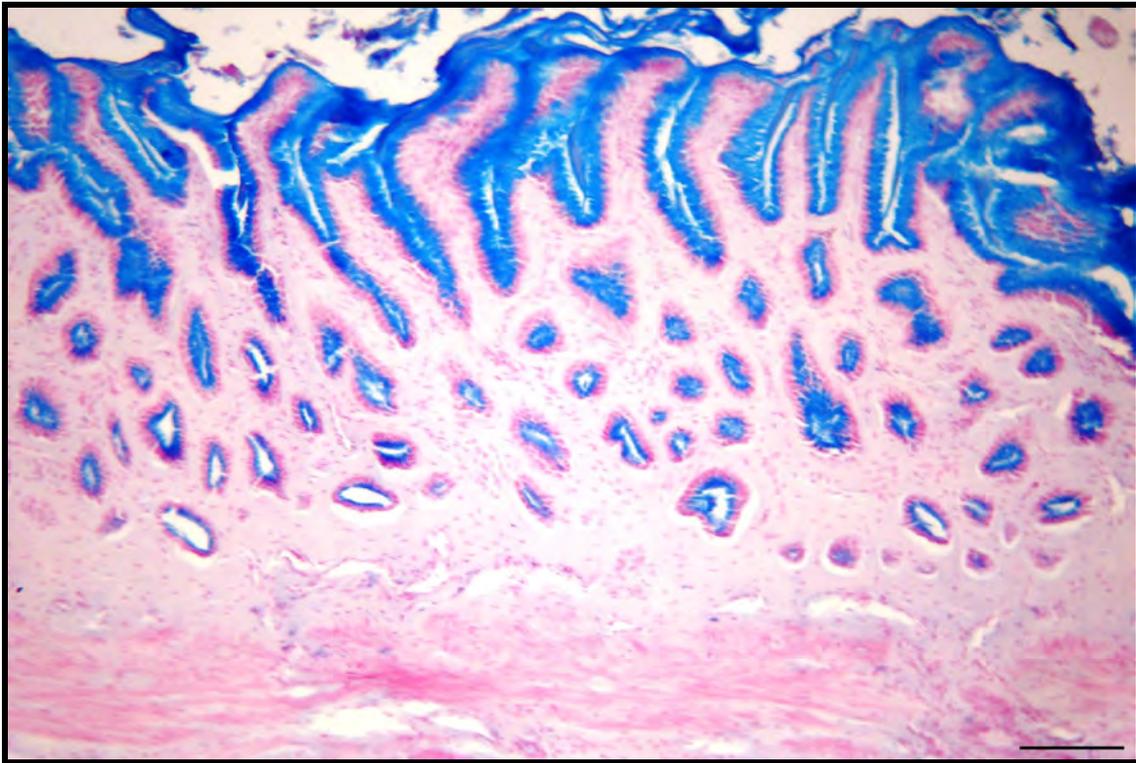


Figura 73: Ventrículo de *Caracara plancus*. Técnica: AB pH 2,5. Escala: 50 μ m

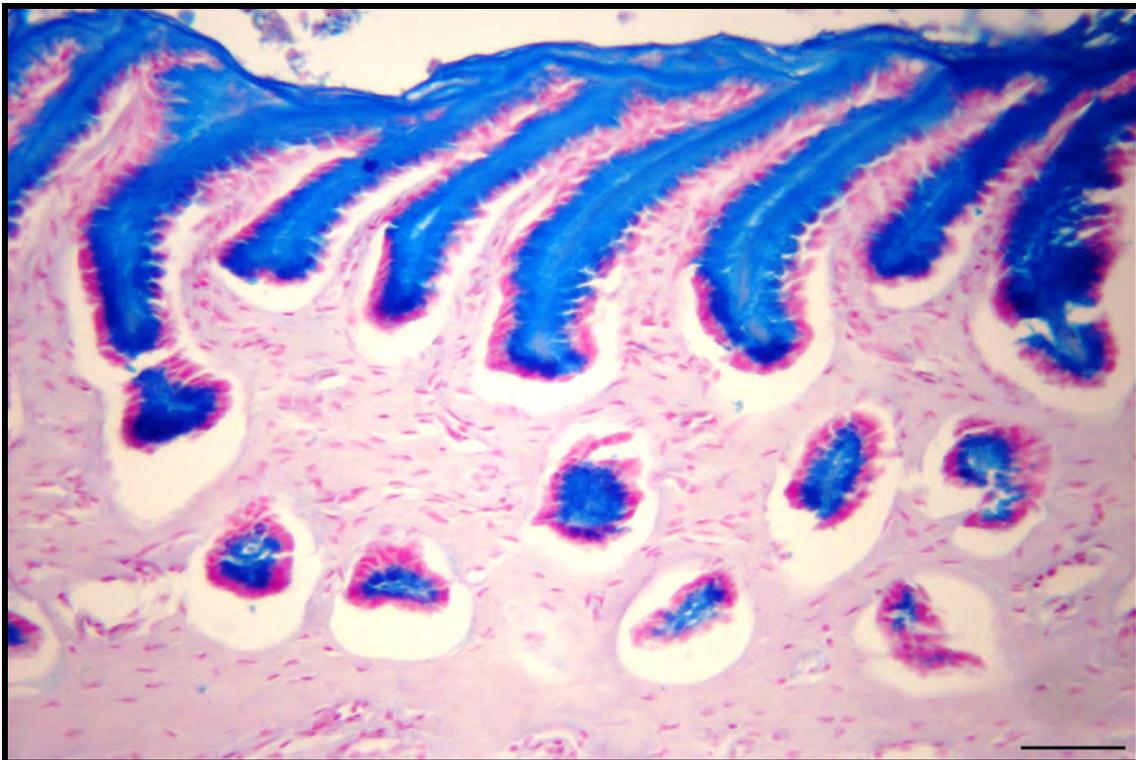


Figura 74: Ventrículo de *Caracara plancus*. Técnica: AB pH 2,5. Escala: 50 μ m

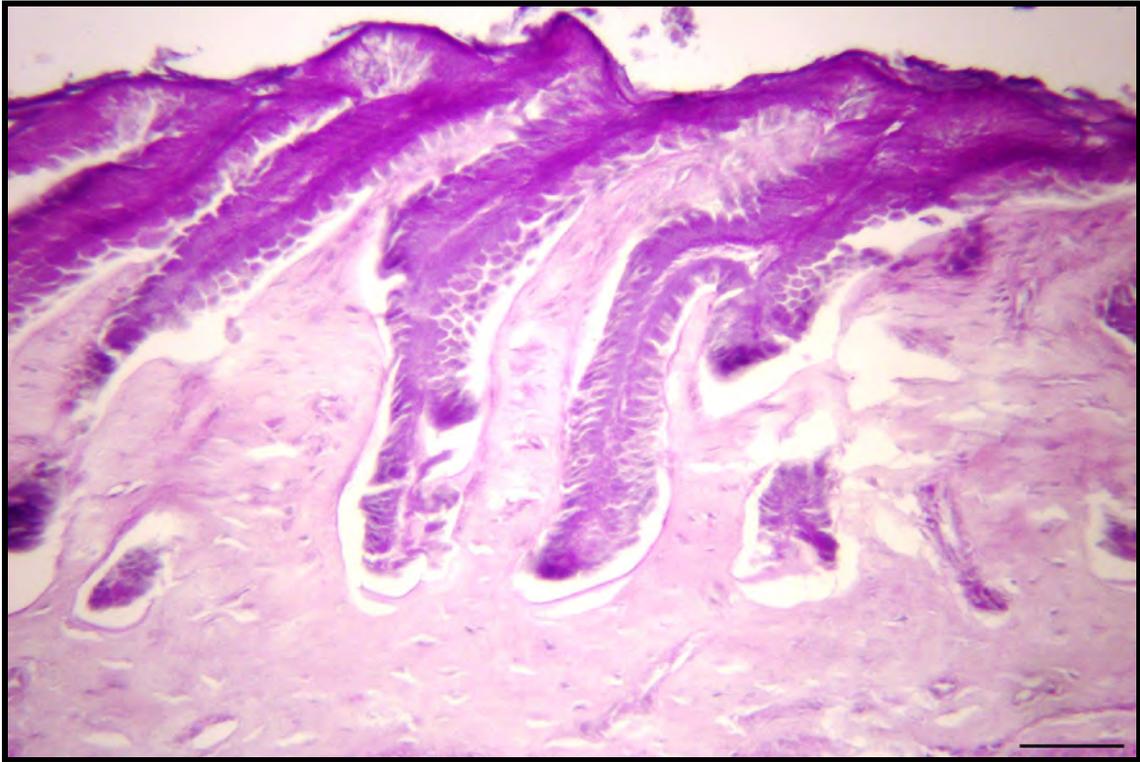


Figura 75: Ventrículo de *Caracara plancus*. Técnica: PAS. Escala: 50 μ m

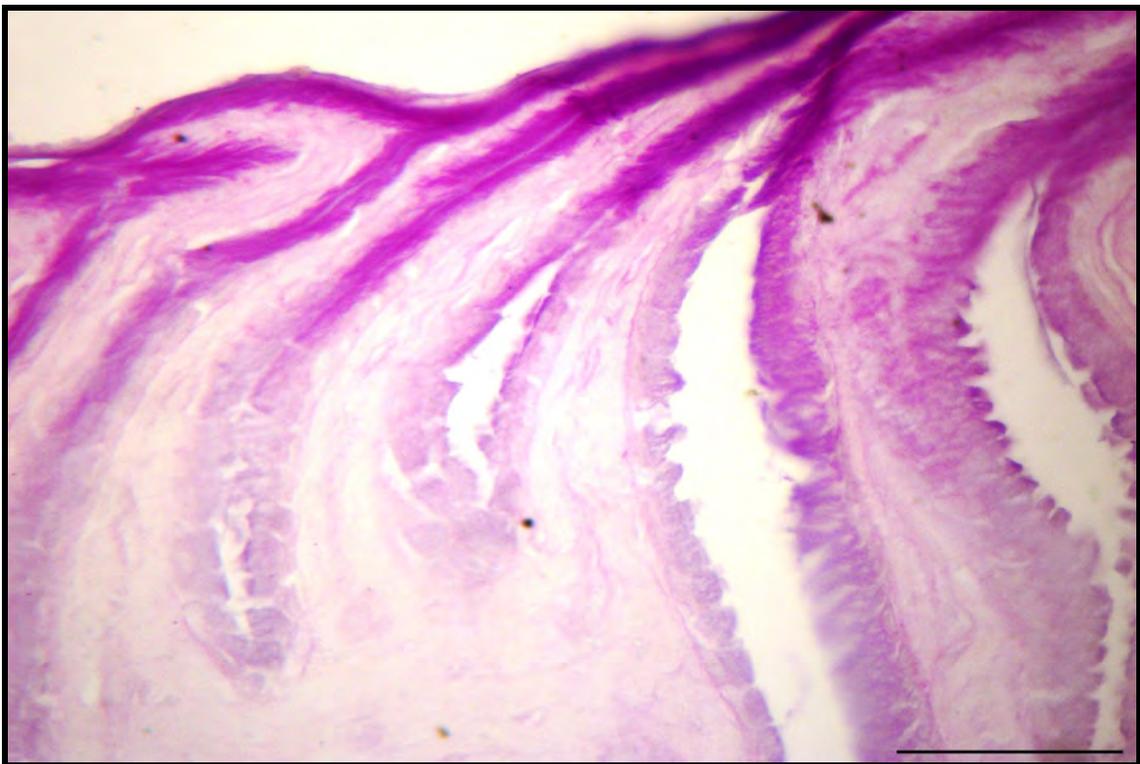


Figura 76: Ventrículo de *Caracara plancus*. Técnica: PAS. Escala: 50 μ m

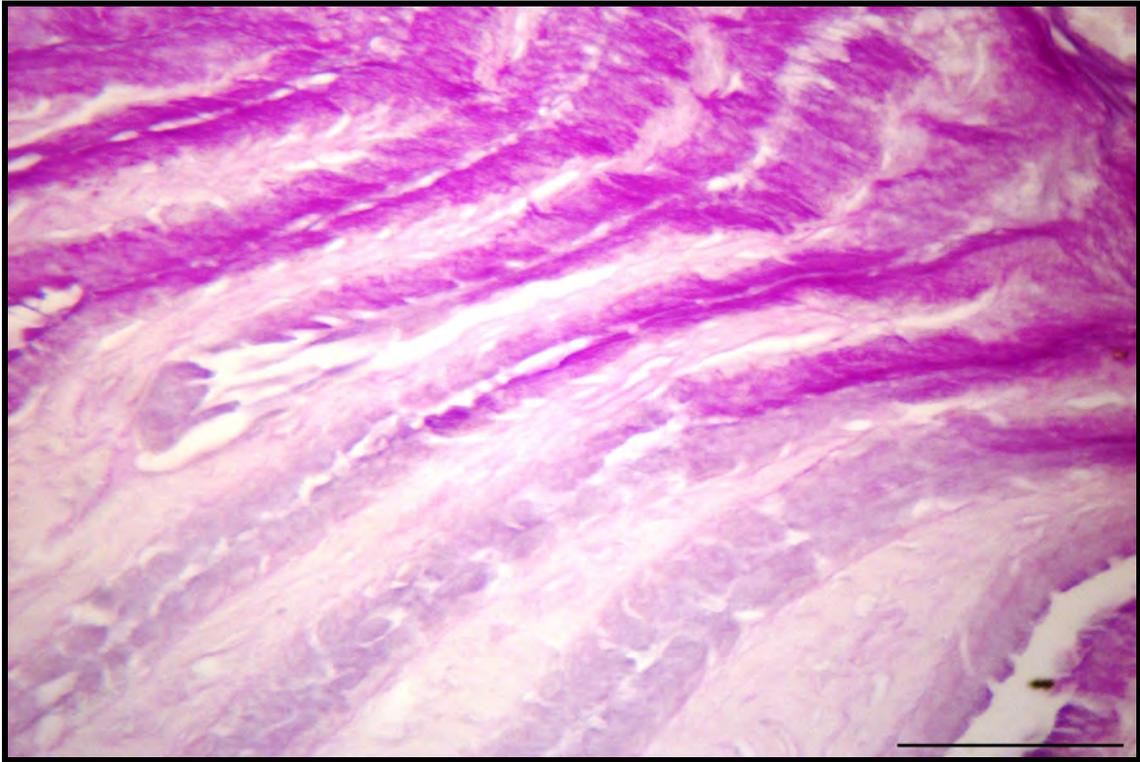


Figura 77: Ventrículo de *Caracara plancus*. Técnica: PAS. Escala: 50 μ m

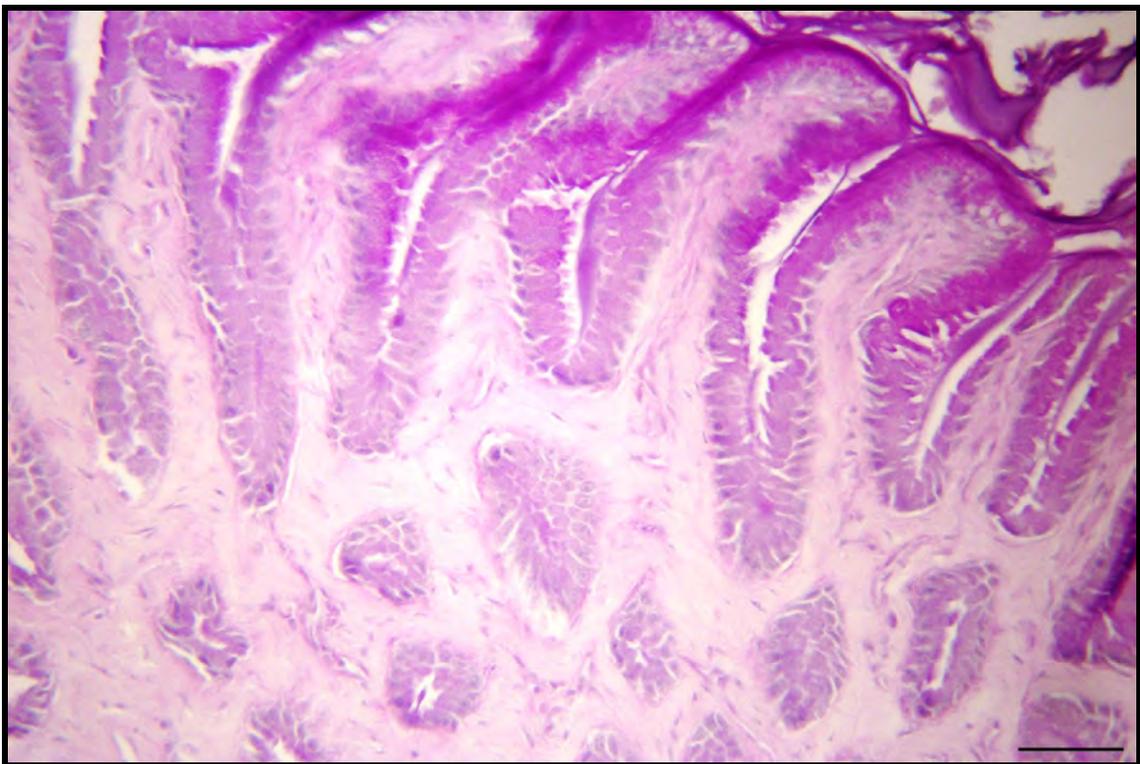


Figura 78: Ventrículo de *Caracara plancus*. Técnica: PAS. Escala: 50 μ m

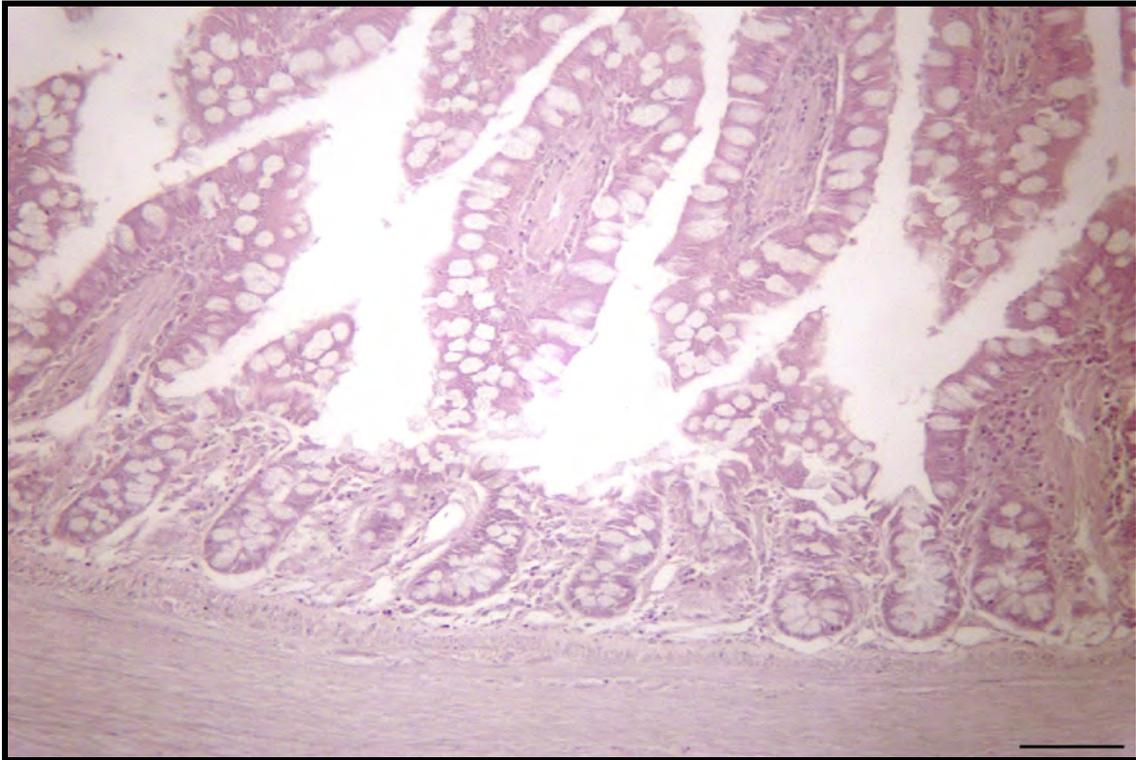


Figura 79: Intestino (vilosidades) de *Caracara plancus*. Técnica: Hematoxilina e Eosina. Escala: 50 μ m.

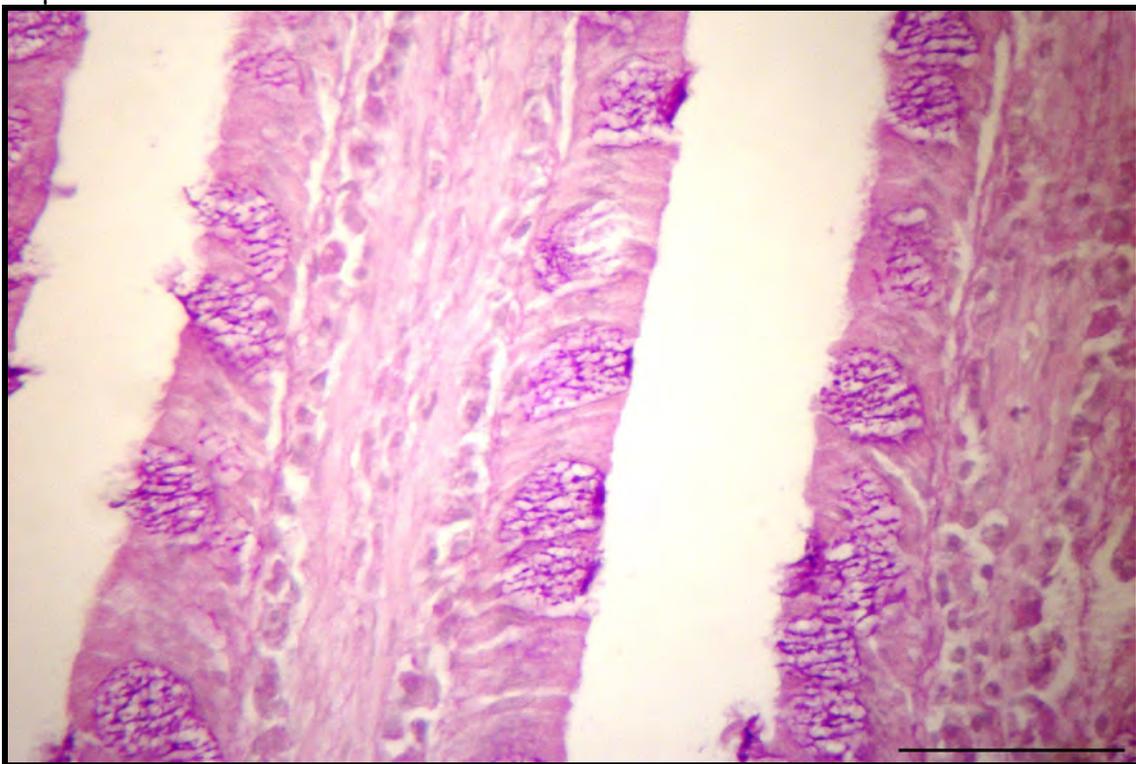


Figura 80: Intestino de *Caracara plancus*. Técnica: PAS. Escala: 50 μ m

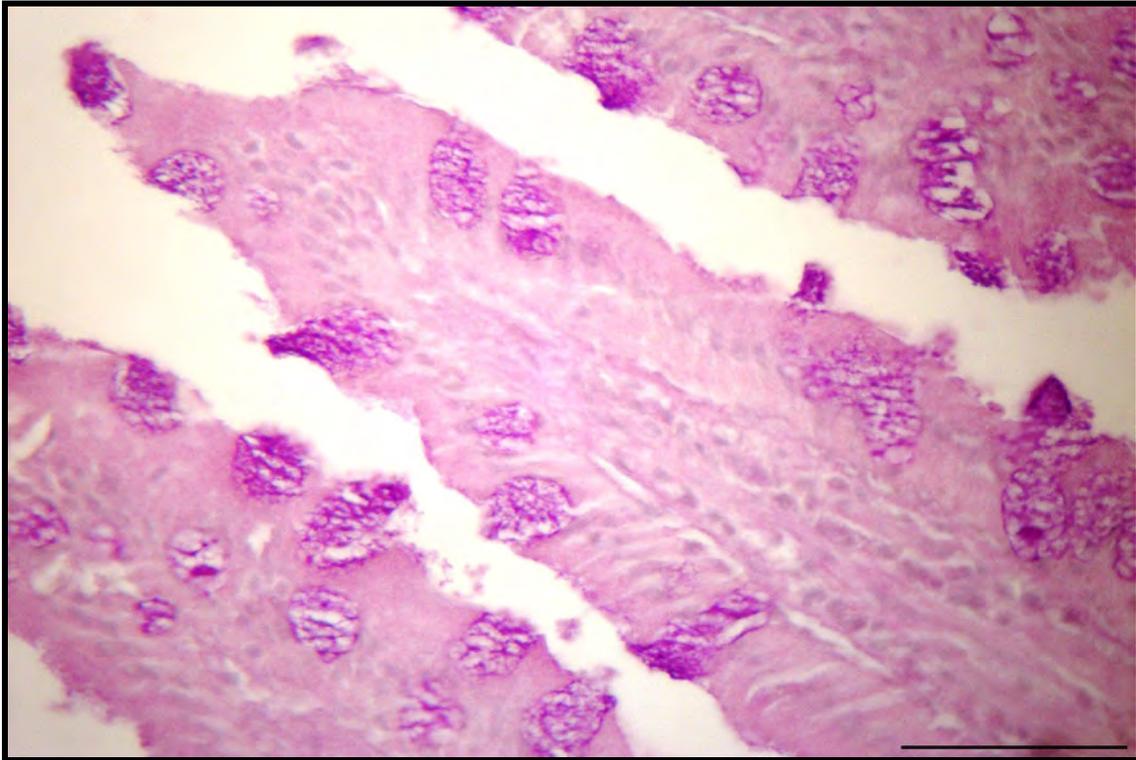


Figura 81: Intestino de *Caracara plancus*. Técnica: PAS. Escala: 50 μ m

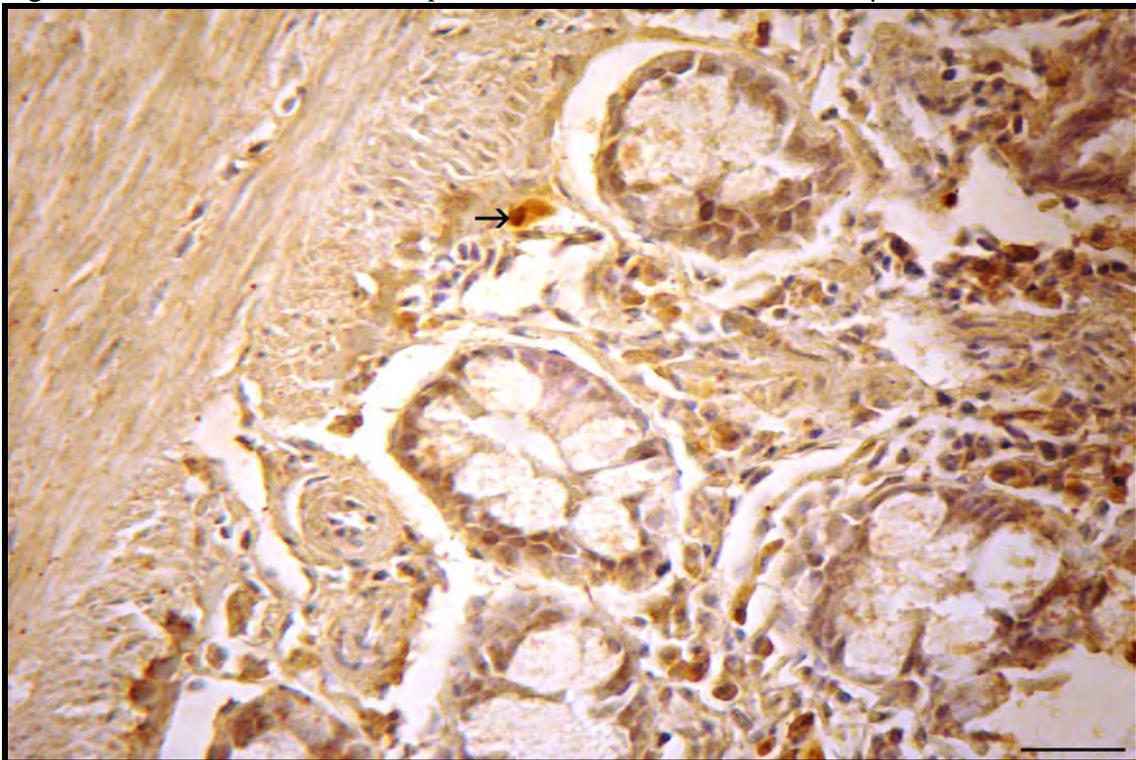


Figura 82: Intestino de *Caracara plancus*. Técnica: Inmunohistoquímica / Células endócrinas inmunoreactivas para Serotonina. Escala: 50 μ m

5 DISCUSSÃO

5.1 Coruja-orelhuda

5.1.1 Esôfago

As camadas mucosa, submucosa, muscular e adventícia observadas estão de acordo com o descrito na literatura para vertebrados, conforme Banks (1991) e George; Castro (1998). Também foram descritas em estudos histológicos de TGI de galinhas (HODGE, 1974), de faisão dourado (ZHANG; YU, 2000) e de galo das neves himalaio (MA, 2009). Em aves de rapina, foram observadas no falcão peregrino, no quiriquiri e em *Otus asio*, de acordo com Lazareff (1949) e na águia real, em estudo realizado por Yang et al. (2008).

As dobras longitudinais encontradas na luz do esôfago formadas pela mucosa e submucosa, foram descritas por Illanes et al. (2006) e por Monteiro et al. (2009) em avestruzes, assim como a mucosa revestida por epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado, também descrito para o faisão dourado, o galo das neves himalaio, o pavão de java e *Otus asio*, por (Zhang; Yu, 2000), por Ma (2009), por Lu; Wang; Wang (2004) e por Lazareff (1949), respectivamente. Na águia real (YANG et al, 2008), na abetarda (LIU et al., 2002) e no mocho dos banhados (LAZAREFF, 1949) o epitélio apresenta pouca queratinização. Vale ressaltar que na coruja-orelhuda o epitélio é estratificado, porém com um número de camadas menor em relação ao observado nas espécies supracitadas.

Na lâmina própria observou-se numerosas glândulas tubulosas, como descrito também para *Otus asio* e para o mocho dos banhados por Lazareff (1949) e diferente do apontado na literatura para avestruzes por Illanes et al. (2006) e por Monteiro (2009), que as identificaram como tubuloacinosas. A muscular da mucosa com células musculares lisas dispostas em sentido longitudinal, a submucosa de tecido conjuntivo frouxo com vasos sanguíneos, bem como a camada muscular e a adventícia típicas correspondem às descrições de Banks (1991) em aves domésticas e de Lazareff (1949) em *Otus asio* e no mocho dos banhados.

A presença de células secretoras de glicosaminoglicanos neutros e ácidos nas glândulas da mucosa estão de acordo com o descrito por Suganuma et al. (1981) para peixes, anfíbios, répteis, mamíferos e aves.

Não foram observadas células imunorreativas à gastrina, glucagon, serotonina e somatostatina no esôfago, resultados que estão de acordo com os descritos por Yamanaka et al. (1989) em galinhas, por Saito et al. (1989) em pombos e por Gulmez et al. (2002) em gansos.

Células imunorreativas à serotonina e à somatostatina foram descritas no esôfago de sapos por Ku et al. (2003), e apenas à serotonina no esôfago de lagarto por Lee; Ku (2004).

5.1.2 Proventriculo

As características histológicas do proventriculo aproximam-se às descritas em aves domésticas por Banks (1991), George; Castro (1998) e Bacha; Bacha (2003), em avestruzes por Bezuidenhout; Van Aswegen (1990) e Monteiro (2009), em Passeriformes australianos por Ogunkoya; Cook (2009), em *Otus asio* e no mocho dos banhados por Lazareff (1949).

Dellmann (1993) descreve o epitélio de revestimento como simples cúbico em aves domésticas, o que difere do resultado do presente trabalho e dos autores citados no parágrafo anterior, que o descrevem como simples cilíndrico.

As técnicas histoquímicas evidenciaram as células produtoras de glicosaminoglicanos no epitélio de revestimento, resultados similares aos de Suganuma et al. (1981) para peixes, anfíbios, répteis, mamíferos e aves.

Células imunorreativas à gastrina também foram detectadas em galinhas (YAMANAKA et al., 1989; AKSOY; CINAR, 2009), em pombos (SAITO et al., 1989) e em gansos (GULMEZ et al., 2002).

Células imunorreativas ao glucagon foram detectadas apenas nas glândulas submucosas do proventrículo. De acordo com Yamada et al. (1985), em tentilhãos, pombos, codornas, galinhas, patos, gaivotas e gaviões, e conforme Mendes et al. (2009), no tico-tico, também são encontradas no epitélio, mesmo que em pequena quantidade.

Em relação à serotonina, os resultados estão de acordo com o descrito em outras aves, por Tarakci et al. (2008), no avestruz, por Yamanaka et al. (1989), na galinha, e por Mendes et al. (2009), no tico-tico. Porém diferem de Atalar; Bayrakdar (2011) no *Buteo rufinus*, onde também são encontradas no epitélio.

Células imunorreativas à somatostatina foram observadas nas glândulas submucosas, também detectadas por Tarakci et al. (2008), no avestruz, por Mendes et al. (2009), no tico-tico e por Atalar; Bayrakdar (2011) no *Buteo rufinus*.

5.1.3 Ventrículo

O ventrículo da coruja orelhuda não difere do descrito na literatura para galinhas (HODGE, 1974) e avestruzes (BEZUIDENHOUT; VAN ASWEGEN, 1990), além do observado em aves de rapina, como no falcão peregrino, no quiriquiri e em *Otus asio*, por Lazareff (1949) e na águia real, em estudo realizado por Yang et al. (2008). As similaridades também são observadas em relação ao produto de secreção que reveste a mucosa, marcado pelas técnicas histoquímicas.

Glândulas tubulares simples ramificadas estavam presentes na mucosa do ventrículo, cuja descrição morfológica corresponde a dos autores citados no parágrafo anterior, mas diferem de Illanes et al (2006) que descreveram-nas como tubuloalveolares simples ramificadas em avestruzes.

Não foram detectadas células imunorreativas aos peptídeos reguladores/aminas biogênicas. Resultados similares aos descritos por Saito et al. (1989) em pombos e diferentes aos apresentados por Yamanaka et al. (1989), que detectaram células imunorreativas à gastrina e à somatostatina em galinhas. Diferem também de Mendes et al. (2009), que identificaram células imunorreativas à serotonina no tico-tico. Atalar; Bayrakdar (2011) identificaram células imunorreativas à serotonina no epitélio e nas glândulas e células imunorreativas à somatostatina nas glândulas.

5.1.4 Intestinos

Os resultados descritos na análise histológica também foram observados na literatura para galinhas (HODGE, 1974), avestruzes (BEZUIDENHOUT; VAN ASWEGEN, 1990), águia real (YANG et al., 2008) e falcão do planalto (YU et al., 2009).

Células imunorreativas aos anti-soros estudados neste trabalho são observadas por Morescalchi et al., (1997) em répteis, por Yamanaka et al. (1989) em galinhas e por Saito et al. (1989) em pombos. Em sapos, foram detectadas células imunorreativas à serotonina, somatostatina e glucagon (KU et al., 2003).

Mendes et al. (2009) identificaram células imunorreativas à serotonina e à somatostatina tanto no epitélio de revestimento das vilosidades quanto nas glândulas do intestino delgado do tico-tico

Na coruja-orelhuda foram observadas células imunorreativas ao glucagon e à serotonina no epitélio de revestimento das vilosidades e nas glândulas de Lieberkühn à gastrina somente no epitélio e não foram identificadas células marcadas com antisoro anti-somatostatina em nenhuma região dos intestinos.

5.2 Carcará

5.2.1 Esôfago

As camadas mucosa, submucosa, muscular e adventícia observadas estão de acordo com o descrito na literatura para vertebrados, conforme Banks (1991) e George; Castro (1998). Também foram descritas em estudos histológicos de TGI de galinhas (HODGE, 1974), de faisão dourado (ZHANG; YU, 2000) e de galo das neves himalaio (MA, 2009). Em aves de rapina, foram observadas no falcão peregrino, no quiriquiri e em *Otus asio*, de acordo com Lazareff (1949) e na águia real, em estudo realizado por Yang et al. (2008). Portanto, a descrição histológica foi similar à encontrada na coruja-orelhuda, exceto pelo fato do epitélio apresentar um grande número de camadas, como no falcão peregrino, no quiriquiri e no esmerilhão (LAZAREFF, 1949).

O epitélio também é não queratinizado como na coruja-orelhuda, diferindo de outros falconídeos que apresentam um epitélio queratinizado, como o falcão peregrino, o quiriquiri e o esmerilhão (LAZAREFF, 1949).

Na lâmina própria havia numerosas glândulas tubuloacinosas como descrito em avestruzes por Illanes et al. (2006) e por Monteiro (2009), e em falcão peregrino (LAZAREFF, 1949). Esses resultados foram diferentes aos dos apresentados para a coruja-orelhuda, na qual as glândulas foram descritas como tubulosas.

A presença de células secretoras de glicosaminoglicanos neutros e ácidos nas glândulas da mucosa estão de acordo com o descrito por Suganuma et al. (1981) para peixes, anfíbios, répteis, mamíferos e aves, e também para a coruja-orelhuda.

Células imunorreativas à gastrina, glucagon, serotonina e somatostatina não foram detectadas, resultados que estão de acordo com os descritos por Yamanaka et al. (1989) em galinhas, por Saito et al. (1989) em pombos e por Gulmez et al. (2002) em gansos e também observados na coruja-orelhuda.

Células imunorreativas à serotonina e à somatostatina foram descritas no esôfago de sapos por Ku et al. (2003), e apenas à serotonina no esôfago de lagarto por Lee; Ku (2004).

5.2.2 Proventriculo

As características histológicas do proventriculo aproximam-se às descritas em aves domésticas por Banks (1991), George; Castro (1998) e Bacha; Bacha (2003), em avestruzes por Bezuidenhout; Van Aswegen (1990) e Monteiro (2009), em Passeriformes australianos por

Ogunkoya; Cook (2009), em *Otus asio*, no mocho dos banhados, no falcão peregrino e no quiriquiri por Lazareff (1949), sendo observadas também na coruja-orelhuda.

Dellmann (1993) descreve o epitélio de revestimento como simples cúbico em aves domésticas, o que difere dos resultados da coruja-orelhuda e do carcará, descrito como simples cilíndrico mucossecretor.

As técnicas histoquímicas evidenciaram as células produtoras de mucopolissacarídeo no epitélio de revestimento, resultados similares aos de Suganuma et al. (1981) para peixes, anfíbios, répteis, mamíferos e aves, também observadas na coruja-orelhuda.

Células imunorreativas à gastrina são em galinhas (YAMANAKA et al., 1989; AKSOY; CINAR, 2009), em pombos (SAITO et al., 1989), em gansos (GULMEZ et al., 2002) e na coruja-orelhuda, porém não foram detectadas em carcará em nenhuma região do proventrículo.

Células imunorreativas ao glucagon foram detectadas apenas nas glândulas submucosas do proventrículo do carcará, resultado similar ao da coruja-orelhuda. De acordo com Yamada et al. (1985), em tentilhãos, pombos, codornas, galinhas, patos, gaivotas e gaviões, e conforme Mendes et al. (2009), no tico-tico, também são encontradas no epitélio, mesmo que em pequena quantidade.

Em relação à serotonina, os resultados do carcará estão diferentes dos da coruja-orelhuda e dos descritos na literatura em outras aves, por Tarakci et al. (2008) no avestruz, por Yamanaka et al. (1989) na galinha e por Mendes et al. (2009) no tico-tico. Diferem também de Atalar; Bayrakdar (2011) no *Buteo rufinus*, onde também são encontradas no epitélio.

Células imunorreativas à somatostatina foram observadas nas glândulas submucosas, como na coruja-orelhuda, também detectadas por Tarakci et al. (2008), no avestruz, por Mendes et al. (2009), no tico-tico e por Atalar; Bayrakdar (2011) no *Buteo rufinus*.

5.2.3 Ventrículo

O ventrículo do carcará não difere do descrito na literatura para galinhas (HODGE, 1974) e avestruzes (BEZUIDENHOUT; VAN ASWEGEN, 1990), além do observado em aves de rapina, como no falcão peregrino, no quiriquiri e em *Otus asio*, por Lazareff (1949) e na águia real, em estudo realizado por Yang et al. (2008). As similaridades também são observadas em relação ao produto de secreção que reveste a mucosa, marcado pelas técnicas histoquímicas. Os resultados e a discussão são similares aos da coruja-orelhuda.

Glândulas tubulares simples ramificadas estavam presentes na mucosa do ventrículo, cuja descrição morfológica corresponde a dos autores citados no parágrafo anterior e da coruja-orelhuda, mas diferem de Illanes et al (2006) que descreveram-nas como tubuloalveolares simples ramificadas em avestruzes.

Como na coruja-orelhuda, não foram detectadas células imunorreativas aos peptídeos reguladores/aminas biogênicas. Resultados similares aos descritos por Saito et al. (1989) em pombos e diferentes aos apresentados por Yamanaka et al. (1989), que detectaram células imunorreativas à gastrina e à somatostatina em galinhas. Diferem também de Mendes et al. (2009), que identificaram células imunorreativas à serotonina no tico-tico. Atalar; Bayrakdar (2011) identificaram células imunorreativas à serotonina no epitélio e nas glândulas e células imunorreativas à somatostatina nas glândulas.

5.2.4 Intestinos

Os resultados descritos na análise histológica também foram observados na literatura para galinhas (HODGE, 1974), avestruzes (BEZUIDENHOUT; VAN ASWEGEN, 1990), águia real (YANG et al., 2008), falcão do planalto (YU et al., 2009) e para a coruja-orelhuda.

No carcará apenas células imunorreativas ao glucagon foram detectadas nas glândulas de Lieberkühn, o que difere da coruja-orelhuda onde foram observadas células imunorreativas ao glucagon também no epitélio, à serotonina no epitélio e nas glândulas e à gastrina no epitélio.

Não foram identificadas células marcadas com antisoro anti-somatostatina em nenhuma região dos intestinos, resultado descrito também para a coruja-orelhuda.

Em relação à literatura, células imunorreativas aos anti-soros estudados neste trabalho são observadas por Morescalchi et al., (1997) em répteis, por Yamanaka et al. (1989) em galinhas e por Saito et al. (1989) em pombos. Em sapos, foram detectadas células imunorreativas à serotonina, somatostatina e glucagon (KU et al., 2003).

Mendes et al. (2009) identificaram células imunorreativas à serotonina e à somatostatina tanto no epitélio quanto nas glândulas do intestino delgado do tico-tico.

6 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, podemos concluir que os diferentes segmentos do tubo digestório da coruja-orelhuda e do carcará apresentam a mesma estrutura geral de outras aves, com algumas diferenças, principalmente ao epitélio menos estratificado do esôfago da coruja-orelhuda, que podem ser inerentes às espécies ou decorrentes do hábito alimentar.

Os resultados referentes aos estudos histoquímicos mostraram-se similares em ambas as espécies estudadas, o que sugere que independente do hábito alimentar, a presença dos mucopolissacarídeos nas regiões do trato gastrointestinal facilitam o passagem do alimento ingerido, como no esôfago, ou protege as células de revestimento da ação de ambientes ácidos, como no proventrículo.

No estudo imunohistoquímico, podemos concluir que a localização de células endócrinas no trato gastrointestinal da coruja-orelhuda e do carcará foi essencialmente semelhante aos de outras aves estudadas, com maior presença nas glândulas submucosas do proventrículo. Algumas divergências observadas podem ser explicadas pela diferença de hábitos alimentares.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABAD, M.E.; PEEZE BINKHORST, F.M.; ELBAL, M.T.; ROMBOUT, J.H.W.M. A comparative immunocytochemical study of the gastro-enteropancreatic (GEP) endocrine system in a stomachless and a stomach containing teleost. **General and Comparative Endocrinology**, v. 66, p. 123-136, 1987.
- AGUIAR, K.M.O.; NAIFF, R.H. Aspectos reprodutivos e dieta alimentar dos ninhegos de *Rhinoptynx clamator* (Aves: Strigidae) no campus Marco Zero da Universidade Federal do Amapá, Macapá-AP. **Acta Amazonica**, 39(1) p. 221 – 224, 2009.
- 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 babyrousa* (Suidae). **Anatomia, Histologia, Embryologia: Journal of Veterinary Medicine Series C**, v. 29, n. 3, p. 173-178, 2000.
- AKSOY A, CINAR K. Distribution and ontogeny of gastrin- and serotonin-immunoreactive cells in the proventriculus of developing chick, *Gallus gallus domestica*. **J Vet Sci.** 10(1):9-13. 2009.
- ALBERTS B., et al. **Biologia Molecular da Célula**. 5 ed.: Artmed, 1396pp, 2010.
- ALI, M.A.; NYBERG, F.; CHANDRANATH, S.I.; DHANASEKARAN, S.; TARIQ, S.; PETROIANU, G.; HASAN, M.Y.; ADEGHATE, E.A.; ADEM, A. Distribution of neuroendocrine cells in the small and large intestines of the one-humped camel (*Camelus dromedarius*). **Neuropeptides**. 41(5) p.293-299, 2007.
- ALTMANN H.W. Die parafollikuläre Zelle der Schilddrüse und ihre Beziehungen zu der Gelben Zelle des Darmes. **Beitr Path Anat.** 104 p. 419-428, 1940.
- AMADON, D.; BULL, J. 1988. Hawks and owls of the world: a distributional and taxonomic list. Proceedings of the Western Foundation of Vertebrate Zoology, 3(4), 295-357 in HEIDENREICH, M.. **Birds of Prey Medicine and Management**. Blackwell Science. 284 pp., 1997.
- ANDREW, A., KRAMER, B., RAWDON, B.B. The origin of gut and pancreatic neuroendocrine (APUD) cells - the last word? **J Pathol.** 186 p. 117-118, 1998.
- ARENA, P.C.; RICHARDSON, K.C.; YAMADA, J. An immunohistochemical study of endocrine cells of the alimentary tract of the King's skink (*Efernina kingii*). **Journal of Anatomy**, v. 170, p. 73-85, 1990.
- ASHIHARA, N.; TADDEI, V.A.; HONDO, E.; KITAMURA, N.; PAI, V.D.; CAMPOS, J.; CHOLIQ, N.; YAMADA, J. An immunohistochemical study of gut endocrine cells in

nectarivorous and frugi-nectarivorous phyllostomid bat (Chiroptera: *Anoura caudifer* and *Carollia perspicillata*). **Japanese Journal of Zoology**, v. 4, n. 2, p. 125-133, 1999.

ATALAR, O.; BAYRAKDAR, A. Existence of Serotonin and Neuropeptides – Immunoreactive Endocrine Cells in the Stomach (Proventriculus and Gizzard) of Long-Legged Buzzard (*Buteo rufinus*): An Immunohistochemical Study. **Journal of Animal and Veterinary Advances** 10 (23) p. 3140-3148, 2011.

AVISE, J.C.; NELSON, W.S.; SIBLEY, C. DNA sequence support for a close phylogenetic relationship between some storks and New World Vultures. **Proc Natl Acad Sci USA** 91 (5), p. 5173-5177, 1994.

BACHA, W.J.; BACHA, L.M. **Atlas colorido de histologia veterinária**. 2ª ed., Roca, São Paulo, Brasil, 457pp., 2003.

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*). **Anatomia, Histologia, Embryologia**. 27(6) p.407-411, 1998.

BANKS, R.C.; McDIARMID, R.W.; GARDNER, A.L. Checklist of Vertebrates of the United States, the U.S. Territories, and Canada. United States **Department of the Interior Fish and Wildlife Service**. Washington, D.C. USA, 79 p., 1987.

BANKS, W.J. **Histologia veterinária aplicada**. São Paulo: Manole. 629 p. 1991.

BEZUIDENHOUT, A.J. The topography of the thoraco-abdominal viscera in the ostrich (*Struthio camelus*). **Onderstepoort Journal of Veterinarian Research**, 53 (2): p. 111-117, 1986.

BEZUIDENHOUT, A. J.; VAN ASWEGWN, G.A. Light microscopic and immunocytochemical study of the gastrointestinal tract of the ostrich (*Struthio camelus* L.). **Onderstepoort Journal of Veterinarian Research**, 57: p. 37-48, 1990.

BISHOP, A.E.; POLAK, J.M. Cytochemical techniques for studying the diffuse neuroendocrine system. **Methods Enzymol**. 168 p. 791-808, 1989.

BISHOP, A.E.; POWER, R.F.; POLAK, J.M. Markers for neuroendocrine differentiation. **Pathol Res Pract**. 183 p. 119-128, 1988.

BOSI, G.; DI GIANCAMILLO, A.; ARRIGHI, S.; DOMENEGHINI, C. An immunohistochemical study on the neuroendocrine system in the alimentary canal of the brown trout, *Salmo trutta*, L., 1758. **Comparative Endocrinology**, v. 138, n. 2, p. 166-181, 2004.

- BRYANT, M.G.; BLOOM, S.R. Distribution of the gut hormones in the primate intestinal tract. **Gut**, 20(8) p.653-659, 1979.
- BRAZEAU, P.; VALE, W.; BURGURS, R.; LING, N.; BUTCHER, M.; RIVIER, J.; GUILLERMIN, R. Hypothalamic polypeptide that inhibits the secretion of immunoreactive pituitary growth hormone. **Science**, v. 179, p. 77-79, 1973.
- BURTON, J.A. **Ows of the world: their evolution, structure and ecology**. Milano, Librex. 216 pp, 1973.
- CAIRNS, JR. J.; MCCORMICK, P. V.; NIEDERLEHNER, B. R. A proposed framework for developing indicators of ecosystem health. **Hydrobiologia**, v. 263, p. 1-144, 1993.
- CAMACHO I.; HONORAT R.S.; FERNANDES B.C.; BOECHAT R.F.; FILHO C.S.; KANEGAE M.F. Aves de rapina diurnas forrageando tanajuras (*Atta* sp.) em revoada em uma paisagem fragmentada de floresta atlântica, sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Ornitologia**, 20(1) p. 19-21, 2012.
- CAMIRUAGA, M.; SIMONETTI, C. Avestruces, sistema digestivo y su alimentación. **Revista Agronomía y Forestal UC**, 12: p. 10-14, 2003.
- CANNON, W.B. The emergency function of the adrenal medulla in pain and the major emotions. **Am J Physiol**. 33 p. 356-372, 1914
- CAPELLA, C; POLAK, J.M.; TIMSON, C.M.; FRIGERIO, B.; SOLCIA, E. Gastric carcinoids of argyrophil ECL cells. **Ultrastruct Pathol**. 1 p. 411-418, 1980.
- CARDOSO, T.R.D. Identificação e Localização das Células Endócrinas dos Estômagos da Saíra – de – sete – cores (tangara seledon, P.L.S. MULLER, 1776) (Passeriformes: Thraupinae) através de Estudo Imunocitoquímico. **Tese de Doutorado**. UFRJ. Rio de Janeiro, 1996.
- CARDOSO, T. R. D.; PINHEIRO, N. L.; SALES, A. Imunocitoquímica para detecção de células endócrinas produtoras de gastrina e serotonina na mucosa gástrica do tatu (Mammalia: Edentata). **Revista Universidade Rural**, Serie Ciências da Vida, v. 16, p. 85-89, 1994.
- CBRO – Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos. **Listas das aves do Brasil**. 10 ed., versão 25/01/2011, 2011. Disponível em <http://www.cbro.org.br>. Acesso em 21/03/2011.
- CIACCIO, C. Ricerche istologiche e citologiche sul timo degli Uccelli. **Anat Anz**. 29 p. 597-600, 1906a.
- CIACCIO, C. Sur une nouvelle espèce cellulaire dans les glandes de Lieberkühn. **CR Soc Biol Paris**. 60 p.76-77, 1906b.
- DAY, I.N.M.; THOMPSON, R.J. UCHL1 (PGP 9.5): Neuronal biomarker and ubiquitin system

- protein. **Prog Neurobiol.** 90(3) p. 327-62, 2010.
- DAY, R.; SALZET, M. The neuroendocrine phenotype, cellular plasticity, and the search for genetic switches: redefining the diffuse neuroendocrine system. **Neuro Endocrinol Lett.** 23 p.447-451, 2002.
- DE QUADROS, A.H. **Filogenia de Falconiformes baseada em comportamento de autolimpeza.** Tese de Doutorado. Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo. 206 p, 2008.
- DELLMANN, H. D. **Histologia veterinária.** 2ª ed., Acribia,Zaragoza, Espanha, 398pp, 1993.
- D'LESTE, L.; BUFFA, R.; PELAGI, A.G.; SICCARDI, T.; RENDA, M. Immunohistochemical localization of chromogranin A and B in the endocrine cells of the alimentary tract of the green frog, *Rana esculenta*. **Cell Tissue Research**, v. 277, p. 341-349, 1994.
- D'LESTE L; BUFFA R; RENDA T. Phylogenetic aspects of the occurrence and distribution of secretogranin II immunoreactivity in lower vertebrate gut. Arch Histol Cytol. 57(3) p.235-52, 1994.
- DEZFULI, B. S.; GIARI, L.; ARRIGHI, S.; DOMENEGHINI, C.; BOSI, G. Influence of enteric helminths on the distribution of intestinal endocrine cells belonging to the diffuse endocrine system in brown trout, *Salmo trutta* L. **Journal of Fish Diseases**, v. 26, p. 155-166, 2003.
- DICKINSON, E.C. **The Howard and Moore Complete Checklist of the birds of the world.** 3rd edition. Princeton University Press. Princeton, New Jersey, USA, 1039 p., 2003.
- DOCKRAY, G.J. Evolutionary relationships of the gut hormones. **Fed Proc.** 38(9) p.2295-2301, 1979.
- EERDUNCHAOLU, D.V.; TAKEHANA, K.; KOBAYASHI, A.; YAMADA, J.; UEDA, H.; BAIYIN; CAO, G.F.; ABE, M. Immunohistochemical study of the distribution of endocrine cells in the gastrointestinal tract of the camel (*Camelus bactrianus*). **Eur J Morphol.** 39(1) p.57-63, 2001.
- ELLIOTT, T.R. The innervation of the bladder and urethra. **J Physiol.** 35 p. 367-445, 1907.
- ELLIS, D.H. The Peregrine Falcon in Arizona: habitat utilization and management recommendations. **Inst. Raptor Stud. Res. Rep.** n 1, 1982.
- EL-SALHY M., WINDER, E., LUNDQVIST, M. Comparative studies of serotonin-like immunoreactive cells in the digestive tract of vertebrates. **Biomedical Research**, v. 6, p. 371-375, 1985.
- ERÖS, G. über die argentaffinen Zellen der Schleimhaut des Magen-Darmtraktes. **Frankf Z Pathol.** 36 p. 402, 1928.

- ERÖS, G. über die Bedeutung der argentaffinen Zellen. **Frankf Z Pathol.** 40 p.155, 1931.
- ERÖS, G. Eine neue Darstellungsmethode der sogenannten gelben argentaffinen Zellen des Magen-Darmtraktes. **Zbl Path.** 54 p. 385, 1932.
- EYNARD, A.R.; VALENTICH M.A.; ROVASIO R.A. *Histologia e Embriologia Humanas: Bases elulares e moleculares.* 4 ed.:Artmed, 695 pp, 2011.
- FEDUCCIA, A., L. D. MARTIN, AND S. TARSITANO. *Archaeopteryx 2007: Quo vadis?* **Auk** 124:373–380, 2007
- FERGUSSON-LEES, J.; CHRISTIE, D. A. **Raptors of the world.** Houghton Mifflin Company. 992 pp, 2001.
- FERREIRA, A.B.H. **Miniaurélio:** o dicionário da língua portuguesa. 7 ed. Curitiba: Positivo. 896p., 2008.
- FEYRTER, F. **über diffuse endocrine epitheliale Organe.** Leipzig, Barth, 1938.
- FEYRTER, F. Karzinoid und Karzinom. **Ergebn Allg Pathol Anat.** 29 p. 305-489, 1934.
- FIRMIANO, E. M. S. **Aspectos histológicos e imuno-histoquímicos do tubo gastrintestinal do lagarto *Tropidurus torquatus* Wied 1820, (Squamata: Tropiduridae).** 2010. 53f. Monografia (Graduação - Bacharel em Ciências Biológicas) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2010.
- FONTAINE, J.L.E.; DOUARIN N.M. Analysis of endoderm formation in the avian blastoderm by the use of quail-chick chimaeras. The problem of the neurectodermal origin of the cells of the APUD series. **J Embryol Exp Morphol.** 41 p. 209-222, 1977.
- FUJITA, T.; KOBAYASHI, S. Experimentally induced granules release in the enteroendocrine cells of dog pyloric antrum. **Zeitschrift für Zellforschung und mikroskopische Anatomie,** v. 116, p.52-60, 1971.
- FUJITA, T.; KOBAYASHI, S. The cells and hormones of the GEP-endocrine system. The current studies. In: FUJITA, T. (Ed.). **Gastro-entero-pancreatic system. A cell-biological approach.** Stuttgart. p.1-16, 1974.
- GARTNER, L.P.; HIATT, J.L. **Histologia Essencial.** Ed. Elsevier, 340 pp, 2011.
- GARTNER, L.P.; HIATT, J.L. **Tratado de Histologia.** 2 ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 311-336, 2003.
- GEORGE L.L.; ALVES, C.E.R.; CASTRO, R.R.L. **Histologia Comparada.** 2 ed.: Roca, 286 pp, 1998.

- GERSHON, M.D. Review article: serotonin receptors and transporters -- roles in normal and abnormal gastrointestinal motility. **Aliment Pharmacol Ther.** 7 p.3-14, 2004.
- GOULD V.E.; LINNOILA R.I.; MEMOLI V.A.; WARREN W.H. Neuroendocrine components of the bronchopulmonary tract: hyperplasias, dysplasias, and neoplasms. **Lab Invest.** 49 p.519-537, 1983.
- GRIFFITHS, C. Monophyly of the Falconiformes based on sirenuela morphology. **The Auk.** 111 (4) p. 787-805, 1994.
- 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 Veterinaria Hungarica** 51(4):439-49, 2003.
- HAKANSON, R.; SUNDLER F. APUD cells in rat oxyntic mucosa. **Gastroenterology.** 77 p. 800-803, 1979.
- HAM, A.W. **Histologia.** 6 ed.: Guanabara Koogan, 990 pp, 1972.
- HANSEN, M.B.; WITTE, A.B. The role of serotonin in intestinal luminal sensing and secretion. **Acta Physiol (Oxf).** 193(4) p.311-323, 2008.
- HASHIMOTO, N.; YAMADA, J.; RICHARDSON, K.C.; KITAMURA, N.; YAMASHITA, T. An immunohistochemical study on the gastrointestinal endocrine cells of three honeyeaters: singing honeyeater (*Meliphaga virescens*), spiny-cheeked honeyeater (*Acanthogenys rufogularis*) and brown honeyeater (*Lichmera indistincta*). **Eur J Histochem (European journal of histochemistry : EJH).** 37(3) p. 233-40, 1993.
- HE, M.; WANG, K.; ZHANG, Y. Immunocytochemical Identification and Localization of Diffuse Neuroendocrine System (DNES) Cells in Gastrointestinal Tract of Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*). **Agricultural Sciences in China.** 8(2), p. 238–243, February 2009.
- HEIDENREICH, M. **Birds of Prey Medicine and Management.** Blackwell Science. 284 pp, 1997.
- HODGES, R. D. **The histology of the fowl.** 648pp. 1974.
- HÖFLING, E.; CAMARGO H.F.A. **Aves no Campus.** 3° ed. São Paulo. Ed. da Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências. 168pp, 2002.
- HSU, S.M.; RAINE, E.; FANGER, H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. **J. Histochem. Cytochem.**, v.29, p.577-580, 1981.
- HUANG, X.; WU, X. Immunohistochemical study on gastrointestinal endocrine cells of four reptiles. **World Journal Gastroenterology**, v. 11, n. 35, p. 5498-5505, 2005.

- IJI, P.A.; VAN DER WALT, J.G.; BRAND, T.S.; BOOMKER, E.A.; BOOYSE, D. Development of the digestive tract in the ostrich (*Struthio camelus*). **Archiv fur Tierernahrung**, 57 (3): p. 217-228, 2003.
- ILLANES, J.; FERTILIO, B.; CHAMBLAS, M.; LEYTON, V.; VERDUGO, F. Descripción histológica de los diferentes segmentos del aparato digestivo de avestruz (*Struthio camelus* var. *domesticus*). **International Journal of Morphology**, 24: p. 205-214, 2006.
- JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 11 ed. Guanabara Koogan, 524pp, 2008.
- KAHLAU, G. Versuch zur Beeinflussung der gelben Zellen des Darmes durch Hormone. **Z Exper Med**. 80 p.190, 1931.
- KIERSZENBAUM, A.L. **Histologia e Biologia Celular: Uma Introdução à Patologia**. 2 ed.: Elsevier, 677 pp, 2008.
- KITAMURA, N.; YAMADA, J.; CALINGASAN, Y.N.; YAMASHITA, T. immunohistochemical study of the endocrine cells in the gastro-intestinal tract of the horse. **Equine Veterinary Journal**, v. 16, p. 103-107, 1984.
- KÖNIG, C.F.W.; BECKING J.H. **Owls: a guide to the owls of the world**. New Haven, Connecticut: Yale University Press, 1999.
- KÖNIG, C.F. et al. **Owls of the World**. Christopher Helm, Londres. 2a edição, p. 447-448, 2008.
- KONG, H.S.; LEE, J.H.; PARK, K.D.; KU, S.K.; LEE, H.S. Immunohistochemical study of the endocrine cells in the pancreas of the carp, *Cyprinus carpio* (Cyprinidae). **Journal of Veterinary Science**, v. 3, p. 303-314, 2002.
- KU, S.K.; LEE J.H., PARK, K.D. An immunohistochemical study on the endocrine cells in the alimentary tract of the red-eared slider (*Trachemis scripta elegans*). **Anat Histol Embryol**, 30, p. 33-39, 2001.
- KU, S.K.; LEE, H.S.; KOH, J.; LEE, J.H. An immunohistochemical study on the neuropeptide-producing endocrine cells in the alimentary tract of wrinkled frog, *Rana rugosa* (Ranidae). **General and Comparative Endocrinology**. 131 p. 1-8, 2003.
- KU, S.K.; LEE, J.H.; LEE, H.S. Immunohistochemical study on the endocrine cells in gut of the stomachless Teleost, *Zacco platypus* (Cyprinidae). **Anatomia, Histologia, Embryologia: Journal of Veterinary Medicine Series C**, v.33, n. 4, p.212-9, 2004a.

- KU, S.K.; LEE, H.S.; LEE, J.H. Immunohistochemical study of gastrointestinal Endocrine Cells in the BALB/c mouse. **Anatomia, Histologia, Embryologia: Journal of Veterinary Medicine Series C**, v. 33, p. 42-48, 2004b.
- KU, S.K.; LEE, H.S.; LEE, J.H. An immunohistochemical study of the gastrointestinal endocrine cells in the ddY mice. **J. Vet. Sci.** 5(2), p. 87–95, 2004c.
- KU, S.K.; LEE, H.S.; LEE, J.H. The regional distribution and relative frequency of gastrointestinal endocrine cells in the nude mice, Balb/c-nu/nu: an immunohistochemical study. **Anat Histol Embryol.** 35(2) p.104-110, 2006
- LAM, P. K. S.; GRAY, J. S. The use of biomarkers in environmental monitoring programmes. **Marine Pollution Bulletin**, v. 46, p. 182-186, 2003.
- LANGLEY K. The neuroendocrine concept today. **Ann NY Acad Sci.** 733 p. 1-17, 1994.
- LAZAREFF, A.E. **The comparative histology of the esophagus and stomach of birds of diferentes food habits.** University of British Columbia. 78p. 1949
- LEE, H.; KU, S. An immunohistochemical study of endocrine cells in the alimentary tract of the grass lizard, *Takydromus wolteri* Fischer (Laceridae). **Acta histochemica** 106 p. 171–178, 2004.
- LEBOFFE, M.J. **Atlas Fotográfico de Histologia.** 1ed.: Guanabara Koogan, 220pp, 2005.
- LIN, S. G.; HÚANG, Z. J.; WANG, S. K. Localization and identification of endocrine cells in the Gastro-Entero-Pancreatic system of *Trionyx sinensis*. **Shuichan Xuebao**, v. 25, p. 328-333, 2001.
- LIU, Y.T.; TIAN, X.H.; YU, X.W.; GAO, Z.X. Observations on Histology of Bustard (*Otis tarda limaells*) Digestive System. **Chinese Journal of Zoology.** 05 p. 37-41, 2002.
- LOEWI, O. über humorale Übertragbarkeit der Herznervenwirkung. **Pflügers Arch ges Physiol.** 189 p. 239-242, 1921.
- LU, J.; WANG, L.; WANG, W. Observations on the Histology of Digestive System for Two-month-old *Pavo muticus*. **Journal of Northeast Forestry University.** 02 p. 62-64, 2004.
- MAAKE C.; HANKE W.; REINECKE M. An immunohistochemical and morphometric analysis of insulin, insulin-like growth factor I, glucagon, somatostatin, and PP in the development of the gastro-entero-pancreatic system of *Xenopus laevis*. **Gen Comp Endocrinol.** 110(2) p. 182-195, 1998.
- MA, G.T. Morphological and Histological Observation on the Esophagus and Stomach of *Tetraogallus himalayensis*. **Chinese Journal of Zoology.** 05 p. 124-127, 2009.

- MACHADO-SANTOS, C.; NASCIMENTO, A.A.; PERACCHI, A.L.; MIKALOUSKAS, J.S.; ROCHA, P.A.; SALES, A. Distributions of the endocrine cells in the gastrointestinal tract of nectarivorous and sanguivorous bats: A comparative immunocytochemical study. **Tissue and Cell**, v. 41, p. 222-229, 2009.
- MARINHO, M.; MEIRELES, M.V.; SOUZA, A.V.G. Determinação da microflora do trato gastrintestinal de aves (*Struthio camelus*) criados na região noroeste do Estado de São Paulo, submetidas à necropsia. **Arquivos do Instituto Biológico**. 71 p. 267-271, 2004.
- MARTINEZ, M.M.; ISACCH, J.P.; DONATTI, F. Aspectos de la distribución y biología reproductiva de *Asio clamator* em la provincia de Buenos Aires, Argentina. **Ornitologia Neotropical**. 7 p. 157-161, 1996.
- MASSON, P. Appendicite neurogene et carcinoides. **Ann Anat Path**. 1 p. 20, 1928.
- MASSON, P. La glande endocrine de l'intestin chez l'homme. **CR Acad Sci**. 158 p. 59-61, 1914.
- MATTER, S.V., et al. **Ornitologia e Conservação: Ciência Aplicada, Técnicas de Pesquisa e Levantamento**. 1ed.:Technical Books, 516 pp, 2010.
- MAVC, D.M. 5-Hidroxitriptamina. **Faculdade de Medicina da Universidade do Porto - Instituto de Farmacologia e Terapêutica**, 2003.
- MENDES R.M.M.; NASCIMENTO A.A.; SANTOS C.M.; CARDOSO 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 histochemica**. 111 p. 83-92, 2009.
- MENQ, W. **Portal Aves de Rapina Brasil - Aves de rapina: Morfologia e Adaptações para caça**. Disponível em: < <http://www.avesderapinabrasil.com/> > Acesso em: 11 de Janeiro de 2011.
- MICHALANY, J. **Técnica Histológica em Anatomia Patológica: com instruções para o cirurgião, enfermeira e citotécnico**. 3 ed.: Michalany, p.24-100, 1998.
- MIN, H.E.; KAI-YU, W.; YU, Z. Immunocytochemical Identification and Localization of Diffuse Neuroendocrine System (DNES) Cells in Gastrointestinal Tract of Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*). **Agricultural Sciences in China**, v. 8, n.2, p. 238-243, 2009.
- MODLIN I. M.; CHAMPANERIA M. C.; BORNSCHEIN J.; KIDD M. Evolution of the Diffuse Neuroendocrine System - Clear Cells and Cloudy Origins. **Neuroendocrinology**. 84 p. 69-82, 2006.
- MODLIN, I.M.; KIDD, M.; LATICH, I.; ZIKUSOKA, M.N.; SHAPIRO, M.D. Current status of gastrointestinal carcinoids. **Gastroenterology**. 128 p. 1717-1751, 2005.

- MONTEIRO C.M.R.; SOUZA N.T.M.; CARVALHO R.G.; SOUZA W.M. Análise histológica do trato gastrintestinal de aves jovens (*Struthio camelus* Linnaeus, 1758). **Biotemas**, 22 (3) p. 149-155, 2009.
- MORESCALCHI A.M.; GACCIOLI M.; FARALDI G.; TAGLIAFIERRO G. The gastro-enteric-pancreatic neuroendocrine system in two reptilian species: *Chalcides chalcides* and *Zoonosaurus madascariensis* (Sauridae). **Eur J Histochem**. 41(1) p. 29-40, 1997.
- MOTTA-JUNIOR, J.C.; BUENO, A.A.; BRAGA, A.C.R. **Corujas Brasileiras**. Departamento de Ecologia, Instituto de Biociências da USP. 2005. Disponível em: <<http://www.ib.usp.br/labecoaves/PDFs/pdf30CorujasIBC.pdf>> Acesso em Junho de 2010.
- NASCIMENTO A.A.; SALES A.; CARDOSO T.R.; PINHEIRO N.L.; MENDES R.M. Immunocytochemical study of the distribution of endocrine cells in the pancreas of the Brazilian sparrow species *Zonotrichia Capensis Subtorquata* (Swaison, 1837). **Braz J Biol**. 67(4):735-40, 2007.
- NICOLAS, A. Recherches sur l'épithélium de l'intestine grele. **Int Mschr Anat Physiol**. 8 p. 1-8, 1891.
- NIU H.X.; BU Y.Z.; LU Q.W.; GAO Q.R. Morphological observation of digestive system of *Falco Tinnunculus*. **Journal of Henan Normal University(Natural Science)**. 01 p. 81-83, 2004.
- NOVAES, F.C.; LIMA, M.F.C. **Aves da Grande Belém**. 415pp, 1998.
- ODELL, W.D. Paraendocrine syndromes of cancer. **Adv Intern Med**. 34 p. 325-351, 1989.
- OGUNKOYA, Y.O; COOK, R.D. Histomorphology of the Proventriculus of three Species of Australian Passerines: *Lichmera indistincta*, *Zosterops lateralis* and *Poephila guttata*. **Anatomia, Histologia, Embryologia**. 38 (4), p. 246–253. 2009
- OVALLE, W.K.; NAHIRNEY, P.C. **Netter: Bases da Histologia**. Ed. Elsevier, 493pp, 2008.
- OWL PAGES - **Information, Pictures, Sounds, from The Owl Pages**. Disponível em <<http://www.owlpages.com>> Acesso em Fevereiro de 2010.
- PAGÉS, A. **Essai sur le système des cellules claires de Feyrter**. Université de Montpellier, 1955.
- 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 Journal of Gastroenterology**, v. 6, p. 96-101, 2000a.
- PAN, Q. S.; FANG, Z. P.; HUANG, F. J. Identification, localization and morphology of cells in gastroenteropancreatic system of stomach- containing teleosts. **World Journal**

Gastroenterology, v. 6, p. 842-847, 2000b.

- PEARSE, A.G. Common cytochemical and ultrastructural characteristics of cells producing polypeptide hormones (the APUD series) and their relevance to thyroid and ultimobranchial C cells and calcitonin. **Proc R Soc Lond**. 170 p. 71-80, 1968.
- PEARSE, A.G. The cytochemistry and ultrastructure of polypeptide hormone-producing cells of the APUD series and the embryologic, physiologic and pathologic implications of the concept. **J Histochem Cytochem**. 17 p. 303-313, 1969.
- PEARSE, AG. The diffuse endocrine (paracrine) system: Feyrter's concept and its modern history. **Verh Dtsch Ges Pathol**. 61 p. 2-6, 1977.
- PEARSE, A.G.; POLAK, J.M. Neural crest origin of the endocrine polypeptide (APUD) cells of the gastrointestinal tract and pancreas. **Gut**. 12 p. 783-788, 1971.
- PEARSE, A.G.; TAKOR, T. Embryology of the diffuse neuroendocrine system and its relationship to the common peptides. **Fed Proc**. 38 p. 2288-2294, 1979.
- PEREIRA J.F.M. **Aves e Pássaros Comuns do Rio de Janeiro**. 1 ed.: Technical Books, 164pp, 2008.
- PEREIRA, G.A. et al. Ocorrências e hábitos alimentares do falcão peregrino *Falco peregrinus* no Estado de Pernambuco, Brasil. **Revista Brasileira de Ornitologia** 14 (4) p. 435-439, 2006.
- PEREZ-TOMAS R.; BALLESTA J.; PASTOR L.M.; MADRID J.F.; POLAK J.M. Comparative immunohistochemical study of the gastroenteropancreatic endocrine system of three reptiles. **Gen Comp Endocrinol**. 76(2) p.171-191, 1989.
- PINHEIRO, N.L; CARDOSO, T.R.D.; SALES, A. Imunohistoquímica para detecção de células endócrinas produtoras de gastrina e serotonina na mucosa gástrica de tatus (*Dasyus novemcinctus* e *Euphractus sexcinctus*) (Mammalia-Edentata). **Revista Arquivos UFRRJ**, Rio de Janeiro, v.16n. 1-2, p. 85-89, 1989.
- PIRONE, A.; DING, B.A.; LENZI, C.; BAGLINI, A.; GIANNESI, E.; ROMBOLI, I. The Small Intestine of the Adult New Hampshire Chicken: an Immunohistochemical Study. **Anat Histol Embryol**. Volume?????, p.?????, 2010.
- POLAK, J.M. et al. Cellular localization of vasoactive intestinal peptide in the mammalian and avian gastrointestinal tract. **Gut** 15 p. 720-724, 1974.
- POTTER, M. A.; LENTLE, R. G.; MINSON, C. J.; BIRTLES, M. J.; THOMAS, D.; HENDRIKS, W. H. Gastrointestinal tract of the brown kiwi (*Apteryx mantelli*) Quivi-marrom-da-Ilha-do-Norte. **Journal of Zoology**. 270(3) p. 429-436, 2006.
- PURVES, W.K. et al. **Vida: a ciencia da biologia**. 6 ed. Artmed, Porto Alegre, p. 435-436, 2005.

- RAWDON, B.B. Gastrointestinal hormones in birds: morphological, chemical, and developmental aspects. **J Exp Zool.** 232(3) p. 659-670, 1984.
- RAWDON, B.B.; ANDREW, A. An immunocytochemical survey of endocrine cells in the gastrointestinal tract of chicks at hatching. **Cell Tissue Research**, v. 220, p. 279-292, 1981.
- RAWDON B.B.; ANDREW A. Gut endocrine cells in birds: an overview, with particular reference to the chemistry of gut peptides and the distribution, ontogeny, embryonic origin and differentiation of the endocrine cells. **Prog Histochem Cytochem.** 34(1) p. 3-82, 1999.
- REHFELD, J.F.; FRIIS-HANSEN, L.; GOETZE, J.P.; HANSEN, T.V. The biology of cholecystokinin and gastrin peptides. **Curr Top Med Chem.** 7(12) p. 1154-1165, 2007.
- REICHLIN, S. Neuroendocrine-immune interactions. **N Engl J Med.** 329 p. 1246-1253, 1993.
- REIFEL, C. W.; LINDEN, R. D. Endocrine cells in the gastrointestinal tracts of 3 teleostean species. **Anatomischer Anzeiger**, v. 154, p. 413-418, 1983.
- RIBEIRO, T. P. **Estudo Imuno-histoquímico das células neuroendócrinas do tubo gastrintestinal de *Pimelodus maculatus* (Siluriformes, Pimelodidae).** 2009. 48f. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2009.
- RODRIGUES, S.S.; FONSECA, C.C.; NEVES, M.T.D. Células endócrinas do sistema gastroenteropancreático: Conceitos, distribuição, secreções, ação e controle. **Arq. ciên. vet. zool.** UNIPAR, 8(2) p. 171-180, 2005.
- ROSS, M.H.; PAWLINA W.; BARNASH T.A. **Atlas de Histologia Descritiva.** Ed. Artmed, 368 pp, 2012.
- 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.** 103(2) p. 237-46, 1989.
- SAMUELSON, D. A. **Tratado de histologia veterinária.** Elsevier, Rio de Janeiro, Brasil, 527pp., 2007.
- SANTOS, C. M. **Estudo imuno-histoquímico das células endócrinas do tubo gastrintestinal de morcegos (Mammalia, Chiroptera).** 48 f. Rio de Janeiro, Tese de Mestrado. Rio de Janeiro. (Pós-Graduação em Biologia Animal), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2007.
- SANTOS, C. M.; NASCIMENTO, A. A.; PERACCHI, A. L.; DIAS, D.; RIBEIRO, T. P.; SALES, A. A comparative immunocytochemical study of endocrine cells in the digestive

- tract of two frugivorous bats: *Artibeus cinerius* and *Sturnira lilium*. **Acta Histochemica**, v. 110, n. 2, p. 134-142, 2008 (b).
- SANTOS, C. M.; NASCIMENTO, A. A.; PERACCHI, A. L.; SALES, A.; MIKALOUSKAS, J. S.; GOUVEIA, S. F. Immunocytochemical study of gastrointestinal endocrine cells of insectivorous bats. **Brazilian Journal of Biology**, v. 68, n. 3, p. 663-669, 2008(a).
- SAZIMA I. The jack-of-all-trades raptor: versatile foraging and wide trophic role of the Southern Caracara (*Caracara plancus*) in Brazil, with comments on feeding habits of the Caracarini. **Revista Brasileira de Ornitologia** 15(4) p. 592-597, dezembro de 2007.
- SEIXAS FILHO, J.T.; FONSECA, C.C.; OLIVEIRA, M.G.A.; DONZELE, J.L.; MENIN, E. Determinação do sistema endócrino difuso nos intestinos de três teleostei (Pisces) de água doce com hábitos alimentares diferentes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 5, p. 1403-1408, 2001.
- SICK, H. **Ornitologia Brasileira**. Ed. Nova Fronteira, 912pp, 1997.
- SIGRIST, T. **Aves do Brasil: uma visão artística**. Ed. Fوسفetil, 672pp, 2006.
- SILVA E SILVA, R. Records and geographical distribution of the Peregrine Falcon *Falco peregrinus* Tunstall, 1771 (Aves, Falconidae) in Brazil. **Pap. Avuls. Zool.** São Paulo 39 p. 249-270, 1996.
- SCHIEFFERDECKER, P. Iber die neuronen und die innere sekretion. **Sitzgsber Niedderrhein Ges Naturheilkd.** p. 46-54, 1905.
- SCHMIDT, J.E. Beiträge zur normalen und pathologischen Histologie einiger Zellarten der Schleimhaut des menschlichen Darm-Kanals. **Arch Mikrosk Anat.** 66 p. 12-40, 1905.
- SIBLEY, C.G.; AHLQUIST, J.E. **Phylogeny and Classification of Birds**. Yale University Press, New Haven, London. 1080 pp., 1990.
- SOARES, J.L. **Dicionário etimológico e circunstanciado de biologia**. 1 ed. 3 imp. São Paulo: Scipione; 534 p., 2004.
- SOLCIA, E.; CAPELLA, C.; VASSALLO, G.; BUFFA, R. Endocrine cells of the gastric mucosa. **International Review of Cytology**, v. 42, p. 223-286, 1975.
- SOUZA D. **Todas as Aves do Brasil: Guia de campo para Identificação**. 2 ed.: Dall. 350pp, 2004.
- SOUZA E.N.A.; MARQUES J.C.; BARBOSA J.S.; ALBUQUERQUE H.N. Levantamento das Aves de Rapina da Fazenda Maracajá em São João do Cariri – PB. **RBIC – Revista Brasileira de Informações Científicas**. 1(1), 2010.

- SOWER, S.A.; SUZUKI K.; REED K.L. Perspective: Research Activity of Enteropancreatic and Brain/Central Nervous System Hormones Across Invertebrates and Vertebrates. **Amer. Zool.**, 40 p.165-178, 2000. Disponível em: <<http://icb.oxfordjournals.org>> Acesso em: 10/12/2011.
- SUGANUMA, T.; KATSUYAMA T.; TSUKAHARA, M.; TATEMATSU, M.; SAKAKURA, Y.; MURATA F. Comparative histochemical study of alimentary tracts with special reference to the mucous neck cells of the stomach. **American Journal of Anatomy**. 161 (2) , p. 219–238, 1981.
- SUNDER-PLASSMANN, P. über neuro-hormonale Zellen des Vagusssystem in der Schilddrüse. **Dtsch Z Chir.** 252 p. 210-223, 1939.
- SUZUKI, S., et al. Cerebral neurons express interleukin-6 after transient forebrain ischemia in gerbils. **Neurosci Lett.** 262 p. 117-120, 1999.
- SWEENEY, S.J., REDIG, P.T., TORDOFF, H.B. Morbidity, survival and productivity of rehabilitated Peregrine Falcons in the upper Midwestern U.S. **J. Raptor Res.** 31 p. 347-352, 1997.
- SZIJJ I., et al. Medullary cancer of the thyroid gland associated with hypercorticism. **Cancer.** 24 p.167-173, 1969.
- TAGLIAFIERRO, G.L.; FARRINI, G.C.; ROSSI M.V. Distribution of somatostatin and glucagon immunoreactive cells in the gastric mucoza of some cartilaginous fishes. **General and Comparative Endocrinology**, v. 75, p. 1-19, 1989.
- TARAKÇI, B. G.; KÖPRÜCÜ, S. S. Regulatory Peptides in Gastroenteropancreatic Endocrine Cells of the Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). **E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences**, v. 19(1/2), p. 157-162, 1792.
- TARAKÇI, B.T. Immunohistochemical Identification of Peptide Hormones in the Endocrine Cells of the Gastrointestinal Tract of the *Oreochromis niloticus*. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v. 29, p. 207-210, 2005.
- TARAKÇI, B. G.; YAMAN, M.; BAYRAKDAR, A.; YAMAN, I. Immunohistochemical study on the endocrine cells in the gastrointestinal tract of the ostrich. **Medycyna Weterynaryjna** 64 (1) pp. 64-67. 2008.
- TASIEMSKI, A., et al. The presence of antibacterial and opioid peptides in human plasma during coronary artery bypass surgery. **J Neuroimmunol.** 109 p. 228-235, 2000.
- TIGERSTEDT, R.A. Niere und Kreislauf. **Scand Arch Physiol.** 8 p. 223-271, 1898.
- TOESCU, E.C.; DAYANITHI, G. Neuroendocrine signalling: Natural variations on a Ca²⁺ theme. **Cell Calcium.** 51(3-4) p. 207-211, 2012.

- TONI, R. The neuroendocrine system: organization and homeostatic role. **J Endocrinol Invest.** 27 p. 35-47, 2004.
- THOMPSON, M., et al. Gastric endocrine cells share a clonal origin with other gut cell lineages. **Development.** 110 p. 477-481, 1990.
- TRANDABURU, T.; TRANDABURU, I. Serotonin (5-hydroxytryptamine, 5-HT) immunoreactive endocrine and neural elements in the chromaffin enteropancreatic system of amphibians and reptiles. **Acta histochemica.** 109, p.237-247, 2007.
- YAMADA J; ARITA M; KITAMURA N; YAMASHITA T; YANAIHARA N; RICHARDSON KC. Heterogeneity of motilin-immunoreactive cells in the duodenum and pyloric region of several avian species. **Arch Histol Cytol (Archives of histology and cytology).** 56 (3) p. 261-7, 1993
- YAMADA, J.; BAOREN, L.; DENG, Z.; KITAMURA, N.; YAMASHITA, T.; PHILLIPS, J. An immunohistochemical study of gut endocrinal cells in two species of insectivorous vespertilinid bat (Chiroptera: *Pipistrellus abramus* and *Plecotus auritus sacrimontis*). **Gergebaurs morphologisches Jahrbuch**, v. 134, p. 79-91, 1988.
- YAMADA, J.; CAMPOS, V. J.; KITAMURA, N.; PACHECO, A. C.; YAMASHITA, T.; YANAIHARA, N. An immunohistochemical study of the endocrine cells in the gastrointestinal mucosa of the *Caiman latirostris*. **Archives of Histology and Cytology**, v. 50, p. 229-241, 1987.
- YAMADA J; KITAMURA N; YAMASHITAT.; The relative frequency and topographica l distribution of somatostatin- GRP- APP- glucagon- 5-HT,and neurotensin-immunoreactive cells in the proventriculus of seven species of birds. **Arch Histol Japon** ;48(3):305–14. 1985.
- YAMANAKA, Y.; YAMADA, J.; KITAMURA, N.; YAMASHITA, T. An immunohistochemical study on the distribution of endocrine cells in the chicken gastrointestinal tract. **Zeitschrift für mikroskopisch-anatomische Forschung**, v. 103, n. 3, p. 437-446, 1989.
- YANG C.; MA Y.; TIAN X.Y.; LU R.S. Histological and Morphological Observations on Digestive System of *Aquila chrysaetos*. **Journal of Shanxi Normal University(Natural Science Edition)**. 03 p. 73-77, 2008.
- YOUNG, B., et al. **Wheater Histologia Funcional: texto e atlas em cores.** 5 ed: Elsevier, 2007.
- YU SHI-YUAN,WANG YUE,GUO TING-TING,GAO XIAN-JUN. Observation on the histology and argyrophil cells in the stomach and small intestine of *Buteo hemilasius*. **Journal of Northwest Normal University(Natural Science)**, 04, p. 82-86. 2009.

- WHITE, et al., Peregrine Falcon (*Falco peregrinus*). **The Birds of North America Online** (A. Poole, Ed.) Ithaca: Cornell Laboratory of Ornithology; Retrieved from The Birds of North American Online database, 2002. Disponível em: http://bna.birds.cornell.edu/BNA/account/Peregrine_Falcon/ Acesso em: 15/09/2007.
- WILLEY, D.W. Eyrie characteristics of Peregrine falcons in the canyonlands of Utah. **Utah Birds** 12 p. 17-23, 1986.
- WILLIAM, J.B. **Histologia Veterinária Aplicada**. Ed. Manole, 2a edição, 629pp, 1992.
- WU, X. B; ZHANG, S.Z.; CHEN, B. H; DENG, Z. P; ZHOU, Z. X; WANG, C. L; NIE, J. S; XIE, W. S. Immunohistochemical studies on endocrine cells in the digestive tract of *Alligator sinensis*. **Dongwu Xuebao**, v. 45, p. 155-161, 1999.
- ZHANG D.L.; YU S.Y. A histological observation of the esophagus and large intestine in *Chrysolophus pictus* Faisão dourado. **Journal of Northwest Normal University(Natural Science Edition)**. 04, p. 69-72, 2000.
- ZHANG, S.Z.; HUANG, X.G.; WU, X.B. Immunohistochemical studies on endocrine cells in the digestive tract of *Paa spinosa*. **Dongwu Xuebao**, v. 49, p. 858-864, 2003.

ANEXOS