

FERNANDA BARBOSA LOPES

**REVISÃO SISTEMÁTICA DA MORFOLOGIA INTESTINAL DE RÉPTEIS E
IDENTIFICAÇÃO DE CÉLULAS ENTERONDÓCRINAS DE
Tropidurus torquatus E *Salvator merianae*
(Squamata: Lacertilia)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2017

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

L864r
2017
Lopes, Fernanda Barbosa, 1980-
Revisão sistemática da morfologia intestinal de répteis e
Identificação de células enteroendócrinas de *Tropidurus*
torquatus e *Salvator merianae* (Squamata:Lacertilia) / Fernanda
Barbosa Lopes. – Viçosa, MG, 2017.
ix, 102f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexos.

Orientador: Sirlene Souza Rodrigues Sartori.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Répteis. 2. Intestinos. 3. Morfologia (Animais). 4. Tubo
digestivo. 5. *Tropidurus torquatus*. 6. *Salvator merianae*.

I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Biologia
Geral. Programa de Pós-graduação em Biologia Animal.

II. Título.

CDD 22 ed. 597.9

FERNANDA BARBOSA LOPES

**REVISÃO SISTEMÁTICA DA MORFOLOGIA INTESTINAL DE RÉPTEIS E
IDENTIFICAÇÃO DE CÉLULAS ENTERONDÓCRINAS DE
Tropidurus torquatus E *Salvator merianae*
(Squamata: Lacertilia)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 25 de setembro de 2017.

Katiane de Oliveira Pinto Coelho Nogueira

Clóvis Andrade Neves
(Coorientador)

Sirlene Souza Rodrigues Sartori
(Orientadora)

Aprendi a agradecer a Deus por todas as coisas.

As lutas me ensinaram a ser forte.

As dificuldades me ensinaram a ser grande.

*E em todos os momentos, Deus me ensinou a
viver.*

*Seja sorrindo, seja chorando, é Deus nos
fazendo crescer.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, em cujas mãos coloco, todos os dias, a minha vida, meu destino, minhas decisões, por sempre estar presente ao meu lado, nas pequenas coisas, no meu caminhar de aprendizado, em cada benção enviada a mim.

A minha orientadora Sirlene Rodrigues de Souza Sartori por ter aberto as portas de seu laboratório, pela orientação, dedicação e compreensão durante este processo. Cultivamos uma amizade que levarei para a vida.

Ao meu esposo Siderlan que foi pai, mãe, professor na minha ausência, pelo amor incondicional e que por tantas vezes nestes dezessete anos de matrimônio se dedicou e absteve em prol dos meus sonhos e planos. Este momento de realização de um sonho vivido por nós é seu também, pois muitas vezes se envolveu nas minhas decisões e lutas.

As minhas queridas filhas, Maria Clara e Ana Beatriz, pela colaboração e aceitação da minha ausência por tantos dias e anos. E por darem valor a dedicação da mamãe à pesquisa e ao ensino.

Aos meus pais João e Rosa, que não mediram esforços e sempre me incentivaram em alçar voos mais altos e por se dedicarem ao cuidados das minhas pequenas.

Aos meus irmãos Ágda Cintia e Farley pelo apoio, palavras de incentivo e pelo cuidado com minha família.

Aos meus sogros Edméia e Antônio, cunhados Eldamara e Fabiano pelo incentivo e ajuda nas horas difíceis.

A minha querida amiga Mariáurea, André, Ana Beatriz e Ana Laura que me acolheu como parte da sua família, pelo apoio e amizade. Obrigada Mary pelo carinho, compreensão e as palavras amigas e de alento nas horas de frustração e desespero.

A todos do laboratório de Biologia Animal, pelo fornecimento do material para histologia. As Professoras Reggiani Vilela, Gisele Lessa, Fabiana Melo pela amizade e ensinamento. Pelas amizades que fiz durante o mestrado e que fizeram crescer com a troca de experiência: Vanessa, Maria Luiza, Geraldo, Donizete, Jamile, Fernanda, Felipe.

A Universidade Federal de Viçosa juntamente com o programa de Pós-graduação em Biologia Animal pela oportunidade de cursar o mestrado e pela infraestrutura fornecida para a execução deste trabalho.

A Universidade Federal de Juiz de Fora campus Governador Valadares, em especial aos professores Fábio Pieri e Girley Francisco e aos técnicos Graziela e Walteir que abriram as portas e colaboraram no meu projeto de pesquisa.

À CAPES, pela concessão da bolsa de pesquisa que possibilitou minha dedicação ao mestrado durante os 24 meses de vigência.

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
Revisão Sistemática da morfologia intestinal de répteis e Identificação de células enteroendócrinas de <i>Tropidurus torquatus</i> e <i>Salvator merianae</i> (Squamata: Lacertilia)	1
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
OBJETIVOS.....	4
Objetivos Gerais	4
Objetivos Específicos	5
REFERÊNCIAS	6
Artigo I	10
Revisão sistemática da morfologia intestinal de répteis.	10
Resumo	11
Abstract.....	12
1 INTRODUÇÃO.....	13
2 MATERIAL E MÉTODOS.	15
2.1 Estratégia de busca e seleção dos artigos	15
2.2 Características do estudo e extração	18
2.3 Análise de viés	18
3 RESULTADOS.....	19
3.1 Estudos incluídos	19
3.2 Análises de dados qualitativos	19
3.3 Evidências morfológicas.....	21
3.4 Viés de relatório	23
4 DISCUSSÃO.....	24
5 REFERÊNCIAS.	32
6 MATERIAL SUPLEMENTAR.	42
(S.1) Filtros Scopus e PubMed.....	42
(S.2) Tabela 1.0: Características morfológicas do intestino de répteis.....	44
(S.3) Tabela 2.0: Resultados descritivos	54
(S.4) Tabela 3.0: Guia Arrive	64
Artigo II	68
Identificação de células enteroendócrinas de <i>Tropidurus torquatus</i> e <i>Salvator merianae</i> (Squamata: Lacertilia).....	68

Resumo	69
Abstract.....	70
1INTRODUÇÃO.....	71
Sistema Endócrino Gastrointestinal.....	71
<i>Tropidurus torquatus</i> e <i>Salvator merianae</i>	72
2 MATERIAL E MÉTODOS.	75
3 RESULTADOS.....	78
3.1 Esôfago	79
3.2 Estômago	80
3.3 Intestino delgado.....	82
3.4 Intestino grosso.....	83
3.5 Frequência das células enteroendócrinas de <i>Tropidurus torquatus</i> e <i>Salvator merianae</i>	86
4 DISCUSSÃO.....	89
5 CONCLUSÃO.	93
6 CONCLUSÃO GERAL.	94
7 REFERÊNCIAS.	95
8 Anexos.....	100
A) Técnica de Grimelius (Modificado e Adaptado).....	100
B) Técnica de Masson-Fontana (Modificado e Adaptado).....	102

RESUMO

LOPES, Fernanda Barbosa, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, setembro de 2017. **Revisão Sistemática da morfologia intestinal de répteis e Identificação de células enteroendócrinas de *Tropidurus torquatus* e *Salvator merianae* (Squamata: Lacertilia)**. Orientadora: Sirlene Souza Rodrigues Sartori. Coorientadores: Fábio Alessandro Pieri e Clóvis Andrade Neves.

Conhecer a morfologia do trato digestório faz-se necessário para compreensão da fisiologia digestiva e, no caso particular dos répteis, tal conhecimento possibilita entender a evolução desse sistema. *A priori* uma revisão sistemática foi realizada com 39 estudos selecionados nas bases de dados MEDLINE/PubMed e Scopus de acordo com o PRISMA, analisando os principais estudos morfológicos do trato digestório de répteis, avaliando os resultados obtidos e as metodologias usadas. Os estudos mostraram que a maioria dos trabalhos analisou todo o trato digestório dos animais, entretanto, os trabalhos se restringiram a algumas técnicas e parâmetros morfológicos, sendo que a maioria pesquisou as células enteroendócrinas, por meio de métodos imunohistoquímicos e, embora menos frequentes, alguns trabalhos realizaram microscopia eletrônica evidenciando a ultraestrutura destas células. A maioria dos trabalhos tem se restringido a descrever qualitativamente os parâmetros morfológicos, sem realizar morfometria e, dos que fizeram alguma medição, os fizeram de forma relativa. Há uma grande variação entre a qualidade e quantidade de dados gerados nos trabalhos, tendo em vista principalmente que muitos deles são antigos e tinham limitações metodológicas da época. Em uma segunda parte do trabalho analisamos o sistema endócrino gastrointestinal das espécies reptilianas, *Tropidurus torquatus* e *Salvator merianae*, identificando e quantificando células argirófilas e argentafins, por meio das técnicas histoquímicas de Grimelius e Masson-Fontana. As células argirófilas foram observadas ao longo do trato gastrointestinal com maior frequência do que as células argentafins em ambas as espécies. A distribuição das células argirófilas no epitélio do trato gastrointestinal e nas glândulas reflete a importância na regulação das secreções. Já as células argentafins para ambas as espécies, encontram-se distribuídas com frequência variável em quase todo o trato gastrointestinal pontuando o controle e motilidade gastrointestinais, predominando na região pilórica de *T. torquatus*. Este

mapeamento nos permitiu relacionar a frequência e distribuição das células enteroendócrinas com aspectos funcionais da digestão.

ABSTRACT

LOPES, Fernanda Barbosa, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, september, 2017. **Systematic review of intestinal morphology of reptiles and identification of enteroendocrine cells of *Tropidurus torquatus* and *Salvator merianae* (Squamata: Lacertilia)**. Advisor: Sirlene Souza Rodrigues Sartori. Co-advisors: Fábio Alessandro Pieri and Clóvis Andrade Neves.

Knowing the morphology of the digestive tract is necessary for an understanding of digestive physiology and, in the particular case of reptiles, this knowledge makes it possible to understand the evolution of this system. A priori a systematic review was performed with 39 studies selected in the MEDLINE / PubMed and Scopus databases according to PRISMA, analyzing the main morphological studies of the reptile tract of reptiles, evaluating the results obtained and the methodologies used. The studies showed that most of the studies analyzed the entire digestive tract of the animals, however, the work was restricted to some morphological techniques and parameters, most of them were submitted to immunohistochemical methods and, although less frequent, some studies performed electron microscopy evidencing the ultrastructure of these cells. Most of the studies have restricted themselves to qualitatively describing the morphological parameters, without performing morphometry and, of those who did some measurement, did them in a relative way. There is a great variation between the quality and quantity of data generated in the works, mainly considering that many of them are old and had methodological limitations of the time. In a second part of the study we analyzed the gastrointestinal endocrine system of the reptilian species, *Tropidurus torquatus* and *Salvator merianae*, identifying and quantifying argyrophilic and argentafins cells, using the histochemical techniques of Grimelius and Masson-Fontana. Argyrophilic cells were observed along the gastrointestinal tract more frequently than argentafins cells in both species. The distribution of the argyrophil cells in the epithelium of the gastrointestinal tract and in the glands reflects the importance in the regulation of secretions. The argentafin cells for both species are distributed with variable frequency in almost every gastrointestinal tract, indicating gastrointestinal control and motility, predominating in the pyloric region of *T. torquatus*. This mapping allowed us to relate the frequency and distribution of enteroendocrine cells with functional aspects of digestion.

Revisão Sistemática da morfologia intestinal de répteis e Identificação de células enteroendócrinas de *Tropidurus torquatus* e *Salvator merianae* (Squamata: Lacertilia)

INTRODUÇÃO GERAL

A ampla distribuição dos répteis squamatas em regiões tropicais, subtropicais, áridas e frias evidencia a grande flexibilidade ecológica, fisiológica e comportamental, o que é corroborado pela grande diversidade de espécies, constituindo o maior grupo de répteis viventes (ZUG et al., 2001). O trato gastrointestinal dos vertebrados “superiores”, especialmente mamíferos, tem sido estudados extensivamente (Chivers & Hladik, 1980; Lambert, 1998; Sklan, 2001; Santos, 2013; Almeida, 2016; Smith et al., 2017; Sahd, 2017), o que não acontece com outros vertebrados como os répteis (Ferri, 1976; Burrel, 1991; Huang, 2005 e Rodrigues-Sartori, 2014).

A estrutura morfológica do esôfago dos répteis varia amplamente, não somente entre animais da mesma ordem como também do mesmo gênero (Zamith 1952). Nos squamatas, por exemplo, o epitélio esofágico é pseudo-estratificado ciliado com células caliciformes mucossecretoras (Zamith, 1952; George et al., 1998), embora epitélio estratificado colunar tenha sido observado no anfisbenídeo *Diplometopon zarudnyi* (Al-Thani & El-Sherif, 1996). Nos quelônios, o epitélio esofágico pode ser tal como dos squamatas ou ser do tipo estratificado pavimentoso com células mucossecretoras (Zamith, 1952). Outra variação é quanto à presença ou não de glândulas na lâmina própria esofágica. Glândulas contendo dois tipos celulares, células zimogênicas e células mucossecretoras, foram observadas na transição esôfago-gástrica da lagartixa *Hemidactylus mabouia* (Rodrigues, 2009), semelhantes às glândulas comumente encontradas em anfíbios anuros (George et al., 1998; Castro et al., 2008; Germano et al., 2011). Diferentemente, tais glândulas não foram observadas em vários répteis, incluindo quelônios, ofídios e outros sáurios (Madrid et al., 1989; George et al., 1998; Pereira et al., 2005). Por outro lado, glândulas contendo somente células mucossecretoras foram vistas no esôfago caudal de algumas espécies reptilianas, particularmente em quelônios (Zamith, 1952; Madrid et al., 1989). Essas glândulas se assemelham às glândulas que aparecem no esôfago da maioria das aves (Zamith, 1952; David et al., 1992;

George et al., 1998). Estudos realizados por Imai et al., (1992) procuraram correlacionar as glândulas esofágicas dos répteis com as das aves, entretanto, conforme Zamith (1952), as semelhanças existentes no padrão das glândulas de répteis e aves não são suficientes para uma correlação precisa, podendo estar relacionadas predominantemente com o hábito alimentar dessas espécies.

O estômago dos répteis apresenta-se geralmente em forma de “J”, sendo mais largo na área curvada e estreitando-se em direção ao esfíncter pilórico. O estômago desses animais é geralmente dividido em duas regiões: região fúndica, que constitui a maior parte do estômago, e uma pequena região pilórica, que diferem principalmente em relação ao tamanho e constituição celular das glândulas gástricas (Luppa, 1977; Madrid et al., 1989; Ferri & Liquori, 1992). As glândulas fúndicas são extensas e compostas principalmente por células mucossecretoras e células oxintopépticas (secretoras de pepsinogênio e ácido clorídrico), enquanto as glândulas pilóricas são curtas e compostas principalmente por células mucossecretoras e células enteroendócrinas. Alguns estudos com répteis têm mostrado, ainda, diferenças entre as glândulas da região fúndica oral e as da região fúndica aboral em relação às células oxintopépticas, caracterizando a existência de um gradiente de secreção de enzimas proteolíticas e ácido clorídrico ao longo dessa região (Ferri et al., 1999; Liquori et al., 2002; Rodrigues et al., 2011).

Os intestinos delgado e grosso podem ser distinguidos devido à diferença de calibre que apresentam, sendo o intestino grosso, particularmente o cólon, várias vezes mais calibroso que o intestino delgado nos anfíbios e répteis (Dehlawi & Zaher, 1989; George et al., 1998; Smith et al., 2001; Zug, 2001; Mackie et al., 2004; Rodrigues, 2009). Não há vilosidades no intestino delgado, e sim longas pregas que constituem importantes estruturas amplificadoras da área digestiva e absorptiva (Al-Thani & El-Sherif, 1996; George et al., 1998; Rodrigues, 2009; Marques dos Santos et al., 2011).

A presença de criptas intestinais é outra incógnita dentre os répteis, não tendo sido observadas no intestino delgado nem no intestino grosso de muitas espécies (Dehlawi & Zaher, 1989; George et al., 1998; Rodrigues, 2009) e consideradas existentes em outras, particularmente no intestino grosso, identificadas como “ninhos celulares” (Wurth & Musacchia, 1964; Andrew & Hickman, 1974; Luppa, 1977; Tarakçı et al., 2005).

O controle endócrino das atividades digestivas é exercido pelo sistema endócrino gastroenteropancreático (GEP), que compreende vários tipos de células endócrinas, conhecidas por células enteroendócrinas, dispersas ao longo do epitélio do tubo digestório e também no pâncreas (Fujita & Kobayashi, 1977). Além das funções de controle da secreção e motilidade gastrointestinais, o sistema GEP também regula a proliferação das células da mucosa e atividades relacionadas com a barreira imunológica (Rindi et al., 2004). Uma grande variedade de células enteroendócrinas já foi identificada, com diferentes formatos e conteúdos secretórios, diferentes localizações e frequências no trato intestinal, e diferentes afinidades por sais de prata, sendo argirófilas e, ou, argentafins (Yamada et al., 1987; Ku et al., 2001; Lee & Ku, 2003; Rodrigues-Sartori et al., 2005; Huang & Wu, 2006; Çakici & Akat, 2013).

Os répteis *Tropidurus torquatus* e *Salvator merianae*, utilizados neste estudo, assemelham-se em relação ao hábito alimentar onívoro generalista, entretanto com comportamentos alimentares diferentes e particularidades na dieta. Ambas as espécies são facilmente encontradas na Zona da Mata Mineira, inclusive em áreas urbanas ou periurbanas.

Tropidurus torquatus (Wied, 1820), vulgarmente conhecido como calango, pertence à família Tropiduridae (infraordem Iguania). O comprimento rostro-cloacal varia de 40 a 140 mm e machos adultos são maiores que as fêmeas (Giaretta, 1996). Dentre as espécies do gênero, *T. torquatus* é a mais amplamente distribuída, ocorrendo desde o Brasil central ao norte da Argentina. No Brasil, ocorre em todas as regiões, exceto na região Amazônica, sendo típico na região Centro-Oeste, Sudeste e Sul (Rodrigues, 1987). Habita áreas abertas e é muito comum em áreas alteradas pela ação do homem, como roçados, quintais e jardins (Bergallo & Rocha, 1994). É uma espécie diurna e heliófila, ativa nas horas mais quentes do dia durante os meses frios, mas durante os meses mais quentes sua atividade é maior no início da manhã e final da tarde (Bergallo & Rocha, 1993). Sua dieta é baseada em uma variedade de artrópodes, principalmente formigas e aranhas, e material vegetal como frutos (Araújo, 1987; Fialho et al., 2000). É considerado uma espécie onívora, generalista e oportunista, com estratégias alimentares do tipo “senta-e-espera” (Araujo, 1987).

Salvator merianae (Harvey et al., 2012), conhecido vulgarmente como teiú, pertence à família Teiidae (infraordem Scincomorpha). O comprimento rostro-cloacal pode chegar a 450 mm em machos adultos, que são maiores que as fêmeas (Ávila-Pires, 1995). Está presente na Argentina, no Brasil e no Uruguai, sendo que no Brasil encontra-se em todas as regiões, exceto na Floresta Amazônica (Vanzolini et al., 1980). Ocorre principalmente em áreas abertas de cerrado, mas pode ser observado em bordas de matas-de-galeria e dentro de matas mais abertas. É uma espécie diurna, heliófila e ativa durante todo o dia. Passa a maior parte do tempo em movimento à procura de presas que localiza com o auxílio da língua comprida e bífida (Vitt, 1995). Apresenta hábito alimentar onívoro, sendo sua dieta muito variada, incluindo vertebrados, partes vegetais, moluscos e artrópodes. Pode ainda comer carniça. É muito comum perto de galinheiros onde se alimenta de ovos e pintinhos (Ávila-Pires, 1995).

É certo que estudos de morfologia descritiva fornecem a base conceitual para determinar as características fisiológicas que definem o comportamento dos animais em relação ao habitat e sobrevivência no meio. Desta forma, conhecer a morfologia do aparelho digestório de répteis faz-se necessário para entender e preencher as lacunas do conhecimento a respeito desta classe de vertebrados. Além da morfologia em si, conhecer as ferramentas utilizadas nos estudos morfológicos, e saber os quão atuais e eficazes são para descrição correta e aprofundada do trato digestório, também se faz relevante.

OBJETIVOS

Objetivos Gerais

Revisar sistematicamente estudos descritivos da morfologia do trato digestório de répteis;

Analisar comparativamente por histoquímica a presença de células enteroendócrinas no tubo digestivo dos lagartos *Tropidurus torquatus* e *Salvator merianae*.

Objetivos Específicos

Analisar os estudos morfológicos e as ferramentas neles utilizadas, para a compreensão do trato digestório de répteis, identificando possíveis lacunas do conhecimento, pontos controversos e falhas metodológicas;

Mapear e caracterizar as células enteroendócrinas de *T. torquatus* e *S. merianae* quanto aos aspectos morfológicos, morfométricos e histoquímicos.

REFERÊNCIAS

- Almeida, W.M. et al. Análise histológica do trato intestinal do *Caracara plancus* (Miller, 1777). Cienc. Anim. Bras. Goiânia. V.17, n.3, 2016, 425-434 p.
- Al-Thani, A.S. & El-Sherif, G. Histological and histochemical study of the digestive tract of the worm-like reptile, *Diplometopon zarudnyi* (Squamata). *Qatar Univ. Sci. J.* V. 16, 1996, 113-117 p.
- Andrew, W.; Hickman, C.P. Histology of the vertebrates. A comparative text. Saint Louis: The C. V. Mosby Company. 1974, 439 p.
- Araújo, A.F.B. Comportamento alimentar dos lagartos: o caso dos *Tropidurus* do grupo *Torquatus* da Serra de Carajás, Pará (Sauria: Iguanidae). *An Etol.* V. 5, 1987, 203-234 p.
- Ávila-Pires, T.C.S. Lizards of Brazilian Amazonia (Reptilia: Squamata). *Zool Verh Leiden*, 1995, 3-706 p.
- Bergallo, H.G.; Rocha, C.F.D. Activity patterns and body temperatures of two sympatric lizards (*Tropidurus torquatus* and *Cnemidophorus ocellifer*) with different foraging tactics in southeastern Brazil. *Amphibia-Reptilia.* V.14, 1993, 312-315 p.
- Bergallo, H.G.; Rocha, C.F.D. Spatial and trophic niche differentiation in two sympatric lizards (*Tropidurus torquatus* and *Cnemidophorus ocellifer*) with different foraging tactics. *Australian Journal of Ecology.* V.19, 1994, 72-75 p.
- Burrell, M.A. et al. A histological and immunocytochemical study of the neuroendocrine cells in the intestine of *Podarcis hispânica* Steindachner, 1870 (Lacertidae). *Cell Tiss. Res.*, V. 263, 1991, 549-556 p.
- Çakici O. & Akat E. Some histomorphological and histochemical characteristics of the digestive tract of the snake-eyed lizard, *Ophisops elegans* Menetries, 1832 (Squamata: Lacertidae). *North-Western Journal of Zoology* V. 9(2): 257, 2013, - Article No.: 131507.
- Castro, J.C. et al. Anatomia-histologia do esôfago da rã touro (*Rana catesbeiana* Shaw, 1802). *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal.* V. 9(1), 2008, 130-139 p.
- Chivers, D.J. & Hladik, C.M. Morphology of the gastrointestinal tract in primates: Comparisons with other mammals in relation to diet. *J. Morphol.* V.166, 1980, 337-386 p.
- David, R.C.; Menin E.; Matos, G.T. Histologia do aparelho digestivo de *Coragyps atratus brasiliensis* Bonaparte, 1850 (Falconiformes, Cathartidae). *Rev. Ceres*, V.39, 1992, 153-176 p.
- Dehlawi, G.Y. & Zaher, M. M. Histological studies on the alimentary tract of the colubrid snake *Coluber florulentus* (Family Colubridae). *J K A U Sci.* V.1, 1989, 95-112 p.

- Ferri, D. & Liquori, G. E. Characterization of secretory cell glycoconjugates in the alimentary tract of the ruin lizard (*Podarcis sicula campestris* De Betta) by means of lectin histochemistry. *Acta Histochemica* (Jena), V.93, 1992, 341-349 p.
- Ferri, D.; Liquori, G. E.; Scillitani, G. Morphological and histochemical variations of mucous and oxynticopeptic cells in the stomach of the seps, *Chalcides chalcides*. *Journal of Anatomy*. V.194, 1999, 71-77 p.
- Ferri, S. et al. Gross, microscopic and ultrastructural study of the intestinal tube of *Xenodon merremii* Wagler, 1824 (ophidia). *J. Antat.*, V.121, 1976, 187-233 p.
- Fialho, R.F.; Rocha, C.F.D.; Vrcibradic, D. Feeding Ecology of *Tropidurus torquatus*: Ontogenetic Shift in Plant Consumption and Seasonal Trends in Diet. *Journal of Herpetology*, V.34(2), 2000, 325-330 p.
- Fujita, T. & Kobayashi, S. Structure and function of gut endocrine cells. *Int. Rev. Cytol. Suppl.* V. 6, 1977, 187-233 p.
- George, L.L.; Alves, C. E. R; Castro, R.R.L. *Histologia comparada*. São Paulo: Editora Roca. 1998, 286 p.
- Germano, V.K.C. et al. Morfologia do esôfago e estômago de perereca-de-folhagem *phyllomedusa burmeisteri* da Zona da Mata Mineira. In: Congresso Latinoamericano de Herpetologia, nº 9, 2011.
- Giaretta, A.A. Lacertilia: *Tropidurus torquatus* (NCN). Home range. *Herpetol Rev.* V.27, 1996, 80-81 p.
- Harvey, M.B.; Ugueto, G. N.; Gutberlet-Jr, R. L. Review of Teiid Morphology with a Revised Taxonomy and Phylogeny of the Teiidae (Lepidosauria: Squamata). *Zootaxa*, V.3459, 2012, 1–156 p.
- Huang X.G. & Wu, X.B. Immunohistochemical study on gastrointestinal endocrine cells of four reptiles. *World J. Gastroenterol.* V.11(35), 2006, 5498-5505 p.
- Imai M.; Shibata T.; Izumi T. Histological and histochemical investigations on Japanese lizard esophagus. *Okajimas Folia Anat Jpn.* May; V.69(1), 1992, 25-34 p.
- Ku, et al. An Immunohistochemical Study on the Endocrine Cells in the Alimentary Tract of the Red-Eared Slider (*Trachemys scripta elegans*). *Anat. Histol. Embryol.* V.30, 2001, 33-39 p.
- Lambert, J.E. Primate digestion: Interactions among anatomy, physiology, and feeding ecology. *Evol. Anthropol.* V.7, 1998, 8–20 p.
- Lee & Ku An immunohistochemical study of endocrine cells in the alimentary tract of the grass lizard, *Takydromus wolteri* Fischer (Laceridae). *Acta histochemica* V. 106, 2003, 171–178 p.
- Liquori, G.E. et al. Histochemical investigations on the secretory cells in the oesophagogastric tract of the eurasian green toad, *Bufo viridis*. *The Histochemical Journal.* V.34(10), 2002, 517-524 p.
- Luppa, H. Histology of the digestive tract. In: C. Gans & T.S. Parsons (Eds.) *Biology of the Reptilia*, Academic Press, London, 1977, 225-302 p.

- Mackie, R.I. et al. Biochemical and microbiological evidence for fermentative digestion in free-living land iguanas (*Conolophus pallidus*) and marine iguanas (*Amblyrhynchus crotatus*) on the Galápagos Archipelago. *Physiological and Biochemical Zoology*. V.77(1), 2004, 127-138 p.
- Madrid, J.F. et al. Distribution of mucins in the mucosa of the digestive tract of reptiles: a histochemical study. *Acta Histochem*. V. 85, 1989, 117-129 p.
- Marques dos Santos, D.C. et al. Morfologia dos intestinos de perereca-de-folhagem *Phyllomedusa Burmeisteri* da Zona da Mata Mineira. In: Congresso Latinoamericano de Herpetologia, nº 9, 2011.
- Martin-Lacave et al. Comparative Histological Study of the Small Intestine in Lizards (Reptilia). *Zbl. Vet. Med. C. Anat. Histol. Embryol*. V.11, 1982^a, 343-355 p.
- Pereira, J.G. et al. Estudo histológico e histoquímico do esôfago do muçua *Kinosternon scorpioides* Linnaeus, 1766 (Reptilia, Chelonia, Kinosternidae). *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR*. V.8(1), 2005, 3-10 p.
- Rindi, G., et al. The “normal” endocrine cell of the gut changing concepts and new evidences. *Ann N Y Acad Sci*. V.1014, 2004, 1-12 p.
- Rodrigues, M.T. Sistemática, Ecologia e Zoogeografia dos *Tropidurus* do grupo *torquatus* ao Sul do Rio Amazonas (Sáuria: Iguanidae). *Arquivos de Zoologia*. V. 31(3), 1987, 105-230 p.
- Rodrigues, S.S. Morfologia do tubo digestivo da lagartixa *Hemidactylus mabouia* (Moreau de Jonnés, 1818) (Squamata: Gekkonidae). Tese de Doutorado (Biologia Celular e Estrutural). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG, 2009, 110p.
- Rodrigues, S.S. et al. Morphology the stomach of the Tropical house gecko *Hemidactylus mabouia* (Squamata: Gekkonidae). *Acta Zoologica*. V.92, 2011, 179-186 p.
- Rodrigues, S.S.; Fonseca, C.C.; das Neves, M.T.D. Células endócrinas do sistema gastroenteropancreático: conceitos, distribuição, secreções, ação e controle. *Arq ciên vet zool UNIPAR*, V.8(2), 2005, 171-180 p.
- Rodrigues-Sartori, S.S. et al. Functional morphology of the gut of the tropical house gecko *Hemidactylus mabouia* (Squamata: Gekkonidae). *Animal Biology*, V.64, 2014, 217-237 p.
- Sahd L. et al. Comparative gastrointestinal morphology of *Tachyoryctes splendens* (Rüppell, 1835) and *Heliophobius emini*, (Noack, 1894) two species of East African mole-rats. *Journal of Morphology*, V.278, 2017, 780–790 p.
- Santos, D.C.M. et al. Morphologic characterization and distribution of endocrine cells in the large intestine of the opossum *Didelphis aurita* (Wied-Neuwied, 1826). *Tissue and Cell*, V.45, 2013, 338– 349 p.
- Slkan, D. Development of the digestive tract of poultry. *World’s Poultry Science Journal*, V.57, 2001.

Smith, D.; Dobson, H.; Spence, E. Gastrointestinal studies in the Green iguana: technique and reference values. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, V.42(6), 2001, 515-520 p.

Smith H.F. et al. Morphological evolution of the mammalian cecum and cecal appendix. *C. R. Pale.* V.16, 2017, 39–57 p.

Tarakçi, B.G.; Köprücü, S.S.; Yaman, M. An Immunohistochemical Study on the Endocrine Cells in the Gastrointestinal Tract of the Freshwater Turtle, *Mauremys caspica caspica*. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, V29, 2005,581-587 p.

Vanzolini, P.E.; Ramos-Costa, A.M.M.; Vitt, L.J. Répteis das Caatingas. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 1980, 161 p.

Vitt, L.J. The ecology of tropical lizards in the Caatinga of northeast Brazil. *Occasional Papers of the Oklahoma Museum of Natural History*, V.1, 1995, 1-29 p.

Wied-Neuwied, M.; Prinz, Zu. Reise nach Brasilien in den Jahren 1815 bis 1817. 2 vols. Frankfurt a. M. Heinrich Ludweig Brönner. 1820.

Wurth, S.M. & Musacchia, W.J. Renewal of intestinal epithelium in the freshwater turtle. *The Anatomical record*, V.148, 1964, 427-439 p.

Yamada, et al. An immunohistochemical study of the endocrine cells in the gastrointestinal mucosa of the *Caiman latirostris*. *Arch. Histol. Jap.* V.50, 1987, 229-241 p.

Zamith, A.P.L. Contribuição para o conhecimento da estrutura da mucosa do esôfago dos vertebrados. *Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"*, V.9(179), 1952, 359-434 p.

Zug, G.R.; Vitt, L. J.; Caldwell J.P. *Herpetology. An Introductory of Amphibians and Reptiles*. Academic Press, San Diego, 2001.

Artigo I

Revisão sistemática da morfologia intestinal de répteis.

RESUMO

LOPES, Fernanda Barbosa, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, setembro de 2017. **Revisão sistemática da morfologia intestinal de répteis.** Orientadora: Sirlene Souza Rodrigues Sartori. Coorientadores: Fábio Alessandro Pieri e Clóvis Andrade Neves.

Propósito. Conhecer a morfologia do intestino delgado faz-se necessário para compreensão da fisiologia digestiva e, no caso particular dos répteis, tal conhecimento possibilita entender a dinâmica desse sistema. Nesta revisão analisamos os principais estudos morfológicos do intestino delgado e répteis, avaliando os resultados obtidos e as metodologias usadas. **Métodos.** Os estudos foram selecionados nas bases de dados MEDLINE/PubMed e Scopus de acordo com a declaração PRISMA, sendo submetidos à extração de dados e o viés metodológico foi investigado de acordo com a estratégia ARRIVE. **Resultados.** Os estudos mostram que a maioria dos trabalhos analisou todo o trato digestório dos animais, entretanto, os trabalhos se restringiram a algumas técnicas e parâmetros morfológicos, sendo a maioria pesquisou células enteroendócrinas por imunohistoquímica e embora menos frequentes, alguns trabalhos realizaram microscopia eletrônica. As evidências morfológicas revelaram na maioria das espécies analisadas semelhança no epitélio do intestino delgado, na população celular e no grande número de células com imunoreatividade a peptídeos intestinais, sendo a serotonina citada em quase todos os trabalhos. Há uma grande variação entre a qualidade e quantidade de dados gerados nos trabalhos, tendo em vista principalmente que muitos deles são antigos e tinham limitações metodológicas da época. **Conclusão.** A complexidade em analisar todos os segmentos do trato digestório e a otimização dos dados, nos levou a análise do intestino delgado, à medida que serão analisados separadamente. A análise deste trabalho nos permite sugerir ferramentas morfológicas a serem utilizadas associadas e de forma complementar para se fazer uma descrição mais apurada e aprofundada do intestino delgado dos répteis, existindo ainda possíveis lacunas e questionamentos a serem elucidados.

Palavra chave: répteis, trato digestório, histologia, histoquímica, metodologia.

ABSTRACT

LOPES, Fernanda Barbosa, M.Sc., Federal University of Viçosa, september, 2017. **Systematic review of intestinal morphology of reptiles.** Advisor: Sirlene Souza Rodrigues Sartori. Co-advisors: Fábio Alessandro Pieri and Clóvis Andrade Neves.

Purpose. Knowing the morphology of the small intestine is necessary to understand the digestive physiology and, in the particular case of the reptiles, this knowledge makes possible to understand the dynamics of this system. In this review we analyze the main morphological studies of the small intestine and reptiles, evaluating the results obtained and the methodologies used. **Methods.** The studies were selected in the MEDLINE / PubMed and Scopus databases according to the PRISMA statement, being submitted to data extraction and the methodological bias was investigated according to the ARRIVE strategy. **Results.** The studies show that most of the studies analyzed the entire digestive tract of the animals, however, the studies were restricted to some techniques and morphological parameters, most of them investigated enteroendocrine cells by immunohistochemistry and although less frequent, some papers performed electron microscopy. Morphological evidence revealed similarity in the small intestine epithelium, the cell population and the large number of cells with immunoreactivity to intestinal peptides, with serotonin being mentioned in almost all studies. There is a great variation between the quality and quantity of data generated in the works, mainly considering that many of them are old and had methodological limitations of the time. **Conclusion.** The complexity of analyzing all segments of the digestive tract and optimizing the data led us to analyze the small intestine as they will be analyzed separately. The analysis of this work allows us to suggest morphological tools to be used in a complementary way to make a more detailed and detailed description of the small intestine of the reptiles, and there are still possible gaps and questions to be elucidated.

Key words: reptiles, digestive tract, histology, histochemistry, methodology.

Artigo I: Revisão sistemática da morfologia intestinal de répteis.

1. INTRODUÇÃO

As análises morfológicas do intestino delgado, voltadas para a pesquisa científica ou para o diagnóstico patológico, incluem procedimentos anatômicos, histológicos e citológicos (Shimo, 2015; Fagundes et al., 2016; Sahd et al., 2017). Em biologia animal, os estudos morfológicos do trato digestório são importantes para se entender os processos digestivos que cada espécie dispõe para a sua nutrição, além de servirem como ferramentas adicionais para os estudos fisiológicos, patológicos (Starck & Beese, 2002; Mackie et al., 2004; Iglesias, 2009; Strobel et al., 2015). Dentre os aspectos relativos ao trato digestório, é particularmente importante à realização de estudos envolvendo o intestino, principal local de ação digestiva e absorviva (Naya et al., 2009; Magalhães et al., 2010; Aleixo et al., 2011). O trato gastrointestinal dos vertebrados “superiores”, especialmente mamíferos, tem sido estudado extensivamente (Chivers & Hladik, 1980; Lambert, 1998; Sklan, 2001; Santos, 2013; Almeida, 2016; Smith et al., 2017; Sahd et al., 2017), o que não acontece com outros vertebrados como os répteis (Ferri, 1976; Burrell, 1991; Huang, 2006 e Rodrigues-Sartori, 2014).

Os répteis apresentam diversidade morfológica intestinal devido às diferenças de hábitos alimentares (Stevens & Hume, 1998; Karasov & Hume, 1997; Secor, 2005). Por exemplo, nos répteis o trato intestinal dos herbívoros, particularmente o intestino grosso, é mais longo e mais complexo (muitos incluem câmaras de fermentação) que o dos carnívoros (Stevens & Hume, 1998; Zug et al., 2001; Secor 2005). Além disso, o intestino destes animais herbívoros hidrolisa e transporta açúcares simples a taxas maiores que aminoácidos, enquanto o contrário tende a acontecer nos carnívoros (Karasov & Diamond, 1988; Stevens e Hume, 1998; Secor, 2005).

É importante salientar que os répteis são um grupo parafilético e que, independente do hábito alimentar, podem apresentar muitas variações morfológicas no trato intestinal, como por exemplo: (1) embora o seu intestino delgado seja descrito anatomicamente como um tubo uniforme (Zug et al., 2001), diferenças regionais já foram observadas em algumas espécies e as regiões duodeno, jejuno e íleo caracterizadas (Smith et al., 2001); (2) um ceco

pode estar presente na junção dos intestinos, sendo mais comum nos onívoros e herbívoros (Pereira, 2000; Smith et al., 2001; Zug et al., 2001; Mackie et al., 2004), mas também já foi observado em carnívoros (Secor & Diamond, 1995; Navega-Gonçalves, 2009); (3) nos lagartos a transição do intestino delgado para o grosso é abrupta, marcada pelo aumento no calibre tubular e presença de válvula ileocecal, o que parece não ser consenso para cobras e crocodilos (Dehlawi & Zaher, 1989, Jin et al., 1990, Helmstetter et al., 2009); (4) embora no intestino delgado da maioria dos répteis não existam vilosidades, e sim dobras altas semelhantes às vilosidades (Perez-Tomas et al., 1990, George et al., 1998; Rodrigues-Sartori et al., 2014), a presença de vilosidades foi relatada para algumas espécies como *Coluber florulentus*, *Caiman crocodilus yacare*, *Xerobates agassizii*, *Kinosternon scorpioides*, *Thamnophis sirtalis parietalis* e *Chelonia mydas*, respectivamente (Dehlawi & Zaher, 1989; Jin et al., 1990; Barboza, 1995; Pereira, 2000; Starck & Beese, 2001; Magalhães et al., 2010); (5) embora as criptas de Lieberkühn estejam ausentes tanto no intestino delgado como no intestino grosso (Dehlawi & Zaher, 1989; Starck & Beese, 2001; Rodrigues-Sartori et al., 2014), neste último podem existir depressões semelhantes a criptas ou ninhos celulares, que tem sido chamados de “glândulas” (Luppa, 1977; Tarakçi et al., 2005); (6) o epitélio da mucosa intestinal pode ser prismático simples ou pseudoestratificado, composto de células absortivas, caliciformes, enteroendócrinas e, por vezes, células de Paneth (Luppa, 1977; Jin et al., 1990; Kotzé et al., 1992; George et al., 1998; Pereira, 2000; Rodrigues-Sartori et al., 2014; Borges, 2014); (7) grande variedade de células enteroendócrinas já foram identificadas, com diferentes formatos e conteúdos secretórios, diferentes localizações e frequências no trato intestinal, e diferentes afinidades por sais de prata, sendo argirófilas e, ou, argentafins (Yamada et al., 1987; Ku et al., 2001; Lee & Ku, 2003; Rodrigues-Sartori et al., 2006; Huang & Wu, 2006; Çakici & Akat, 2013).

Baseado nisto, foi realizada uma revisão sistemática que, diferente das comumente utilizadas revisões narrativas, permite identificar, selecionar, avaliar e sintetizar as evidências relevantes a respeito de determinado tema. Este trabalho de revisão da morfologia intestinal dos répteis trata-se de um trabalho pioneiro no que diz respeito à revisão sistemática de estudos descritivos, possibilitando identificar possíveis lacunas do conhecimento assim como as falhas metodológicas e os pontos controversos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Estratégia de busca e seleção dos artigos

O PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analyses) statement (Moher et al. 2009) foi adotado para realizar esta revisão sistemática (Figura 1.0), uma vez que se trata de revisão de trabalhos descritivos. Quatro pesquisadores (FBL, MMS, SRS, e RVG) independentes buscaram no Pubmed e Scopus todos os artigos originais publicados até junho de 2016 (16h:22min:23seg), que investigaram o trato digestório de répteis por meio de análises morfológicas. As estratégias de busca foram baseadas em quatro componentes: (i) animais (reptéis) (ii) morfologia, (iii) hormônios peptídicos e (iv) técnicas/colorações (Fig. S1). Inicialmente foram desenvolvidos filtros de pesquisa para o Pubmed de acordo com o próprio dicionário Thesaurus (Medical Subject Headings - MeSH terms). Para expandir a recuperação e relevância dos estudos indexados e aqueles em processo de indexação, os comandos [MeSH Terms] e [TIAB] foram combinados. Para identificar todos os estudos com animais no Pubmed um filtro padrão foi aplicado (Hooijmans et al., 2011). No Scopus foi utilizado o “filtro padrão animal” fornecido na plataforma de busca. Os mesmos filtros usados para morfologia, hormônios peptídicos e técnicas/colorações foram adaptados para Pubmed e Scopus. As restrições de idioma foram aplicadas para recuperar apenas artigos em inglês, espanhol e português.

A seleção inicial foi realizada de forma independente pelos pesquisadores (FBL, MMS, SRS e RVG), que exibiu o resumo de todos os papéis recuperados. Os estudos duplicados foram removidos pela comparação dos autores, título, ano e revista de publicação. Em caso de dúvida, toda a publicação foi recuperada e avaliada. Apenas estudos que investigam a morfofisiologia do trato gastrointestinal de répteis foram considerados para inclusão potencial na revisão sistemática. Após a pesquisa inicial, todos os estudos relevantes foram recuperados em texto completo e avaliados por critérios de elegibilidade que regem as Diretrizes Prisma (Moher et al., 2009). Assim, foram excluídos os trabalhos contendo: sistemas reprodutivos, nervosos, cardíacos, respiratórios, renais e/ou excretores; veneno e/ou toxicidade; outras glândulas, músculos, olhos e espécies não reptilianas (Fig. 1). A elegibilidade foi analisada de forma independente pelos pesquisadores e

as discordâncias foram resolvidas por consenso. Os segmentos esôfago e estômago que fazem parte do tubo digestivo foram excluídos para melhor análise e otimização dos dados, sendo posteriormente analisados e publicados separadamente. As listas de referência dos documentos relevantes selecionados foram selecionadas manualmente para documentos potencialmente relevantes.

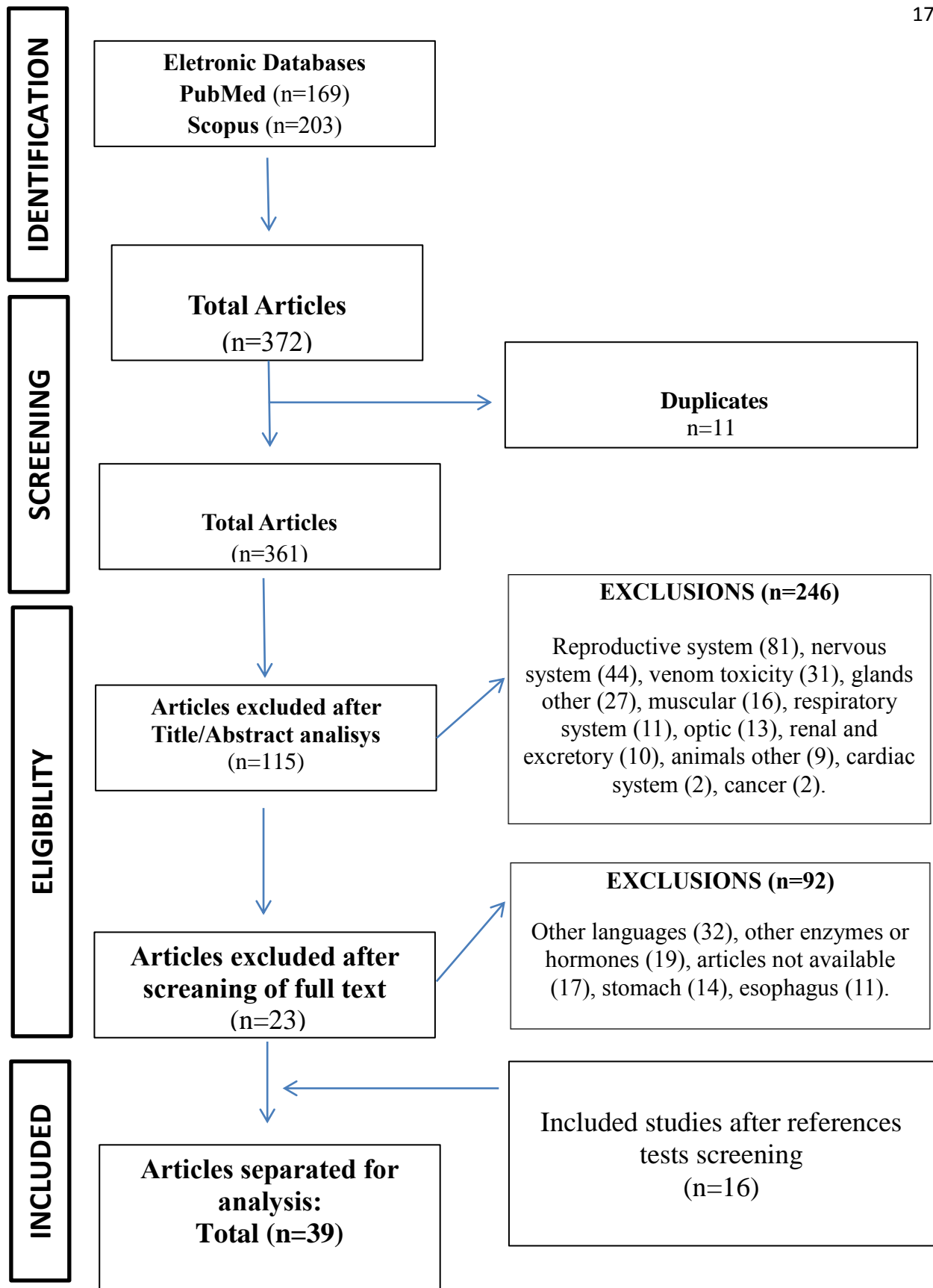


Figura 1: Diagrama de fluxo dos resultados da pesquisa bibliográfica de revisão sistemática. Com base em "Itens de Relatórios Preferenciais para Revisões Sistemáticas e Meta-Análises: A Declaração PRISMA". www.prisma-statement.org De: Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, Grupo PRISMA (2009). Itens de relatório preferencial para revisões sistemáticas e MetaAnalyses: a declaração PRISMA. PLoS Med 6 (6): e1000097. Doi: 10.1371 / journal.pmed1000097 Para mais informações, visite www.prisma-statement.org

2.2 Características do estudo e extração

Os dados qualitativos foram extraídos de todos os artigos incluídos. A extração de dados foi classificada da seguinte forma: (i) características da publicação: autores, anos e países; (ii) características do modelo animal: animal, ordem, subordem e família, nativo/exótico, número de animais, sexo, idade, peso, (iii) características do tecido analisado: segmento intestinal e suas células, enzimas, hormônios e outras secreções e (iv) metodologia (métodos anatômicos e índices, métodos histológicos, coloração histoquímica geral, métodos imuno-histoquímicos, microscopia eletrônica, histomorfometria).

2.3 Análise de viés

Avaliamos a qualidade do estudo (viés do relatório) de todos os documentos incluídos (Fig. S.4), utilizando os critérios descritos nas diretrizes ARRIVE (Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments). Esses critérios são baseados em descrições curtas de características essenciais do estudo, como declaração étnica, procedimentos experimentais, tamanho da amostra, alocação de animais, métodos estatísticos, dados de linha de base, generalização e financiamento (McGrath & Lilley 2015). Considerando a proposição desta revisão sistemática e a especificidade do sujeito da pesquisa, foi construído um quadro que resume todos os aspectos relevantes e aplicáveis descritos nas diretrizes da ARRIVE. De forma independente a qualidade de todos os estudos e as discrepâncias foram avaliadas e resolvidas por consenso. A avaliação da qualidade negativa não indica necessariamente que o experimento tenha sido realizado de forma insuficiente; indica qualidade de relatório inadequada (Hooijmans et al., 2011).

3. RESULTADOS

3.1 Estudos incluídos

Da nossa estratégia de pesquisa, 24 estudos foram recuperados em todas as bases de dados e incluídos na revisão sistemática. As listas de referência foram selecionadas e 16 estudos foram adicionalmente identificados. Assim, 39 estudos relevantes com répteis de 1967 até 2014 foram incluídos na revisão e utilizados para a extração de dados. A Fig. 1 mostra o fluxograma e cada etapa realizada no processo de seleção para recuperar estudos relevantes. Os filtros de pesquisa apresentados aqui nos permitiram recuperar um número semelhante de registros na PubMed e Scopus. Considerando todos os documentos que investigam os principais parâmetros morfológicos utilizados para descrever o trato digestivo dos répteis (n=372), a maioria dos estudos excluídos foram baseados em outros sistemas (n=164), outros animais (n=9), outras patologias (n=2), seguido de estudos duplicados (n=11), e outras razões, como outras línguas (n=32), hormônios (n=19) e artigos não disponíveis (n=17).

3.2 Análises de dados qualitativos

Os estudos analisados (Tab.1; Figs. 2 e 3; S.2) foram realizados em 16 países diferentes sendo a Espanha (n=8) o país que mais tem pesquisado nesta área seguido dos Estados Unidos e Japão (n=4, cada); Brasil, Coréia e Egito (n=3, cada); por fim Itália, Turquia, Austrália e Inglaterra (n=2, cada) e Qatar, África do Sul, China, Canadá, Romênia e Suécia (n=1, cada). As espécies mais estudadas foram: *Lacerta lepida*, *Lacerta viridis*, *Testudo graeca* (n=4, cada); seguido por *Mauremys caspica caspica* (n=3); *Pardarcis sicula*, *Podarcis hispanica*, *Anolis carolinensis*, *Lacerta hispanica*, *Psammmodromus algerus*, *Acanthodactylus erythrurus* (n=2, cada); e o restante das 33 espécies (n=1). As ordens mais representadas foram: Squamata (n=34), seguido de Testudines (n=16) incluindo a variabilidade de nomenclatura Testudinata e Chelonia, e Crocodyla (n=3). No levantamento de dados sobre o experimento animal (Fig. 2), três trabalhos mencionaram o hábito/regime alimentar da espécie analisada. De todas as espécies estudadas (n=33) eram

nativas. Quanto ao gênero dos animais (n=19) dos estudos utilizaram ambos os sexos, (n=1) utilizaram apenas fêmeas, nenhum trabalho foi realizado com machos somente, e (n=19) não relataram o gênero do animal. A maioria dos trabalhos não relatou a idade dos animais estudados e (n=13) foram com animais adultos. O peso dos animais dos trabalhos analisados (n=32) não foi relatado e (n=3) dos trabalhos descreveram o peso ou tamanho (n=5). Alguns trabalhos (n=5) relataram aclimatação e tempo de jejum.

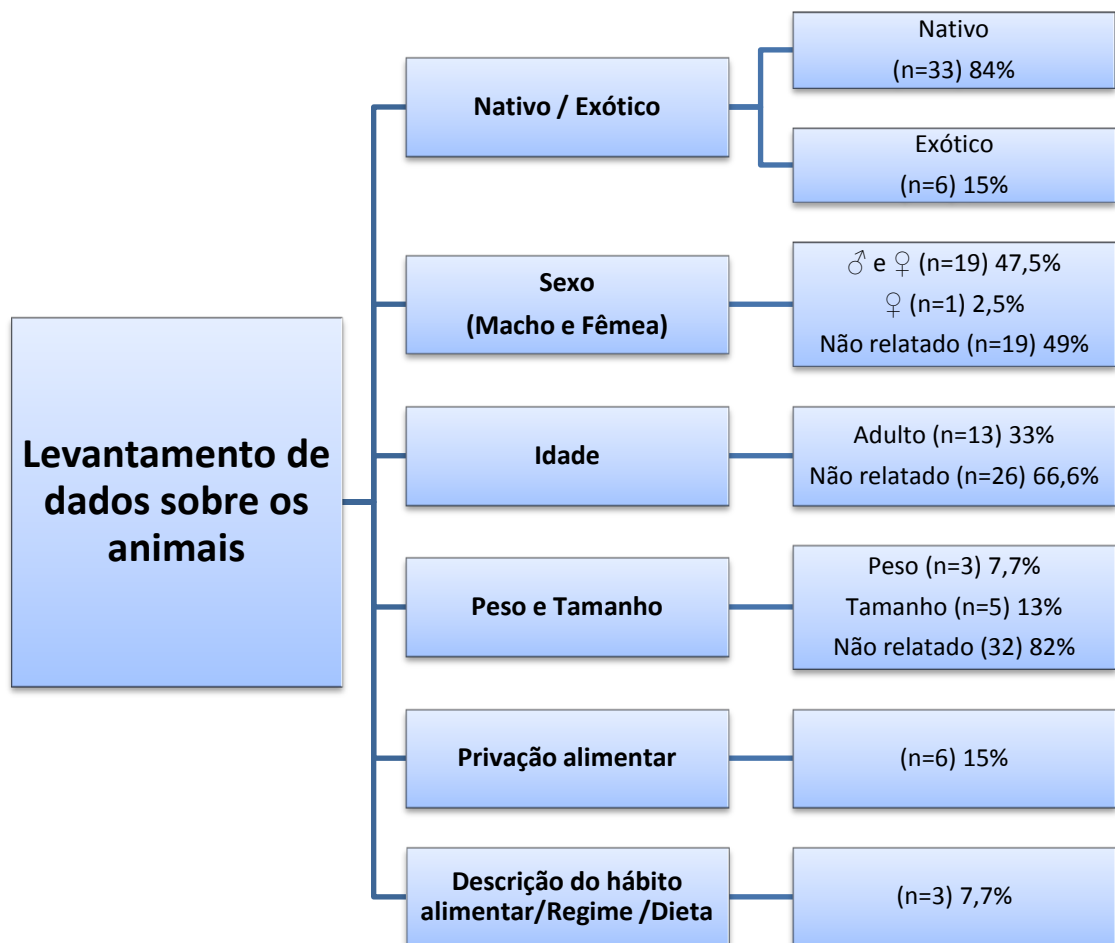


Fig. 2: Levantamento dos dados no experimento animal. Referência que analisaram origem nativo/exótico/sexo/idade/peso/privação alimentar e descrição do hábito alimentar e/ou regime e/ou dieta.

Dos procedimentos de eutanásia realizados nos animais, destacaram-se: (n=9) com éter etílico e (n=6) com superdose de pentobarbital intraperitoneal. Em número menor, utilizou-se inalação de clorofórmio, decapitação e perfusão no coração (n=13) e (n=11) não relataram os métodos de eutanásia.

A maioria dos trabalhos (n=26) abordou não somente os intestinos como outras partes do trato gastrointestinal. Quanto à natureza das células estudadas (n=25) analisaram as células endócrinas; (n=6) as células caliciformes; (n=5) neurônios entéricos; (n=2) células de Paneth e (n=1) não pesquisaram células. Dentre os 39 artigos analisados a maioria n=23, estudou hormônios peptídicos e/ou neuropeptídios sendo que, (n=13) destacaram a serotonina. Quanto aos métodos, somente (n=3) dos trabalhos fizeram análises anatômicas. Análises histológicas foram realizadas em (n=36), sendo que destes 24 usaram parafina, cinco usaram resina, dois usaram parafina e resina, outros dois usaram parafina e gelatina e três não relataram o meio de inclusão. Quanto às colorações/marcações histológicas, quatro fizeram apenas colorações de rotina, dez apenas colorações histoquímicas, 16 fizeram apenas imunomarcção, e 15 fizeram dois ou mais destes métodos. Das histoquímicas, 10 trabalhos fizeram análises para células endócrinas argirófilas e/ou argentafins, um trabalho fez análise para proteínas/enzimas e quatro para glicoconjugados (mucinas) e, destes últimos, um utilizou lectinas. Dos trabalhos com imunomarcção, (n=19) foram com hormônios peptídeos e (n=4) com neuropeptídios. Quinze estudos fizeram análises de microscopia eletrônica, sendo (n=14) de microscopia de transmissão e (n=5) de microscopia de varredura. Trinta e três trabalhos histológicos avaliaram parâmetros por meio de análises histomorfométricas, sendo (n=15) usando apenas análises qualitativas (por pontos) e (n=11) usando análises quantitativas (por valores), e (n=7) usando ambas.

3.3 Evidências morfológicas

Dentre os principais resultados dos trabalhos analisados, destacam-se (Tab. 2; S.3; Fig. 4): presença de pregas que lembram vilos (n=7) ou mesmo vilos propriamente (n=3) no intestino delgado; ausência de glândulas (de Lieberkühn) ou criptas intestinais (n=3) em ambos os intestinos, embora invaginações que lembrem criptas fossem observadas em algumas espécies (n=3) ou mesmo criptas propriamente (n=1); ausência de glândulas duodenais (de Brunner) e células de Paneth (n=4), embora células granulares semelhantes à de Paneth fossem vistas em algumas espécies (n=1); epitélio simples (n=6), ou pseudoestratificado (n=3), com células colunares de borda estriada,

predominantes (n=2), e células caliciformes mucossecretoras (n=12), que aumentam distalmente em quantidade no intestino delgado (n=2), podendo existir só células mucossecretoras (colunares/piramidais/caliciformes) no intestino grosso (n=5), sendo que mucinas neutras (n=5) e/ou ácidas (n=5) e diferentes marcações para lectinas (n=1) foram encontradas em ambos os intestinos; presença de células enteroendócrinas argirófilas (n=4) e/ou argentafins (n=2), predominantemente do tipo aberto (n=9), e com diferentes imunorreações (n=19), em especial para serotonina, identificada praticamente por todo o intestino, seguida da gastrina, somatostatina e do glucagon/enteroglucagon; presença de neurônios imunomarcados (n=4) para VIP, substância P e GLP-1.

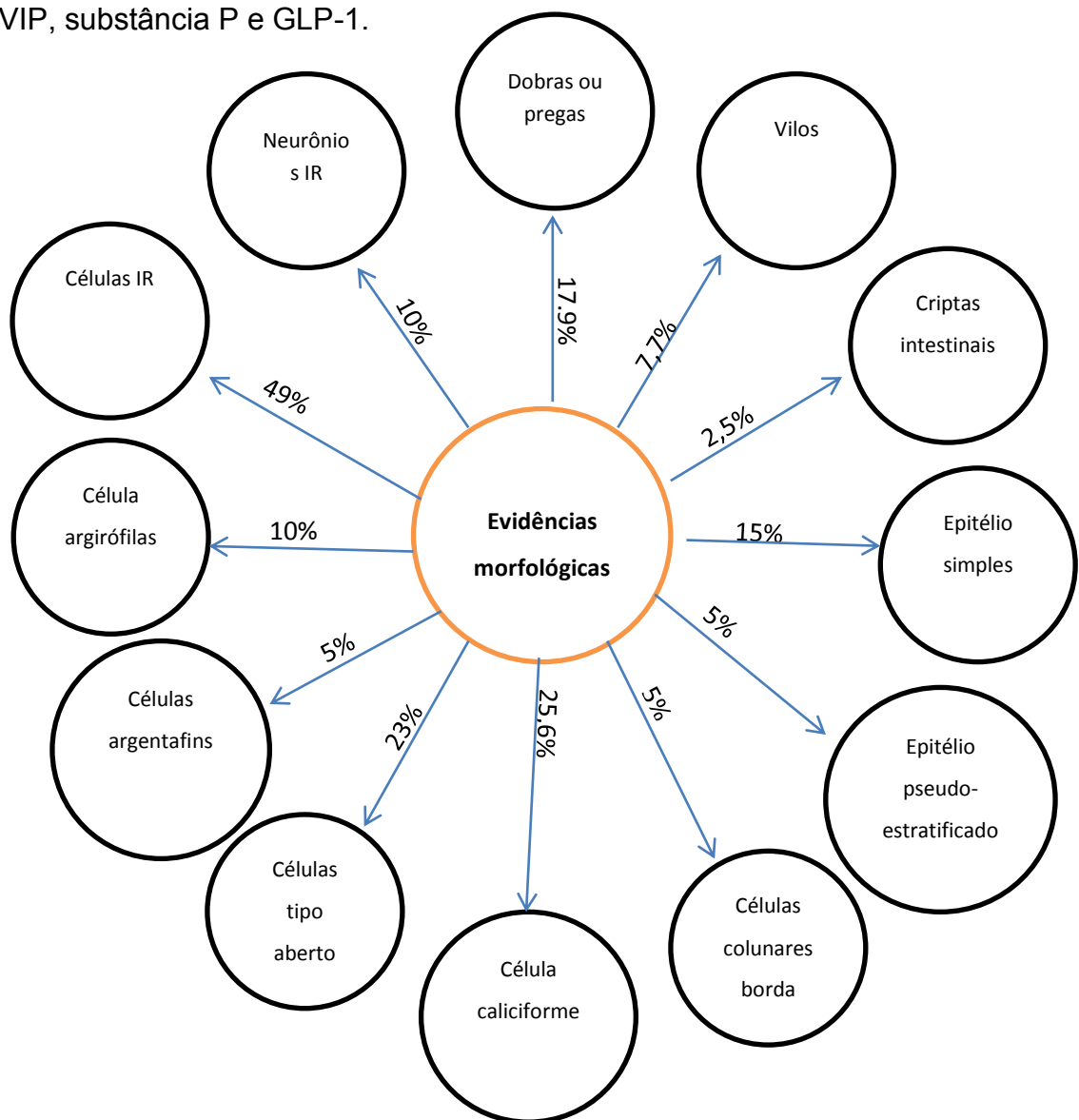


Fig. 4: Principais resultados dos trabalhos analisados, destacando as evidências morfológicas de dobras ou pregas, vilos, criptas intestinais, epitélio simples, epitélio pseudo-estratificado, células colunares com borda estriada, células caliciformes, células do tipo aberto, células argentafins, células argirófilas, células imunorreativas e neurônios imunoreativos.

3.4 Viés de relatório

Utilizando os critérios propostos pelas diretrizes ARRIVE (S.4), foram analisados 37 itens relacionados ao viés de estudo para avaliar a qualidade dos trabalhos (Tab. 3). Nenhum estudo realizou todos os critérios ARRIVE, e apenas uma média de $13,76 \pm 3,8$ itens foram atendidos pelos estudos incluídos. Quando os itens ARRIVE foram individualmente investigados, nenhum estudo relatou o tipo de instalação para habitação de animais, justificou o porquê do número de amostra para a análise. Entretanto, 97% dos trabalhos apresentaram descrição concisa do conteúdo do artigo; 74% apresentaram objetivos de pesquisa, métodos, achados principais e conclusões; 82% relataram bases científicas suficientes; 38% explicaram a abordagem metodológica, espécies e partes estudadas; 85% descreveram claramente os objetivos primários e secundários; 10% relataram a natureza das permissões de revisão ética, licenças relevantes e diretrizes nacionais ou institucionais para o cuidado e uso de animais; 87% relataram o número de animais por grupo (ou por análise, ou por espécie); 95% descreveram as técnicas utilizadas; e 77% o número de porções analisadas. Sobre o modelo animal, 49% relataram o seu local de origem (local de captura); 13% relataram o seu tamanho (comprimento médio) e 5% relataram as condições de aclimação. Analisando os resultados (qualidade de texto, tabelas, gráficos, figuras), 97% dos trabalhos os descreveram bem. Quanto à discussão, 97% dos trabalhos interpretaram bem os resultados, tendo em conta os objetivos e hipóteses do estudo, a teoria atual e os estudos relevantes e ainda, 67% fizeram comentários sobre aspectos funcionais e evolutivos.

4. DISCUSSÃO

De modo geral, identificamos poucos trabalhos e esta escassez pode ser justificada pela dificuldade de captura e manuseio de animais silvestres, em especial os de maior porte, o que dificulta a compreensão das principais semelhanças e diferenças dentre os reptilianos, uma vez que se baseia em poucos estudos com algumas das 7.500 espécies existentes de répteis (Ahmed, 2009). Nossos achados indicaram que, embora haja iniciativas pontuais de pesquisa nos países subdesenvolvidos, a busca pelo conhecimento do trato digestório de répteis é maior nos países desenvolvidos. Interessante notar que os padrões geográficos esperados não foram encontrados, uma vez que as principais pesquisas foram realizadas em países com diversidade biológica menor quando comparado a países tropicais como Brasil, Austrália e países africanos. Associado a isto observamos que a maioria dos trabalhos não relatou a importância econômica ou medicinal da espécie estudada, ou mesmo o seu valor biológico no ecossistema, em si tratando de uma espécie nativa ou exótica.

Nossos resultados mostraram que poucos trabalhos têm mencionado os dados biométricos dos animais, como tamanho corporal, que é importante para obter-se o coeficiente intestinal e poder comparar espécies de portes diferentes e fazer relações com o hábito alimentar. Além disto, apenas quatro trabalhos relataram aspectos alimentares da espécie estudada, como hábito ou comportamento alimentar, embora se saiba que a morfologia do trato intestinal tem relações com estes parâmetros. Por exemplo, répteis carnívoros costumam ter intestino delgado longo e intestino grosso curto, enquanto nos herbívoros ocorre o inverso (Zug, 1993; Mackie et al., 2004; Rodrigues-Sartori et al., 2014). O estado alimentar dos animais também foi pouco mencionado, embora se saiba que o trato intestinal é flexível e sua morfologia pode variar conforme a presença ou não de alimento. Um exemplo extremo é o da serpente *Python molurus bivittatus* e de outras que possuem o comportamento do tipo “sentar-e-esperar” para captura de suas presas. Tais serpentes toleram períodos de jejum de um ano ou mais, embora leve apenas 10-14 dias para digerir e absorver uma grande refeição (Greene, 1983; Starck & Beese, 2002). Estas características determinam as alterações no epitélio deste animal que deixa de ser pseudo-estratificado durante o jejum e passa à simples após a

alimentação, com aumento das microvilosidades e da capacidade de hidrolisar e transportar nutrientes (Lignot et al., 2005). Raros trabalhos mencionaram licença para captura e parecer de Comitê Ético para o Uso de Animais. O National Centre for the Replacement Refinement & Reduction of Animals in Research (NC3R's) possui princípios que foram incorporados na legislação internacional que regulamenta o uso de animais em procedimentos científicos (<< <http://www.nc3rs.org.uk/>>>). No Brasil, é necessária licença do IBAMA para captura de animais silvestres e aprovação do projeto, antes da sua execução, por um Comitê Ético (Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA, 2016). Quanto aos métodos de eutanásia, foram vários os utilizados nos trabalhos analisados, que certamente variaram devido à legislação de cada país e o período em que foram realizados. Atualmente, sobre a eutanásia de répteis no Brasil, recomenda-se: “A eutanásia deve ser realizada pela aplicação intraperitoneal de uma dose excessiva de tiopental (ou tiopentato de sódio) a 50 mg/kg. Pode-se, ainda, utilizar lidocaína ou benzocaína em pomada ou gel por pincelamento no interior da boca ou na barriga e região inguinal. Outra opção é a administração intrapleuroperitoneal de volumes de 0,05 a 2 ml (em função do tamanho do exemplar) de solução de cloridrato de lidocaína a 2% ou de cloridrato de bupivacaína 0,5%, aguardando um período de cinco minutos até que não haja reflexos. Pode-se ainda assegurar a morte com uma injeção intracraniana – via foramen magnum – de lidocaína ou bupivacaína” (CONCEA, 2016).

O número de exemplares utilizados nos diferentes trabalhos também foi bastante variável, o que faz questionar qual seria o número ideal para um estudo morfológico do trato digestório. Observamos que o número varia de acordo com o tamanho da espécie, uma vez que animais de menor porte foram utilizados em maior número (Ferri et al., 1976; D'Este, et al., 1993, 1995; Burrell et al., 1991, 1992; Rodrigues-Sartori et al., 2014), certamente devido a maior disponibilidade e facilidade de captura destes. Em média, os trabalhos utilizaram cinco animais, o que parece ser satisfatório uma vez que nenhum dos pesquisadores relatou dificuldades nas análises ou dúvidas nos resultados devido ao número amostral. Dell et al., (2002) discutem métodos simples de estimar o número de animais necessários para vários tipos de variáveis e experimentos, para que seja usado o número mínimo de animais consistente com os objetivos científicos, métodos para reduzir o viés subjetivo e as análises

estatísticas. Curiosamente, nossos resultados mostraram que alguns trabalhos não citaram o número de animais utilizados, comprometendo a caracterização morfológica de determinado grupo animal e a comparação entre grupos, se usado número reduzido de animais (Martin-Lacave et al., 1982^A, 1982^B; Giraud et al., 1978; Suganuma et al., 1981; Dehlawi & Zaher, 1989; Gapp, Kenny & Polak, 1985; Reinecke et al., 1980, 1981).

Em geral nossos resultados mostraram que a maioria dos trabalhos analisou todo o trato digestório dos animais, o que é interessante dada à interligação funcional dos diferentes segmentos deste sistema. Entretanto, os trabalhos se restringiram a algumas técnicas e parâmetros morfológicos, sendo que a maioria pesquisou as células enteroendócrinas, por meio de métodos imunohistoquímicos.

Descrições macroscópicas por meio de análises anatômicas foram negligenciadas, embora sejam parâmetros simples e de baixo custo para sua realização. Através das análises anatômicas é possível conhecer, por exemplo, a topografia dos órgãos, o arranjo das alças intestinais e o padrão das pregas do revestimento interno, o que permite diferenciar as porções intestinais e entender o seu papel nas funções digestivas (Rodrigues-Sartori et al., 2014). Medidas e índices anatômicos permitem comparar diferentes espécies e inferir sobre aspectos funcionais além de relacionar com o hábito/regime alimentar (Ferri et al., 1976; Naya et al., 2009; Ahmed et al., 2009; Shalaby, 2012). Por exemplo, nos lagartos a transição do intestino delgado para o grosso é abrupta, marcada pelo aumento no calibre tubular e presença de válvula ileocecal, o que parece não ser consenso para cobras e crocodilos (Dehlawi & Zaher, 1989, Jin et al., 1990, Helmstetter et al., 2009). Além disto, a presença do ceco tem sido relacionada com o hábito alimentar herbívoro, pois geralmente é bem desenvolvido em quelônios e lagartos herbívoros servindo como um local para a fermentação pós-gástrica das fibras dietéticas e rudimentar em répteis carnívoros como: cobras, crocodilianos e lagartos monitores. Entretanto, a dieta apenas não é um preditor da presença e tamanho do ceco, a exemplo de *Calotes jubalatus*, insetívoro, e *Tupinambis teguixin*, onívoro, os quais têm o ceco relativamente grande comparado ao de lagartos herbívoros (Mader, 2005). Dehlawi & Zaher (1989) relataram a presença do ceco na serpente *Coluber florulentus* e recentemente confirmado por Choe et al., (2016) que

relataram a presença de ceco também nas serpentes, *Dinodon rufozonatus* e *Rhabdophis tigrinus*.

A técnica mais utilizada nos estudos foi a imunohistoquímica, visando principalmente à identificação das células enteroendócrinas. Dentre estas, as células enterocromafins, produtoras de serotonina, foram as mais pesquisadas e observadas nos diferentes segmentos do trato digestório das espécies reptilianas já estudadas. As células enterocromafins de fato constituem a população predominante do sistema endócrino gastroenteropancreático (Sjölund et al., 1983), tendo sido encontradas em todas as espécies de vertebrados já estudadas, sugerindo-se que elas se estabeleceram nos estágios iniciais da evolução dos vertebrados (El-Salhy et al., 1985). No trato digestório de répteis, a serotonina pode estimular a musculatura lisa e estar envolvida com o mecanismo regulatório do movimento ciliar esofágico (Perez-Tomas et al., 1989). Ainda, Perez-Tomas et al., (1989) e Tarakçi et al., (2005) sugeriram que ela tenha um efeito trófico sobre o epitélio intestinal, tendo identificado células imunorreativas à serotonina em “ninhos celulares” no intestino grosso de algumas espécies reptilianas.

Técnicas usando sais de prata para identificação de células enteroendócrinas tem sido bastante utilizadas em mamíferos (Pearse et al., 1974; Freitas-Ribeiro et al., 2012; Santos, 2012), mas pouco em répteis (D'Este, et al., 1995; Ahmed et al., 2009; Rodrigues-Sartori et al., 2014). Nestes, as células argirófilas foram encontradas em maior frequência no intestino (Burrell, et al., 1991; Pereira, 2000; Rodrigues-Sartori, 2014), em detrimento das células argentafins, o que condiz com a premissa de Santos e Zucoloto (1996) de que toda célula argentafim é também argirófila. Segundo Grimelius e Wilander (1980), a argirofilia está presente em todas as células enteroendócrinas exceto as produtoras de colecistocinina e somatostatina, enquanto a argentafinidade está presente nas células enterocromafins do tipo I (estoque de serotonina e substância P) e do tipo II (estoque de serotonina e motilina). Não se conhece exatamente a especificidade dessas técnicas, mas Grimelius e Wilander (1980) discutiram as interações envolvidas na reação argentafim e argirófila. Segundo eles, estudos químicos e histoquímicos revelaram que o produto da reação entre serotonina (5-HT) e aldeído causa a reação argentafim nas células enteroendócrinas. Já a reação das células argirófilas não depende do conteúdo secretório, visto que estudos

ultraestruturais demonstraram a presença de grãos de prata na periferia dos grânulos e não no centro. Solcia et al., (1975) sugeriram que o ácido sialoglicopeptídeo com suas ligações β -glicosídicas, contribuem para a argirofilia dos grânulos secretores das células enteroendócrinas.

Nesta revisão, percebeu-se maior frequência de células do tipo aberto no intestino dos répteis (Suganuma et al., 1981; Kanou, 1984; Dehlawi & Zaher, 1989; Ahmed et al., 2009; Ferri et al., 1976; Perez-Tomas et al., 1990; Çakici & Akat, 2013; Rodrigues-Sartori, 2014). As células do “tipo aberto” possuem prolongamento apical que alcança o lúmen e assim conseguem detectar pequenas alterações do pH ou da composição do conteúdo intestinal (Dayal et al., 1987). Já as células do “tipo fechado” são encontradas principalmente no corpo e no fundo gástricos (Fujita & Kobayashi, 1977) e respondem à distensão ou à estimulação humoral (Dayal et al., 1987). Segundo Falkmer (1993), o sistema nervoso é mais primitivo que o endócrino, sendo encontrado em grande parte dos animais primitivos como os celenterados. A próxima etapa na evolução é o aparecimento de células endócrinas do “tipo aberto” na mucosa do trato alimentar, presentes em muitos invertebrados, tanto protostômios quanto deuterostômios, e elas tornam-se mais diversificadas nos vertebrados, com o surgimento das células do “tipo fechado”. De acordo com Falkmer (1993), desde os peixes ósseos até os mamíferos, as alterações filogenéticas a respeito do sistema endócrino têm sido mais quantitativas que qualitativas.

Análises histomorfométricas têm sido feitas para averiguar a frequência das células enteroendócrinas em mamíferos (Montanholi et al., 2013; Seyyedini & Nazem, 2017; Santos, 2013; Carrasacal Velasquez, 2002^{A,B}), mas poucas têm sido feitas em répteis (Lee & Ku, 2004; Çakici & Akat, 2013) e, quando realizadas, geralmente é de modo impreciso, sem quantificar de fato o número de células. A quantificação de estruturas relevantes, sejam as células enteroendócrinas ou outros tipos celulares e constituintes parietais, é interessante para comparação das espécies e entendimento da evolução do sistema digestório, assim como também para correlações com aspectos funcionais e da dieta.

Embora poucos dos trabalhos analisados tenham pesquisado neuropeptídeos, análises imunohistoquímicas também podem ser úteis para averiguar neuropeptídeos do sistema nervoso entérico (Reinecke et al., 1981; Scheuermann, 1991; Reinecke et al., 1991; Holmgren, 1995; Morescalchi et al.,

1997) e contribuir para o entendimento da evolução do sistema neuro-endócrino. De acordo com LeRoith e Roth (1984), os peptídeos e as aminas biogênicas foram os primeiros mensageiros químicos utilizados para comunicação intercelular. Dentre estes mensageiros, alguns estão presentes exclusivamente em células enteroendócrinas, a exemplo da gastrina, secretina e glucagon, enquanto outros também são encontrados em neurônios entéricos, a exemplo da somatostatina, motilina e neurotensina (Polak et al., 1993). Desta forma, estudos tem buscado averiguar as interrelações estruturais e funcionais entre células endócrinas e neurônios, constituintes do sistema neuro-endócrino difuso (Delellis e Dayal, 1992, Trandaburu et al., 2006).

A identificação de células enteroendócrinas no intestino de répteis por microscopia eletrônica de transmissão, embora menos frequente, permite a caracterização dos grânulos secretores (Jeon et al., 1986; Perez-Tomas et al., 1989^a; Burrell, et al., 1992), além de ser útil para detalhar os demais tipos celulares do epitélio (Ferri et al., 1976; Martin-Lacave et al., 1982; Kanou, 1984; Perez-Tomas et al., 1990). Assim, diferentes células calciformes conforme características dos seus grânulos secretores, foram identificadas no intestino de alguns espécies de lagartos (Martin-Lacave et al., 1982^b; Kanou, 1984), além de células de Paneth em *Lacerta lepida* e *Lacerta hispanica* (Martin-Lacave, 1982^a).

A microscopia eletrônica de varredura, por sua vez, é interessante para observação dos relevos do revestimento interno do trato digestório (Kanou, 1984; Herrel et al., 1998; Beisser et al., 2004; Shalaby; 2012; Rodrigues-Sartori et al., 2014), permitindo, por exemplo, distinguir pregas e vilosidades. Embora no intestino delgado da maioria dos répteis não existam vilosidades, e sim dobras altas semelhantes às vilosidades (Ferri et al., 1976; Martin-Lacave et al., 1982; Yamada et al., 1987; Perez-Tomas et al., 1990, Burrell, et al., 1991; George et al., 1998; Rodrigues-Sartori et al, 2014), a presença de vilosidades foi relatada para algumas espécies como, *Lacerta viridis* (Reinecke et al., 1980), *Coluber florulentus* (Dehlawi & Zaher, 1989), *Varanus niloticus* (Ahmed et al., 2009), *Laudakia stellerio* (Shalaby, 2012) e *Ophisops elegans* (Çakici & Akat, 2013). Notamos que estudos por meio de microscopia eletrônica de varredura, são necessários para elucidar a complexidade dos relevos intestinais, que podem estar relacionados com alimentação ou com a evolução das espécies.

Como vimos nos resultados da nossa revisão, as características das mucinas no trato alimentar de répteis têm sido amplamente estudadas por meio de métodos histoquímicos clássicos (Suganuma et al., 1981; Madrid et al., 1989 e Çakici & Akat, 2013). Embora as lectinas demonstrem ser ferramentas específicas e confiáveis para investigar a distribuição de glicoconjugados, tendo sido amplamente utilizadas para estudar as glicoproteínas (mucinas) do sistema digestivo humano (Vecchi et al., 1987, Calderó et al., 1989) e de vertebrados em geral (Strobel et al., 2015; Miki et al., 2017; Bakke et al., 2014), somente um trabalho com lectinas no trato intestinal de répteis foi realizado (Perez-Tomas et al., 1990). Até onde se sabe, o muco produzido nos intestinos dos répteis é geralmente misto, contendo glicoconjugados ácidos e neutros (Ahmed et al., 2009; Shalaby, 2012; Rodrigues-Sartori, 2014), entretanto em alguns répteis foram observados somente glicoconjugados ácidos (Suganuma et al., 1981; Madrid et al., 1989) ou neutros (Burrell et al., 1991; Al-Thani & El-Sherif, 1996; Çakici & Akat, 2013). Além da função lubrificante, os glicoconjugados neutros podem proteger a mucosa intestinal do quimo ácido (Duellman & Trueb, 1985) e os glicoconjugados ácidos parecem. As funções das mucinas dependem da sua natureza (Madrid et al., 1989; Ferri et al., 1999; Çakici & Akat, 2013; Rodrigues-Sartori et al., 2014), de modo que desvendar a complexidade das mucinas e seu papel no trato digestório de répteis dependerá de mais análises, em especial com lectinas.

A partir desta revisão sistemática foi possível concluir que existe uma grande variação entre a qualidade e quantidade de dados gerados nos trabalhos, tendo em vista principalmente que muitos deles são antigos e tinham limitações metodológicas da época. Embora os trabalhos atuais tenham detalhado cada vez mais as células e suas estruturas, utilizando técnicas de microscopia eletrônica e imunomarcações, análises importantes como a descrição anatômica e histomorfométricas tem sido negligenciadas, o que coloca a evidência científica em alto risco de viés. A falta de licença e/ou permissões éticas na grande maioria dos trabalhos não necessariamente é um problema, pois a legislação vai depender de cada país e época em que foi executado o estudo. A maioria dos trabalhos morfológicos tem se restringido a descrever qualitativamente os resultados e, quando fazem alguma medição, é de forma relativa, sem quantificação precisa e sem usar métodos estatísticos. Informações importantes têm faltado na maioria dos trabalhos a respeito dos

animais utilizados, inclusive sobre tamanho e peso corporais e o seu estado alimentar. Levando em consideração que a má qualidade dos relatórios nem sempre reflete a qualidade da investigação efetivamente realizada, esperamos que a nossa análise crítica possa ajudar a nortear as pesquisas descritivas do trato digestório de répteis para reduzir o viés metodológico, melhorando a confiabilidade e generalização dos resultados. Além disto, acreditamos que a análise realizada neste trabalho nos permitiu sugerir que as ferramentas morfológicas utilizadas atualmente se mostram eficazes para fazer uma descrição mais acurada e eficaz do trato digestório destes animais, desde que sejam utilizadas associadas e de forma complementar, pois só assim seria possível relacionar a morfologia com a fisiologia e evolução deste sistema na classe Reptília.

5. REFERÊNCIAS

- Ahmed YA, El-Hafez AAE, Zayed AE, 2009. Histological and histochemical studies on the esophagus, stomach and small intestines of *Varanus niloticus*. *J. Vet. Anat.*, 2, 35-48.
- Aleixo VM, Pressinoti LN, Campos DVS, Menezes-Aleixo RC, Ferraz RHS, 2011. Histologia, histoquímica e histometria do intestino de jacaré-do-Pantanal criado em cativeiro. *Pesq. Vet. Bras.* 31 (12): 1120-1128.
- Almeida WM, Fraga KB, Aguiar Junior FCA, Magalhães CP, 2016. Análise histológica do trato intestinal do *Caracara plancus* (Miller, 1777). *Cienc. anim. bras.*, Goiânia, v.17, n.3, 425-434.
- Al-Thani AS, El-Sherif G, 1996. Histological and histochemical study of the digestive tract of the worm-like reptile, *Diplometopon zarudnyi* (Squamata). *Qatar Univ. Sci. J.*, 16, 113-117.
- Alves A, 2000. Histopathological analysis: reasons for delayed results. Congresso de Ciências Veterinárias [Proceedings of the Veterinary Sciences Congress, 2002], SPCV, Oeiras, 10-12 Out., 239-247.
- Bakke AM, Chikwati EM, Venold FF, Sahlmann C, Holm H, et al., 2014. Bile enhances glucose uptake, reduces permeability, and modulates effects of lectins, trypsin inhibitors and saponins on intestinal tissue. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 168, 96–109.
- Barboza PS, 1995. Digesta passage and functional anatomy of the digestive tract in the desert tortoise (*Xerobates agassizii*). *Comp. Physiol. B*, 165, 193-220.
- Beisser JC, Lemell P, Weisgram J, 2004. The dorsal lingual epithelium of *Rhinoclemmys pulcherrima incisa* (Chelonia, Cryptodira). *Anatomical Record* 277A: 227-235.
- Borges RM, 2014. Descrição histológica e ultra-estrutural da absorção de óleo de soja pelo intestino do jacaré do Pantanal (Caiman yacare, Daudin 1802). Tese de Doutorado. São Paulo, SP, USP.131.
- Burrell MA, Villaro AC, Rindi G, Solcia E, Polak JM, Sesma P, 1991. A histological and immunocytochemical study of the neuroendocrine cells in the intestine of *Podarcis hispânica* Steindachner, 1870 (Lacertidae). *Cell Tiss. Res.*, 263, 549-556.
- Burrell MA, Villaro AC, Sesma P, 1992. Evidence for the Colocalization of Gastrin/CCK- and PYY/PP-Immunoreactive Substances in the Small Intestine of the Lizard *Podarcis hispanica*: Immunocytochemical and Ultrastructural Study. *General and Comparative Endocrinology* 88, 40-49.
- Calderó J, Campo E, Ascaso C, Ramos J, Panadés MJ et al., 1989. Regional distribution of glycoconjugates in normal, transitional and

neoplastic human colonic mucosa. A histochemical study using lectins. *Virchows Archiv A* July, Volume 415, Issue 4, 347–356.

Çakici O, Akat E, 2013. Some histomorphological and histochemical characteristics of the digestive tract of the snake-eyed lizard, *Ophisops elegans* Menetries, 1832 (Squamata: Lacertidae). *North-Western Journal of Zoology* 9 (2): 257- Article No.: 131507.

Carrascal Velasquez JC, Fonseca CC, D Paula TR, Menin E, 2002a. Estudo histológico e histoquímico da região pilórica do estômago da Capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*). En: *Brasil Biotemas ISSN: 0103-1643 ed: v.15 fasc.83-95*.

Carrascal Velasquez JC, 2002b. Estudos histológico e histoquímico do tubo digestivo, fígado e pâncreas de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) adultas, Linnaeus, 1766 (Mammalia, Rodentia, Hydrichaeidae)." . En: *Brasil Revista Brasileira: Revista de Ciências Veterinárias e Zoológicas da UNIPAR ISSN: 0 ed: v.V 5 n. fasc. p.265-266*.

Certad G, Dupouy-Camet J, Gantois N, Hammouma-Ghelboun O, Pottier M, et al., 2015. Identification of *Cryptosporidium* Species in Fish from Lake Geneva (Lac Léman) in France. *PLoS One*. 10(7): e0133047.

Choe S, Lim J, Kim H, Kim Y, Lee D et al., 2016. Three Nematode Species Recovered from Terrestrial Snakes in Republic of Korea. *Korean J Parasitol* Vol. 54, No. 2: 205-213.

CONCEA, 2016. Guia Brasileiro de Produção, Manutenção ou Utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica. Fascículo 6: anfíbios e serpentes. 1ª edição.

Dadar M, Alborzi A, Peyghan R, Adel M, 2016. Occurrence and Intensity of Anisakid Nematode Larvae in Some Commercially Important Fish Species in Persian Gulf. *Iran J Parasitol*. 11(2): 239–246.

Dayal Y, Delellis RA, Wolf HJ 1987. Hiperplastic lesion of the gastrointestinal endocrine cells. *Am. J. Surg. Pathol.*, v.11, 87.

Dehlawi GY, Zaher MM, 1989. Histological studies on the alimentary tract of the colubrid snake *Coluber florulentus* (Family Colubridae). *J.K.A.U. Sci.*, 1, 95-112.

Delellis RA, Dayal Y, 1992. Neuroendocrine system. In: STERNBERG SS (Ed), *Histology for pathologists*. New York: Raven Press, USA, 347-362.

Dell RB, Holleran S, Ramakrishnan R, 2002. Sample size determination, *ILAR J* 43: 207-213.

D'Este L, Buffa R, Casu C, Carboni N, Pelagi M, Siccardi AG, Renda T, 1993. Immunohistochemical localization of chromogranin A and B in endocrine cells of the alimentary tract of the adult lizard *Podarcis sicula*. *Cell Tissue Res.*, 273:335-344.

D'Este L, Wimplawansa SJ, Renda TG, 1995. Amylin-Immunoreactivity is Co-Stored in a Serotonin Cell subpopulation of the Vertebrate Stomach and Duodenum. *Arch. Histol. Cytol.*, Vol. 58, No. 5, 537-547.

Duellman W.E, Trueb L, 1986. *Biology of Amphibians*. McGraw-Hill Book Co, New York, NY.

Duellman, W.E. & Trueb, L. (1994). *Biology of amphibians*. Baltimore: Johns Hopkins University Press. 372.

El-Salhy M, Winder E, Lundqvist M, 1985. Comparative study of serotonin-like immunoreactive cells in the digestive tract of vertebrates. *Biomed. Res.*, vol. 6, 371-375.

Fagundes KR, Rotundo MM, Mari RB, 2016. Morphological and histochemical characterization of the digestive tract of the puffer fish *Sphoeroides testudineus* (Linnaeus 1758) (Tetraodontiformes: Tetraodontidae). *An Acad Bras Cienc.* 88(3 Suppl):1615-1624.

Falkmer S, 1993. Phylogeny and ontogeny of the neuroendocrine cells of the gastrointestinal tract. *Endocrinol. Metab. Clin. North American.*, vol.22, n.4, 731-751.

Ferri D, Liquori GE, Scillitani G, 1999. Morphological and histochemical variations of mucous and oxynticopeptic cells in the stomach of the seps, *Chalcides chalcides*. *J. Anat.* 194, 71-77.

Ferri S, Junqueira LC, Medeiros LF, Medeiros LO, 1976. Gross, microscopic and ultrastructural study of the intestinal tube of *Xenodon merremii* Wagler, 1824 (ophidia). *J. Anat.*, 121, 187-233.

Freitas-Ribeiro GM, Fonseca CC, Sartori SRS, Loures-Ribeiro A, Neves CA, 2012. Endocrine cells and nerve ganglia of the small intestine of the Opossum *Didelphis aurita* Wied-Neuwied, 1826 (Mammalia: Didelphidae). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 84(3): 747-757.

Gapp DA, Kenny MP, Polak JM, 1985. The Gastro-Entero-Pancreatic System of the Turtle, *Chrysemys picta*. *Peptides*, Vol. 6. Suppl. 3. 347-352.

George LL, Alves CER, Castro RRL, 1998. *Histologia comparada*. Editora Roca, São Paulo.

Giraud AS, Hunter CR, St John, 1978. Epithelial Surfaces of the Upper Gastrointestinal Tract of the Blue-Tongued Lizard, *Tiliqua scincoides*: A Scanning Electron Microscopic Study. *Amt. J. Zool.*, 26, 241-7.

Greene HW, 1983. Dietary Correlates of the Origin and Radiation of Snakes. *Amer. Zool.*, 23:431-441.

Grimelius L, Wilander E, 1980. Silver stains in the study of endocrine cells of the gut and pancreas. *Invest. Cell. Pathol.*, 3, 3-12.

Guerrero R, Brain O, 2011. Study of types of some species of "Filaria" (Nematoda) parasites of small mammals described by von Linstow and Molin. *Parasite*; 18(2):151-61.

Helmstetter C, Reix N, Flachebba M, Pope RK, Secor SM, et al., 2009. Functional changes with feeding in the gastro-intestinal epithelia of the Burmese python (*Python molurus*). *Zool. Sci.*, 26, 632-638.

Herrel A, Aerts P, De Vree F, 1998. Ecomorphology of the lizard feeding apparatus: A modelling approach. *Netherlands Journal of Zoology*, 48 (1): 1-25.

Holmgren S, 1995. Neuropeptide control of the cardiovascular system in fish and reptiles. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 28(11-12):1207-16.

Hooijmans CR, Vries R, Leenaars M, Curfs J, Ritskes-Hoitinga M, 2011. Improving planning, design, reporting and scientific quality of animal experiments by using the Gold Standard Publication Checklist, in addition to the ARRIVE Guidelines. *Br J Pharmacol.* Mar; 162(6): 1259–1260.

Huang XG, Wu XB, 2006. Immunohistochemical study on gastrointestinal endocrine cells of four reptiles. *World J Gastroenterol* 2005;11(35):5498-5505.

Iglesias S, Tracy CR, Bedford GS, McWhorter TJ, Christian KA, 2009. Seasonal effects on intestinal enzyme activity in the Australian agamid lizard, *Lophognathus temporalis*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B* 153 (2009) 89–94.

Jeon CJ, Lee JH, Lee CE, 1986. Electron microscopic study on the endocrine cells in the stomach and duodenum of the pond tortoise (*Amyda sinensis*). *Korean J. Electron Microscopy*, vol. 16, n.2.

Jin SM, Maruch SMG, Rodrigues MAM, Pacheco P, 1990. Histologia geral dos intestinos de *Caiman crocodilus yacare* (Crocodylia: Reptilia), *Rev. Bras. Zool.*, 7, 111-120.

Kanou T, 1984. Morphological studies of mucous membrane of the small intestine of vertebrates with an emphasis on comparative anatomy. *Kawasaki Med. J.* Vol. 10, N. 1, 49-61.

Karasov WH, Hume ID, 1997. The vertebrate gastrointestinal system. Pp. 407-480 in *Handbook of Physiology, Section 13: Comparative Physiology*, Vol. 1, edited by W. H. Dantzler, Oxford University Press, New York.

Kim YS, Gum JR Jr., 1995. Diversity of mucin genes, structure, function, and expression. *Gastroenterology*. Sep;109(3):999-1001.

- Kotzé SH, Van der Merwe NJ, Van Aswegen G, Smith GA, 1992. A light microscopical study of the intestinal tract of the Nile crocodile (*Crocodylus niloticus*, Laurenti 1768). *Onderstepoort J. Vet. Res.* 59(4):249-252.
- Ku SK, Lee HS, Lee JH, Park KD, 2001. An Immunohistochemical Study on the Endocrine Cells in the Alimentary Tract of the Red-Eared Slider (*Trachemys scripta elegans*). *Anat. Histol. Embryol.* 30, 33-39.
- Lee HS, Ku SK, 2003. An immunohistochemical study of endocrine cells in the alimentary tract of the grass lizard, *Takydromus wolteri Fischer* (Laceridae). *Acta histochemica* 106 (2004) 171–178.
- LeRoith D, Roth J, 1984. Vertebrate hormones and neuropeptides in microbes: evolutionary origins of intercellular communication. *Frontiers in Neuroendocrinology* 8: 1-25.
- Lignot JH, Helmstetter C, Secor SM, 2005. Postprandial morphological response of the intestinal epithelium of the Burmese python (*Python molurus*). *Comp. Biochem. Physiol A* 141 280-291.
- Luppa H, 1977. Histology of the digestive tract. In: C. Gans & T.S. Parsons (Eds.) *Biology of the Reptilia*, 225-302. Academic Press, London.
- Mackie RI, Rycyk M, Ruemmler RL, Aminov RI, Wikelski M, 2004. Biochemical and Microbiological Evidence for Fermentative Digestion in Free-Living Land Iguanas (*Conolophus pallidus*) and Marine Iguanas (*Amblyrhynchus cristatus*) on the Galápagos Archipelago. *Physiological and Biochemical Zoology*, Vol. 77, No. 1, 127-138.
- Mader DR, 2005. *Reptile Medicine and Surgery*, 2e 2nd Edition. Elsevier, 148, Editado por Stephen J. Divers, Douglas R. Mader.
- Madrid JF, Ballesta J, Pastor LM, Perez-Tomas R, Hernandez F, 1989. Distribution of mucins in the mucosa of the digestive tract of reptiles: a histochemical study. *Acta histochem.* 85, 117-129.
- Magalhães MS, Freitas, ML, Silva NB, Moura CEB, 2010. Morfologia do tubo digestório da tartaruga verde (*Chelonia mydas*). *Pesq. Vet. Bras.* 30(8):676-684.
- Martin-Lacave I, Montero C, Lopez-Muñoz JM, Hevia A, Galera H, 1982a. Comparative Histological Study of the Small Intestine in Lizards (Reptilia). *Zbl. Vet. Med. C. Anat. Histol. Embryol.* 11, 343-355.
- Martin-Lacave I, Montero C, López-Muñoz JM, López-Campos JL, Galera H, 1982b. Ultrastructural study of the epithelial mucous cells in lizards (*Lacertilia*). *Cell Tissue Res*, 221:679-686.
- McGrath JC, Lilley E, 2015. Implementing guidelines on reporting research using animals (ARRIVE etc.): new requirements for publication in *BJP.Br J Pharmacol.* Jul;172(13):3189-93.

- Miki T, Goto R, Fujimoto M, Okada N, Hardt WD, 2017. The Bactericidal Lectin RegIII β Prolongs Gut Colonization and Enteropathy in the Streptomycin Mouse Model for *Salmonella* Diarrhea. Volume 21, Issue 2, 195–207.
- Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, The PRISMA Group, 2009. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. PLoS Medicine, July, Volume 6, Issue 7.
- Montanholi Y, Fontoura A, Swanson K, Coomber B, Yamashiro S, et al., 2013. Small intestine histomorphometry of beef cattle with divergent feed efficiency. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 55:9.
- Morescalchi AM, Gaccioli M, Faraldi G, Tagliafierro G, 1997. The gastro-enteric-pancreatic neuroendocrine system in two reptilian species: *Chalcides chalcides* and *Zoonosaurus madascariensis* (Sauridae). *Eur J Histochem*. 41(1):29-40.
- Navega-Gongalves MEC, 2009. Anatomia visceral comparada de seis espécies de Amphisbaenidae (Squamata: Amphisbaenia). *Zool.*, 26, 511-526.
- Naya DE, Veloso C, Sabat P, Bozinovic F, 2009. Seasonal Flexibility of Organ Mass and Intestinal Function for the Andean Lizard *Liolaemus nigroviridis*. *Journal of Experimental Zoology* 311^a: 270-277.
- Pearse AGE, Polak JM, Bloom SR, Adams C, Dryburgh JR et al., Enterochromaffin Cells of the Mammalian Small Intestine as the Source of Motilin. *Virchows Arch. B Cell Path.* 16, 111-120.
- Pereira JG, 2000. Estudos histológico e histoquímico do tubo digestivo e do pâncreas do *Kinosternon scorpioides* Linnaeus, 1766 (*Reptilia, Chelonia, Kinosternidae*), *muçua*. Dissertação de Mestrado. Viçosa, MG, UFV. .
- Perez-Tomas R, Ballesta J, Pastor LM, Madrid JF, Polak JM, 1989. Comparative immunohistochemical study of the gastroenteropancreatic endocrine system of three reptiles. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 76, 171-191.
- Perez-Tomas R, Ballesta J, Madrid JF, Pastor LM, Hernandez F, 1990. Histochemical and ultrastructural study of the digestive tract of the tortoise *Testudo graeca* (Testudines). *J Morphol* 204, 235-245.
- Perez-Tomas R, Ballesta J, Pastor LM, Hernandez F, 1989. Ultrastructural study of the endocrine cells of the gut of *Testudo graeca* (Chelonia). *Anat Embryol*, 180:103-108.
- Pires MA, Travassos FS, Gärtner F, 2004. Atlas de Patologia Veterinária; Lidel; Porto; 157-171.
- Polak JM, Bishop AE, Barbosa AJA, Bloom SR, 1993. Hormônios gastrointestinais. In: DANI, R.; CASTRO, L. P. (Ed). *Gastroenterologia clínica*. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1446-1465.

Polak JM, Van Noorden S, 2003. Introduction to immunocytochemistry. Oxford: BIOS Scientific Publishers.

Pough FH, 1983. Amphibians and reptiles as low-energy systems. In: Aspey, W.P., Lustick, S.I. Eds., *Ž*. Behavioral Energetics: the Cost of Survival in Vertebrates. Ohio State Press, Columbus, OH, 141-188.

Reinecke M, Almasan K, Carraway R, Helmstaedter V, Forssmann WG, 1980. Distribution Patterns of Neurotensin-like Immunoreactive Cells in the Gastro-intestinal Tract of Higher Vertebrates. *Cell Tissue Res.* 205, 383-395.

Reinecke M, Höög A, Östenson CG, Efendic S, Grimelius S, et al., 1991. Phylogenetic Aspects of Pancreastatin- and Chromogranin-like Immunoreactive Cells in the Gastro-Entero-Pancreatic Neuroendocrine System of Vertebrates. *General and Comparative Endocrinology* 83, 167-182.

Reinecke M, Schlüter, Yanaihara N, Forssmann WG, 1981. VIP Immunoreactivity in Enteric Nerves and Endocrine Cells of the Vertebrate Gut. *Peptides*, Vol. 2, Suppl. 2, 149-156.

Rhodes, JM, Black RR, Gallimore R, Savage A, 1985. Histochemical demonstration of desialitation on desulphation of normal and inflammatory bowel disease rectal mucus by faecal extracts. *Gut.* 26: 1312-1318.

Rodrigues SS, Fonseca CC, das Neves MTD, 2006. Células endócrinas do sistema gastroenteropancreático: conceitos, distribuição, secreções, ação e controle. *Arq ciên vet zool UNIPAR*, 8(2): 171-180.

Rodrigues-Sartori SS, Nogueira KOPC, Rocha AS, Neves CA, 2014. Functional morphology of the gut of the tropical house gecko *Hemidactylus mabouia* (Squamata: Gekkonidae). *Animal Biology* 64, 217-237.

Sahd L, Pereira DL, Bennett NC, Kotzé1 SH, 2017. Comparative gastrointestinal morphology of *Tachyoryctes splendens* (Rüppell, 1835) and *Heliophobius emini*, (Noack, 1894) two species of East African mole-rats. *Journal of Morphology*; 1-11.

Santos DCM, Cupertino MC, Novaes RD, Soares IAC, Fonseca CC, Matta SLP, Rodrigues-Sartori SS, 2013. Morphologic characterization and distribution of endocrine cells in the large intestine of the opossum *Didelphis aurita* (Wied-Neuwied, 1826). *Tissue and Cell* 45, 338– 349.

Santos GC, Zucoloto S, 1996. Células endócrinas gastrointestinais: breve histórico e principais métodos de identificação à microscopia óptica. *Arq. Gastroenterol*, v. 33, n.1, 36-44.

Santos RT, 2012. Anatomia, Histologia e Morfometria do estômago do gambá *Didelphis aurita* (Wied-Neuwied, 1826). Dissertação de Mestrado. Viçosa, MG, UFV.

Scheuermann DW, Gabriel R, Timmermans JP, Adriaensen D, Groodt-Lasseel MHA, et al., 1991. Distribution of neuropeptides in the enteric nervous system of a chelonian reptile, *Pseudemys scripta elegans*. *Anatomischer Anzeiger: Ergänzungsheft*; 172, p. 283.

SEBBEN A, 2007. Microdissecação fisiológica a fresco: uma nova visão sobre a anatomia de anfíbios e répteis. In: Nascimento, L. B. & Oliveira, M. E. (eds.) (Org.) *Herpetologia no Brasil II*. 1. ed. Belo Horizonte (MG): Sociedade Brasileira de Herpetologia, v. 1, 311-325.

Secor SM, 2005. Evolutionary and Cellular Mechanisms Regulating Intestinal Performance of Amphibians and Reptiles. *Integr. Comp. Biol.* 45:282–294.

Secor SM, Diamond J, 1995. Adaptive response to feeding in Burmese pythons, pay before pumping. *J. Exp. Biol.* 198, 13131325.

Secor SM, Diamond J, 1997. Determinants of postfeeding metabolic response in Burmese pythons, *Python molurus*. *Physiol. Zool.* 70, 202212.

Secor SM, Diamond J, 1999. The maintenance of digestive performance in the turtles *Chelydra serpentina*, *Sternotherus odoratus*, and *Trachemys scripta*. *Copeia* 1999, 7584.

Secor SM, Diamond J, 2000. Evolution of regulatory responses to feeding in snakes. *Physiol. Biochem. Zool.* 73, 123141.

Secor SM, Phillips JA, 1997. Specific dynamic action of a large carnivorous lizard, *Varanus albigularis*. *Comp. Biochem. Physiol.* 117A, 515522.

Secor SM, Stein ED, Diamond J, 1994. Rapid up-regulation of snake intestine in response to feeding: a new model of intestinal adaptation. *Am. J. Physiol.* 266, G695G705.

Seyyedini S, Nazem MN, 2017. Histomorphometric study of the effect of methionine on small intestine parameters in rat: an applied histologic study. *Folia Morphol (Warsz)*. May, doi 10.5603/FM.a2017.0044.

Shalaby SY, 2012. Anatomical, histological, and scanning electron microscopic Studies of the alimentary canal of *Laudakia stellio* (Agamidae). *Egypt. J. Exp. Biol. (Zool.)*, 8(1): 1-7.

Shimo S, Saitoh S, Saitoh Y, Ohno N, Shinichi Ohno S, 2015. Morphological and immunohistochemical analyses of soluble proteins in mucous membranes of living mouse intestines by Cryotechniques. *Microscopy*, 189–203.

Sjolund K, Sanden G, Hakanson R, Sundler F. Endocrine cells in human intestine: an immunocytochemical study. *Gastroenterology*; 85:1120-1130.

Sikan D, 2001. Development of the digestive tract of poultry. *World's Poultry Science Journal*, Vol. 57.

Smith D, Dobson H, Spence E, 2001. Gastrointestinal studies in the Green iguana: technique and reference values. *Veterinary Radiology & Ultrasound*. 42(6): 515-520.

Solcia E, Capella C, Vassallo G, Buffa R, 1975. Endocrine cells of the gastric mucosa. *International Review of Cytology*, 42, 223-286.

Starck JM, Beese K, 2002. Structural flexibility of the small intestine and liver of garter snakes in response to feeding and fasting. *The Journal of Experimental Biology* 205, 1377-1388.

Stevens CE, Hume ID, 1988. Contributions of Microbes in Vertebrate Gastrointestinal Tract to Production and Conservation of Nutrients. *Physiol. Rev.*, 78, 393-427.

Strobel S, Encarnação JA, Becker NI, Trenczek TE, 2015. Histological and histochemical analysis of the gastrointestinal tract of the common pipistrelle bat (*Pipistrellus pipistrellus*). *European Journal of Histochemistry*; volume 59:2477.

Suganuma T, Katsuyama T, Tsukahara M, Tatamatsu M, Sakakura Y et al., 1981. Comparative Histochemical Study of Alimentary Tracts With -Special Reference to the Mucous Neck Cells of the Stomach. *The American Journal of Anatomy*, 161:219-238.

Tarakçi BG, Koprucu SS, Yaman M, 2005. An immunohistochemical study on the endocrine cells in the gastrointestinal tract of the freshwater turtle, *Mauremys caspica caspica*. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 29, 581-587.

Tellez M, Nifong J, 2014. Gastric nematode diversity between estuarine and inland freshwater populations of the American alligator (*Alligator mississippiensis*, daudin 1802), and the prediction of intermediate hosts. *Int J Parasitol Parasites Wildl.* 4; 3(3):227-35.

Torlakovic EE, Riddell R, Banerjee D, et al., 2010. Canadian Association of Pathologists–Association canadienne des pathologistes National Standards Committee/Immunohistochemistry Best Practice Recommendations for Standardization of Immunohistochemistry Tests. *Am J Clin Pathol.* Vol 133(3):354-365.

Trandaburu T, Trandaburu I, 2006. Serotonin (5-hydroxytryptamine, 5-HT) immunoreactive endocrine and neural elements in the chromaffin enteropancreatic system of amphibians and reptiles. *Acta Histochemica* Volume 109, Issue 3, 18 June, 237-247.

Vecchi M, Torgano G, Monti M, Berti E, Agape D, et al., 1987. Evaluation of structural and secretory glycoconjugates in normal human jejunum by means of lectin histochemistry. *Histochemistry* July, Volume 86, Issue 4, 359–364.

Wolf D, Vrhovec MG, Failing K, Rossier C, Hermosila C, 2014. Diagnosis of gastrointestinal parasites in reptiles: comparison of two coprological methods. *Acta Vet Scand.* 56(1): 44.

Yamada J, Campos VJM, Kitamura N, Pacheco AC, Yamashita T, et al., 1987. An immunohistochemical study of the endocrine cells in the gastrointestinal mucosa of the *Caiman latirostris*. *Arch Histol Jap* 50: 229-241.

Zug GR, 1993. *Herpetology: An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles*. San Diego, CA: Academic Press Inc.

6. MATERIAL SUPLEMENTAR

(S.1) Filtros Scopus e PubMed

Filtro Scopus 03-06-16 (16:22:23)

```
(( (TITLE-ABS-KEY ("gastrointestinal tract") OR TITLE-ABS-KEY ("mouth") OR TITLE-ABS-KEY ("pharynx") OR TITLE-ABS-KEY ("stomach") OR TITLE-ABS-KEY ("gastric fundus") OR TITLE-ABS-KEY ("intestine, small") OR TITLE-ABS-KEY ("duodenum") OR TITLE-ABS-KEY ("jejunum") OR TITLE-ABS-KEY ("ileum") OR TITLE-ABS-KEY ("intestine, large") OR TITLE-ABS-KEY ("colon") OR TITLE-ABS-KEY ("rectum") OR TITLE-ABS-KEY ("cloaca") OR TITLE-ABS-KEY ("pancreas") OR TITLE-ABS-KEY ("liver") OR TITLE-ABS-KEY ("gallbladder") OR TITLE-ABS-KEY ("muscles") OR TITLE-ABS-KEY ("salivary glands") OR TITLE-ABS-KEY ("parotid gland") OR TITLE-ABS-KEY ("sublingual gland") OR TITLE-ABS-KEY ("submandibular gland") OR TITLE-ABS-KEY ("von ebner glands") OR TITLE-ABS-KEY ("lip") OR TITLE-ABS-KEY ("tooth") OR TITLE-ABS-KEY ("parietal cells, gastric") OR TITLE-ABS-KEY ("goblet cells") OR TITLE-ABS-KEY ("enterocytes") OR TITLE-ABS-KEY ("endocrine cells") OR TITLE-ABS-KEY ("apud cells") OR TITLE-ABS-KEY ("neuroendocrine cells") OR TITLE-ABS-KEY ("enterochromaffin cells") OR TITLE-ABS-KEY ("cell line") OR TITLE-ABS-KEY ("enterochromaffin-like cells") OR TITLE-ABS-KEY ("paneth cells") OR TITLE-ABS-KEY ("peyer's patches") OR TITLE-ABS-KEY ("brunner glands") OR TITLE-ABS-KEY ("mucous membrane") OR TITLE-ABS-KEY ("epithelium") OR TITLE-ABS-KEY ("intestinal mucosa") OR TITLE-ABS-KEY ("hepatocytes") OR TITLE-ABS-KEY ("enteric nervous system") OR TITLE-ABS-KEY ("myenteric plexus") OR TITLE-ABS-KEY ("submucous plexus") OR TITLE-ABS-KEY ("anatomy") OR TITLE-ABS-KEY ("histology") OR TITLE-ABS-KEY ("histology, comparative"))) AND ((TITLE-ABS-KEY ("hormones") OR TITLE-ABS-KEY ("peptide hormones") OR TITLE-ABS-KEY ("receptors gastrointestinal hormone") OR TITLE-ABS-KEY ("amines") OR TITLE-ABS-KEY ("secretin") OR TITLE-ABS-KEY ("gastrins") OR TITLE-ABS-KEY ("cholecystokinin") OR TITLE-ABS-KEY ("motilin") OR TITLE-ABS-KEY ("glucagon-like peptides") OR TITLE-ABS-KEY ("insulin") OR TITLE-ABS-KEY ("somatostatin") OR TITLE-ABS-KEY ("serotonin") OR TITLE-ABS-KEY ("histamine") OR TITLE-ABS-KEY ("glucagon like peptides") OR TITLE-ABS-KEY ("bombesin") OR TITLE-ABS-KEY ("ghrelin") OR TITLE-ABS-KEY ("acetylcholine") OR TITLE-ABS-KEY ("norepinephrine") OR TITLE-ABS-KEY ("gastrin releasing peptide") OR TITLE-ABS-KEY ("leptin") OR TITLE-ABS-KEY ("enzymes") OR TITLE-ABS-KEY ("pepsin") OR TITLE-ABS-KEY ("trypsin") OR TITLE-ABS-KEY ("pepsinogens") OR TITLE-ABS-KEY ("trypsinogen") OR TITLE-ABS-KEY ("chymotrypsinogen") OR TITLE-ABS-KEY ("chymotrypsin") OR TITLE-ABS-KEY ("carboxypeptidases") OR TITLE-ABS-KEY ("aminopeptidases") OR TITLE-ABS-KEY ("endopeptidases") OR TITLE-ABS-KEY ("exopeptidases") OR TITLE-ABS-KEY ("enteropeptidase") OR TITLE-ABS-KEY ("lipase") OR TITLE-ABS-KEY ("amylases") OR TITLE-ABS-KEY ("disaccharidases") OR TITLE-ABS-KEY ("lactase") OR TITLE-ABS-KEY ("sucrase") OR TITLE-ABS-KEY ("chitinase") OR TITLE-ABS-KEY ("cellulase") OR TITLE-ABS-KEY ("microbiota") OR TITLE-ABS-KEY ("gastrointestinal microbiome") OR TITLE-ABS-KEY ("secretions") OR TITLE-ABS-KEY ("digestion") OR TITLE-ABS-KEY ("gastric juice") OR TITLE-ABS-KEY ("bile") OR TITLE-ABS-KEY ("bile acids and salts") OR TITLE-ABS-KEY ("mucus") OR TITLE-ABS-KEY ("mucins") OR TITLE-ABS-KEY ("bicarbonates") OR TITLE-ABS-KEY ("gastric acid") OR TITLE-ABS-KEY ("lactoferrin") OR TITLE-ABS-KEY ("muramidase") OR TITLE-ABS-KEY ("anti-infective agents") OR TITLE-ABS-KEY ("immunoglobulin a"))) AND ((TITLE-ABS-KEY ("histology") OR TITLE-ABS-KEY ("anatomy") OR TITLE-ABS-KEY ("microscopy") OR TITLE-ABS-KEY ("microscopy, electron, transmission") OR TITLE-ABS-KEY ("microscopy, electron, scanning") OR TITLE-ABS-KEY ("histocytochemistry") OR TITLE-ABS-KEY ("immunohistochemistry") OR TITLE-ABS-KEY ("antibodies") OR TITLE-ABS-KEY ("periodic acid-schiff reaction") OR TITLE-ABS-KEY ("alcian blue")))) AND ((TITLE-ABS-KEY ("Testudines") OR TITLE-ABS-KEY ("Cryptodira") OR TITLE-ABS-KEY ("Pleurodira") OR TITLE-ABS-KEY ("Rhynchocephalia") OR TITLE-ABS-KEY ("Lepidosauria") OR TITLE-ABS-KEY ("Sphenodontida") OR TITLE-ABS-KEY ("Squamata") OR TITLE-ABS-KEY ("Lacertilia") OR TITLE-ABS-KEY ("Iguania") OR TITLE-ABS-KEY ("Gekkota") OR TITLE-ABS-KEY ("Scincomorpha") OR TITLE-ABS-KEY ("Diploglossa") OR TITLE-ABS-KEY ("Platynota") OR TITLE-ABS-KEY ("Amphisbaenia") OR TITLE-ABS-KEY ("Ophidia") OR TITLE-ABS-KEY ("Crocodylia") OR TITLE-ABS-KEY ("Eusuchia"))))
```

(S.1) – Filtro PubMed

Filtro PubMed 03-06-2016 (16:22:23)

((("gastrointestinal tract"[MeSH Terms] OR "mouth"[MeSH Terms] OR "pharynx"[MeSH Terms] OR "stomach"[MeSH Terms] OR "gastric fundus"[MeSH Terms] OR "intestine, small"[MeSH Terms] OR "duodenum"[MeSH Terms] OR "jejunum"[MeSH Terms] OR "ileum"[MeSH Terms] OR "intestine, large"[MeSH Terms] OR "colon"[MeSH Terms] OR "rectum"[MeSH Terms] OR "cloaca"[MeSH Terms] OR "pancreas"[MeSH Terms] OR "liver"[MeSH Terms] OR "gallbladder"[MeSH Terms] OR "muscles"[MeSH Terms] OR "salivary glands"[MeSH Terms] OR "parotid gland"[MeSH Terms] OR "sublingual gland"[MeSH Terms] OR "submandibular gland"[MeSH Terms] OR "von ebner glands"[MeSH Terms] OR "lip"[MeSH Terms] OR "tooth"[MeSH Terms] OR "parietal cells, gastric"[MeSH Terms] OR "goblet cells"[MeSH Terms] OR "enterocytes"[MeSH Terms] OR "endocrine cells"[MeSH Terms] OR "apud cells"[MeSH Terms] OR "neuroendocrine cells"[MeSH Terms] OR "enterochromaffin cells"[MeSH Terms] OR "cell line"[MeSH Terms] OR "enterochromaffin-like cells"[MeSH Terms] OR "paneth cells"[MeSH Terms] OR "peyer's patches"[MeSH Terms] OR "brunner glands"[MeSH Terms] OR "mucous membrane"[MeSH Terms] OR "epithelium"[MeSH Terms] OR "intestinal mucosa"[MeSH Terms] OR "hepatocytes"[MeSH Terms] OR "enteric nervous system"[MeSH Terms] OR "myenteric plexus"[MeSH Terms] OR "submucous plexus"[MeSH Terms] OR "anatomy"[MeSH Terms] OR "histology"[MeSH Terms] OR "histology, comparative"[MeSH Terms]) AND ("hormones"[MeSH Terms] OR "peptide hormones"[MeSH Terms] OR "receptors, gastrointestinal hormone"[MeSH Terms] OR "amines"[MeSH Terms] OR "secretin"[MeSH Terms] OR "gastrins"[MeSH Terms] OR "cholecystokinin"[MeSH Terms] OR "motilin"[MeSH Terms] OR "glucagon-like peptides"[MeSH Terms] OR "insulin"[MeSH Terms] OR "somatostatin"[MeSH Terms] OR "serotonin"[MeSH Terms] OR "histamine"[MeSH Terms] OR "bombesin"[MeSH Terms] OR "ghrelin"[MeSH Terms] OR "acetylcholine"[MeSH Terms] OR "norepinephrine"[MeSH Terms] OR "gastrin-releasing peptide"[MeSH Terms] OR "leptin"[MeSH Terms] OR "enzymes"[MeSH Terms] OR "pepsin a"[MeSH Terms] OR "trypsin"[MeSH Terms] OR "pepsinogens"[MeSH Terms] OR "trypsinogen"[MeSH Terms] OR "chymotrypsinogen"[MeSH Terms] OR "chymotrypsin"[MeSH Terms] OR "carboxypeptidases"[MeSH Terms] OR "aminopeptidases"[MeSH Terms] OR "endopeptidases"[MeSH Terms] OR "exopeptidases"[MeSH Terms] OR "enteropeptidase"[MeSH Terms] OR "lipase"[MeSH Terms] OR "amylases"[MeSH Terms] OR "disaccharidases"[MeSH Terms] OR "lactase"[MeSH Terms] OR "sucrase"[MeSH Terms] OR "chitinase"[MeSH Terms] OR "cellulase"[MeSH Terms] OR "microbiota"[MeSH Terms] OR "gastrointestinal microbiome"[MeSH Terms] OR "intestinal secretions"[MeSH Terms] OR "bodily secretions"[MeSH Terms] OR "digestion"[MeSH Terms] OR "gastric juice"[MeSH Terms] OR "bile"[MeSH Terms] OR "bile acids and salts"[MeSH Terms] OR "mucus"[MeSH Terms] OR "mucins"[MeSH Terms] OR "bicarbonates"[MeSH Terms] OR "gastric acid"[MeSH Terms] OR "lactoferrin"[MeSH Terms] OR "muramidase"[MeSH Terms] OR "anti-infective agents"[MeSH Terms] OR "immunoglobulin a"[MeSH Terms])) AND ("histology"[MeSH Terms] OR "anatomy"[MeSH Terms] OR "microscopy"[MeSH Terms] OR "microscopy, electron, transmission"[MeSH Terms] OR "microscopy, electron, scanning"[MeSH Terms] OR "histocytochemistry"[MeSH Terms] OR "immunohistochemistry"[MeSH Terms] OR "antibodies"[MeSH Terms] OR "periodic acid-schiff reaction"[MeSH Terms] OR "alcian blue"[MeSH Terms])) AND ("reptiles"[MeSH Terms] OR "snakes"[MeSH Terms] OR "lizards"[MeSH Terms] OR "alligators and crocodiles"[MeSH Terms] OR "turtles"[MeSH Terms] OR reptile[Tiab] OR reptilia[Tiab] OR reptiles[Tiab] OR snakes[Tiab] OR snake[Tiab] OR lizard[Tiab] OR lizards[Tiab] OR alligator[Tiab] OR alligators[Tiab] OR crocodile[Tiab] OR crocodiles[Tiab] OR turtle[Tiab] OR turtles[Tiab] OR Testudines[Tiab] OR Cryptodira[Tiab] OR Pleurodira[Tiab] OR Rhynchocephalia[Tiab] OR Lepidosauria[Tiab] OR Sphenodontida[Tiab] OR Squamata[Tiab] OR Lacertilia[Tiab] OR Iguania[Tiab] OR Gekkota[Tiab] OR Scincomorpha[Tiab] OR Diploglossa[Tiab] OR Platynota[Tiab] OR Amphisbaenia[Tiab] OR Ophidia[Tiab] OR Crocodylia[Tiab] OR Eusuchia[Tiab]) AND ((Classical Article[ptyp] OR Clinical Trial[ptyp] OR Clinical Study[ptyp] OR Comparative Study[ptyp] OR Review[ptyp] OR systematic[sb] OR Technical Report[ptyp]) AND (English[lang] OR Portuguese[lang] OR Spanish[lang]))

(S.2) Tabela 1.0: Características morfológicas do intestino de répteis

Articles	References Studies	Title	Country	Animal species	Order / suborder / Family	Animal Number	Anesthesia/ Euthanasia	Cells studied	Hormones	Other secretions	Anatomical methods	Processing (inclusion medium: cut thickness)	Histological method (coloration)	Histochemical method	Immunohistochemical methods	Microscopy	Morphometry
1	D'Este, et al., 1995	Amylin-immunoreactivity is co-stored in a serotonin cell subpopulation of the vertebrate stomach and duodenum.	Italy	<i>Podarcis Sicula</i>	Squamata /Sauria /Lacertidae.	5	Ether and perfused via the cardiac ventricle with cold 0.01M phosphate-buffered saline, pH 7.4, followed by 100ml of a cold fixative containing 4% paraformaldehyde (FA), 0.2% picric acid (PA), and 0.35% glutaraldehyde in 0.1M phosphate buffer pH 7.4 (PB).	Endocrine cells	SEC, SER, GAS and CgA	?	?	Paraffin: 5 µm; Gelatin-chrome: frozen 15 µm	Masson	Grimelius silver method	Immuno fluorescence, peroxidase ABC-alkaline phosphatase complex	?	?
2	Burrell, et al., 1991	An histological and immunocytochemical study of the neuroendocrine cells in the intestine of <i>Podarcis hispanica</i> Steindachner, 1870 (Lacertidae)	Spain	<i>Podarcis hispanica</i>	Squamata /Sauria /Lacertidae.	10	Ether	Endocrine cells, absorptive, mucous cells and enteric nerves	SER, CAER, GAS, CCK-8, PYY, PP, NT, SOM, GLP-1, GLU, CCK N-terminal, BOM, SP and VIP.	?	?	Paraffin: 3 µm	HE	PAS and Grimelius silver method	Peroxidase and avidin-biotin	?	?
3	Burrell, et al., 1992	Evidence for the Colocalization of Gastrin/CCK- and PYY/PP-Immunoreactive Substances in the Small Intestine of the Lizard <i>Podarcis</i>	Spain	<i>Podarcis hispanica</i>	Squamata /Sauria /Lacertidae.	6	Ether	Endocrine cells	C-terminal, G/CCK and PYY/PP.	?	?	Resin Epon 812: 1µm	methylene blue and Harris' hematoxylin.	?	Avidin-biotin	MEV and MO	Yes

		hispanica: Immunocytochemical and Ultrastructural Study															
4	Seino et al., 1979	Immunohistochemical localization of somatostatin-containing cells in the intestinal tract: a comparative study.	USA	<i>Anolis carolinensis</i>	Squamata /Sauria /Polychrotidae	4	?	?	SOM	?	?	Paraffin: 4 µm	?	?	peroxidase-antiperoxidase (PAP)	?	?
5	Martin-Lacave et al., 1982A	Comparative histological study of the small intestine in lizards (Reptilia)	Spain	<i>Lacerta lepida</i> ; <i>Lacerta hispanica</i> ; <i>Psammotromus algirus</i> ; <i>Acanthodactylus erythrurus</i>	Squamata /Sauria /Lacertidae.	?	Ether	enterochromaffin	?	?	Yes, observation pleats.	Paraffin: 5 µm Durcupan resin:5 µm	Paraffin: Masson-Hamperl Resin: toluidine blue	?	?	MEV and MO	Yes
6	Lee, H.S. and Ku, S.K., 2004	An immunohistochemical study of endocrine cells in the alimentary tract of the grass lizard, <i>Takydromus wolteri</i> Fischer (Laceridae)	Korea	<i>Takydromus wolteri</i> Fischer	Squamata/Sauria/Lacertidae	5	Phlebotomy from the head	Endocrine cells	BCG, SER, SOM, GAS, CCK-8, GLU, INS, HPP and SEC.	?	?	Paraffin: 3-4 µm	Hematoxylin and eosin	?	peroxidase-antiperoxidase (PAP)	MO	Yes
7	Arena et al., 1990	An immunohistochemical study of endocrine cells of the alimentary tract of the King's skink (<i>Egernia kingii</i>)	Japan	<i>Egernia kingii</i>	Squamata/Lacertilia/Scincidae	5	Overdose of sodium pentobarbitone	Endocrine cells	SOM, GAS, MOT, BPP, APP, GIP, SEC, CCK, GLU, GRP, NT, VIP, LEU, CG, PEP, CHY and SER.	?	?	Paraffin: 6 µm	Hematoxylin and eosin, Masson's trichrome	PAS-AB pH 2.5	Avidin-biotin-peroxidase complex (ABC)	MO	Yes
8	KU et al., 2001	An Immunohistochemical Study on the	Korea	<i>Trachemys scripta elegans</i>	Testudines / Cryptodira	5	Ethyl ether	Endocrine cells	CgA, SER, GAS,	?	?	Paraffin: 3-4 µm	Hematoxylin and	?	peroxidase-antiperoxidase	MO	Yes

		Endocrine Cells in the Alimentary Tract of the Red-Eared Slider (Trachemys scripta elegans)			/ Emydidae				SOM, GLU, CCK-8, BOM, SEC, BPP and VIP.				eosin, Mayer's haematoxylin		oxidase (PAP)		
9	Tarakçı et al, 2005	An Immunohistochemical Study on the Endocrine Cells in the Gastrointestinal Tract of the Freshwater Turtle, <i>Mauremys caspica caspica</i>	Turkey	<i>Mauremys caspica caspica</i>	Testudines / Cryptodira / Geoemydidae.	6	Ethyl ether	Endocrine cells	SER, SOM, GAS, INS, SP, GLU and GRP.	?	?	Paraffin: 7 µm	?	?	peroxidase-antiperoxidase (PAP) or Avidin-biotin-peroxidase complex (ABC)	?	Yes
10	Jeon et al, 1986	Electron microscopic study on the endocrine cells in the stomach and duodenum of the pond tortoise (<i>Amyda sinensis</i>)	Korea	<i>Amyda sinensis</i>	Testudines / Cryptodira / Trionychidae	8	Exsanguination	Endocrine cells	?	?	?	Resin Epon 812	?	?	?	MEV	Yes
11	Perez-Tomas et al., 1990	Histochemical and ultrastructural study of the digestive tract of the tortoise <i>Testudo graeca</i> (Testudines)	Spain	<i>Testudo graeca</i>	Testudinata / Pleurodira / Chelidae	7	Overdose of sodium pentobarbital intraperitoneal	gastrointestinal cells	?	Lectin: Peanut (PNA) 12 µg/ml Jack bean (Con-A) 20 µg/ml Horse gram (DBA) 15 µg/ml Soybean (SBA) 12 µg/ml Asparagus pea (LTA) 25 µg/ml Wheat germ (WGA) 6 µg/ml	?	Paraffin: 5 µm , Resin Epon 812: 1µm	toluidine blue	?	(HRP)-conjugated lectins (Sigma) Dilution (?)	MEV and MO	Yes
12	Al-Thani A. S. and El-Sherif G., 1996	Histological and Histochemical study of the digestive tract of	Qatar	<i>Diplometopon zarudnyi</i>	Squamata /Amphisbaenia/ Trogonoph	8	chloroform	gastrointestinal cells	?	?	?	Paraffin: 5 µm	Hematoxylin and eosin	?	?	?	?

		the Worm-Like Reptile, Diplometopon zarudnyi (Squamata)			idae												
13	Kobayashi, 1967	An Electron Microscope Study of the Intestinal Mucosa of the Snake, <i>Elaphe quadrivirgata</i> (BOIE)	Japan	<i>Elaphe quadrivirgata</i> (BOIE)	Squamata/Serpentes/Colubridae	30	?	Endocrine cells	?	?	Yes, observation folds	Epon epoxy resin: Sections were cut on a Porter-Blum ultramicrotome and stained with lead	?	?	?	MEV	Yes
14	Van Aswegen et al. 1992	Bioactive peptides and serotonin in the gut endocrine cells of the crocodile, <i>Crocodylus niloticus</i> (laurenti1768): an immunocytochemical study	South Africa	<i>Crocodylus niloticus</i>	Crocodylia/Eusuchia/Crocodyliidae	3	?	Endocrine cells	GAS, GLU, NT, SOM, PP and SER.	?	?	Paraffin: Sections (5 µm) and floated on slides pretreated with poly-L-lysine	?	?	peroxidase-antiperoxidase (PAP) method	?	?
15	Giraud et al. 1978	Epithelial Surfaces of the Upper Gastrointestinal Tract of the Blue-Tongued Lizard, <i>Tiliqua scincoides</i> : A Scanning Electron Microscopic Study	Australia	<i>Tiliqua scincoides</i>	Squamata/Sauria/Scincidae	?	An aortic arch was cannulated via the left ventricle after the animal was anaesthetized with sodium pentobarbitone (60 mg/kg body weight)	gastrointestinal cells	?	?	Yes, topography of the organs	Araldite, from which ultrathin sections were cut.	?	?	?	MEV and MET	?
16	Yamada et al. 1987	An Immunohistochemical Study of the Endocrine Cells in the Gastrointestinal Mucosa of the Caiman <i>latirostris</i>	Brazil	<i>Caiman latirostris</i>	Crocodylia/Eusuchia/Alligatoridae	5	?	endocrine cells	INS, GLU, GLI, MOT, GAS, SEC and NT.	?	?	Paraffin: 4 µm or 1.5-2 µm thickness.	?	Alcian-blue (PAS)	peroxidase-antiperoxidase (PAP) method	?	?
17	Madrid et al. 1989	Distribution of mucins in the mucosa of the digestive tract of	Spain	<i>Lacerta lepida</i> , <i>Mauremys caspica</i>	Squamata/Sauria/Lacertidae;	4 for species	overdose of ether	mucous cells	?	Neutral mucins; Sulphomucins;	?	Paraffin: 5 µm	?	Alcian-blue, Aldehyde fuchsin,	?	?	?

		reptiles: a histochemical study		<i>and Testudo graeca</i>	Testudines /Cryptodira/Geoemydidae; Testudinata/Cryptodira/Testudinidae					Sialomucins; Sulphosialomucins;				Methylation			
18	Çakici and Akat, 2013	Some histomorphological and histochemical characteristics of the digestive tract of the snake-eyed lizard, <i>Ophisops elegans</i> Menetries, 1832 (Squamata: Lacertidae)	Turkey	<i>Ophisops elegans</i>	Squamata/Sauria/Lacertidae	8	decapitation with a guillotine under ether anaesthesia	mucous cells	?	neutral and acidic mucosubstances (GAGs)	?	Paraffin: 5 µm	Harris Haematoxylin-Eosin	Periodic acid Schiff (PAS) and Alcian-Blue (AB) pH 2.5	?	?	total area of epithelial cells, nucleus and amount of positive staining material with AB and PAS in all parts of the digestive tract
19	Suganuma et al. 1981	Comparative histochemical study of alimentary tracts with special reference to the mucous neck cells of the stomach.	Japan	<i>Clemmys Japonica / Eumeces latiscutatus / Elaphe climacophora</i>	Testudines , Cryptodira , Geoemydidae / Squamata, Lacertilia, Scincidae / Squamata, Serpentes, Colubridae	?	?	mucous cells	?	Sialomucins from sulfomucins; concanavalin-A-reactive; acidic or neutral mucosubstances; mucosubstances;	?	Paraffin: 3 µm	Hematoxylin and eosin	High iron diamine associated with alcian blue (pH 2.5) (HID-AB), parodoxical concanavalin-A, PCS associated with alcian, double staining with PCS and a modified Bowie. blue (pH 2.51, staining (PCS),	?	?	?

20	Martin-Lacave et al. 1982B	Ultrastructural study of the epithelial mucous cells in lizards (Lacertilia)	Spain	<i>Lacerta lepida/ Lacerta hispanica/ Psammotromus algirus/ Acanthodactylus erythrurus</i>	Squamata/ Sauria/ Lacertidae	?	cervical dislocation	mucous cells	?	?	?	1 mm ³	?	?	?	MEV.	Yes
21	Dehlawi and Zaher, 1989.	Histological studies on the alimentary tract of the colubrid snake <i>Coluber florulentus</i> (family Colubridae)	Egypt	<i>Coluber florulentus</i>	Squamata/ serpentes/ Colubridae	?	?	gastrointestinal cells	?	?	?	Sections 8 µm	Mallory's stain.	?	?	?	Yes
22	Ahmed et al, 2009.	Histological and Histochemical Studies on the Esophagus, Stomach and Small Intestines of <i>Varanus niloticus</i>	Egypt	<i>Varanus niloticus</i>	Squamata / Lacertilia/ Varanidae	1	?	Endocrine cells and mucous cells.	?	?	?	Paraffin: 6 µm	Hematoxylin and eosin	periodic acid Schiff, alcian blue (PAS-AB; pH 2.5) and Grimelius silver impregnation.	?	?	Yes
23	Ferri et al. 1976	Gross, microscopic and ultrastructural study of the intestinal tube of <i>Xenodon merremii</i> Wagler, 1824 (Ophidia)	Brazil	<i>Xenodon merremii</i>	Squamata/ Serpentes/ Dipsadidae	10	?	endocrine cells, absorptive and mucous cells	?	?	?	Paraffin, Araldite	Haematoxylin-Eosin, Masson's trichrome		?	MEV and MO	Yes
24	Perez-Tomas et al. 1989 ^A	Ultrastructural study of the endocrine cells of the gut of <i>Testudo graeca</i> (Chelonia)	Spain	<i>Testudo graeca</i>	Testudinata/ Pleurodira / Chelidae	7	overdose of sodium pentobarbitone	endocrine cells	SER, GAS, GLU and SOM.	?	?	?	?	?	?	MEV Zeiss EM/1 OcR.	?
25	Perez-Tomas et al. 1989 ^B	Comparative immunohistochemical study of the gastroenteropancreatic endocrine system of three reptiles.	Spain	<i>Testudo graeca, Mauremys caspica, and Lacerta lepida.</i>	Testudinata/Cryptodira/Testudinidae; Testudines /Cryptodira/Geoemydidae; Squamata/ Sauria/ Lacertidae	5,4,4 respectively	sodium pentobarbital	endocrine cells	BOM, CCK, GAS, GIP, GLU, INS, L-ENK, M-ENK, MOT, NY, PP, PYY, SEC, SOM,	?	?	Paraffin: 4 µm	?	?	peroxidase-antiperoxidase (PAP) method	?	Yes

									SP, VIP and SER.								
26	Rodrigues-Sartori et al. 2014	Functional morphology of the gut of the tropical house gecko <i>Hemidactylus mabouia</i> (Squamata: Gekkonidae)	Brazil	<i>Hemidactylus mabouia</i>	Squamata / Sauria/ Gekkonidae	14	overdose of intraperitoneally injected pentobarbital	endocrine cells, absorptive and mucous cells	?	Fosfatase alcalina	Yes, Topography and measurements of the organ, observation of folds	Resin: Sections 3µm	toluidine blue	periodic acid-Schiff (PAS), alcian blue conjugated with periodic acid-Schiff, Grimellius e Masson-Fontana, alkaline phosphatase method (AP)	?	MEV and MO	Yes
27	D'Este et al. 1993	Immunohistochemical localization of chromogranin A and B in endocrine cells of the alimentary tract of the adult lizard <i>Podarcis sicula</i>	Italy	<i>Podarcis sicula</i>	Squamata /Sauria /Lacertidae.	10	Ether	endocrine cells	SER, HIS, PYY, SP, SOM, G/CCK, NT, PP, PYY.	?	?	Paraffin: 3-5 µm	?	?	indirect immunoperoxidase (IP) or, indirect immunofluorescence (IF)	?	Yes
28	Huang and Wu, 2006.	Immunohistochemical study on gastrointestinal endocrine cells of four reptiles.	China	<i>Gekko japonicus</i> , <i>Eumeces chinensis</i> , <i>Sphenomorphus indicus</i> and <i>Eumeces elegans</i>	Squamata/ Gekkota/ Gekkonidae; Squamata/ Lacertilia/ Scincidae; Squamata/ Sauria/ Scincidae; Squamata/ Sauria/ Scincidae.	5,3,5,5 respectively	ether and decapitated	endocrine cells	SER, SOM, GAS, GLU, SP, INS and PP.	?	?	Paraffin: 5 µm	?	?	streptavidin-peroxidase	?	Yes
29	Gapp and Polak, 1989.	Localization of Insulin to Gastroenteropancreatic Cells in the Turtle Gastrointestinal Tract	England	<i>Pseudemys scripta scripta</i> / <i>Parietaria floridana</i> / <i>P. scripta elegans</i> (<i>Trachemys scripta elegans</i>)/ <i>Trionyx</i>	Testudinata/ Cryptodira / Emydidae (1 and 2); Testudines /Cryptodira/ Kinosternidae; Testudines /Cryptodira	3 a 5	decapitation	endocrine cells	INS	?	?	Paraffin	?	?	peroxidase-antiperoxidase	?	?

				<i>spinifer asper</i> (<i>Apalone spinifera aspera</i>)	a/Trionychidae												
30	Buchan et al. 1983	Regulatory peptides in the gastrointestinal tract of Alligator mississippiensis	Canada	<i>Alligator mississippiensis</i>	Crocodylia / Esuchia/ Alligatoridae	11	?	endocrine cells and enteric nerves	GLP, GLI, Gut-GLU, SOM, GIP, GAS, CCK, NT, MOT, SEC, BOM, SP, VIP and Met-enk.	?	?	Paraffin	?	?	peroxidase-anti-peroxidase (PAP) method	?	?
31	Trandaburu et al. 2006	Serotonin (5-hydroxytryptamine, 5-HT) immunoreactive endocrine and neural elements in the chromaffin enteropancreatic system of amphibians and reptiles	Romania	<i>Emys orbicularis</i> / <i>Lacerta viridis</i> / <i>Lacerta agilis</i> / <i>Natrix natrix</i>	Chelonia/ Testudines/ Emydidae; Squamata/ Sauria/ Lacertidae; Squamata/ Serpentes/ Colubridae	4,4,3,3.	chloroform	endocrine cells and enteric nerves	SER	?	?	Paraffin: 6 µm and Gelatin	?	?	avidin-biotin-peroxidase complex (ABC-peroxidase)	?	Yes
32	Adamson and Campbell. 1988	The distribution of 5-hydroxytryptamine in the gastrointestinal tract of reptiles, birds and a prototherian mammal - An immunohistochemical study	Australia	<i>Chelodina longicollis</i> ; <i>Leiopism a guichenoti</i> ; <i>Pseudonaja textilis</i> .	Squamata/ Sauria/ Scincidae; Chelonia/ Pleurodira/ Chelidae; Squamata/ Serpentes/ Elapidae	2,8,1	overdose of sodium pentobarbital	endocrine cells and enteric nerves	5 HT	?	?	?	?	?	fluorescein isothiocyanate-labelled sheep anti-rat IgG	LSFM	?
33	Gapp, Kenny and Polak. 1985	The Gastro-Enteropancreatic System of the Turtle, <i>Chrysemys picta</i>	England	<i>Chrysemys picta</i>	Testudinata/ Cryptodira/ Emydidae	?	decapitation	endocrine cells	INS, GLU, SOM and PP.	?	?	Paraffin: 5 µm	?	?	peroxidase-anti-peroxidase (PAP) method	?	?
34	Reinecke et al. 1981	VIP immunoreactivity	USA	<i>Lacerta viridis</i>	Squamata/ Sauria/ Lac	?	perfusion through the heart	enteric nerves and	VIP	?	?	Paraplast: 7 µm	?	?	peroxidase-anti-	?	?

		in enteric nerves and endocrine cells of the vertebrate gut.			ertidae			endocrine cells							peroxidase (PAP) method		
35	Seino et al., 1979	Immunocytochemical localization of motilin-containing cells in the intestines of several vertebrate species and a comparison of antisera against natural and synthetic motilin.	USA	<i>Anolis carolinensis</i>	Squamata/Sauria/Polychrotidae	4	?	endocrine cells and enteric nerves	MOT	?	?	Paraffin: 4 µm	?	?	peroxidase-anti-peroxidase (PAP) method	?	?
36	Reinecke et al. 1991	Phylogenetic aspects of pancreastatin- and chromogranin-like immunoreactive cells in the gastro-entero-pancreatic neuroendocrine system of vertebrates.	Sweden	<i>Lacerta viridis</i>	Squamata/Sauria/Lacertidae	5	perfusion through the heart	endocrine cells	(Pst-I-6, Pst-I-17, Pst-14-49, Pst-33-49) and Cg A and CgA/B	?	?	Paraplast: 4 µm	?	?	avidin-biotin-peroxidase complex (ABC-peroxidase)	Nikon Optiphot.	?
37	Reinecke et al. 1980	Distribution patterns of neurotensin-like immunoreactive cells in the gastrointestinal tract of higher vertebrates.	USA	<i>Lacerta viridis</i>	Squamata/Sauria/Lacertidae	?	?	endocrine cells	NT and XEN	?	?	Paraffin: 3-7 µm	?	?	peroxidase-anti-peroxidase (PAP) method	?	Yes
38	Shalab, 2012	Anatomical, Histological, and Scanning electron microscopic studies of the alimentary canal of <i>Laudakia stellio</i> (Agamidae).	Egypt	<i>Laudakia stellio</i>	Squamata/Sauria/Agamidae	9	Ether	gastrointestinal cells	?	?	?	5 µm	Hematoxylin and eosin	periodic acid Schiff, alcian blue (PAS-AB; pH 2.5)	?	MEV	Yes
39	Kanou, 1984	Morphological studies of the mucous membrane of the small intestine of vertebrates with an emphasis on comparative anatomy	Japan	<i>Takydromus tachydromoides</i>	Squamata/Sauria/Lacertidae	6	Ether	mucous cells	?	neutral and acidic mucosubstances	?	Resin epon	Haematoxylin-Eosin (HE)	?	MEV and MO	Yes	

Legend: AMY : amylin; SER: serotonin; CG: Chromogalin; CgA: Chromogani A; CgB: Chromogalin B; DBA: *Dolichos biflorus* agglutin; CAER: Caerulin; GAS: gastrin; CCK: cholecystokinin; PYY: peptide YY; PP: pancreatic polypeptide; NT: neurotensin; SOM: somatostatin; GLP-1 glucagon-like peptide; GLU: glucagon; SP: substance P; VIP: vasoactive intestinal peptide; BOM: bombesin; MOT: motilin; L-ENK: leucine-enkephalin; INS: insulin; SEC: secretin; BPP: bovine pancreatic polypeptide; WGA; wheat germ agglutinin; SBA: soybean agglutinin; LTA: *Lotus tetragonolobus* agglutin; PNA: peanut agglutin; EGL: enteroglucagon; GLI: glicetin; TGI: gastrointestinal tract; GLP: pancreatic glucagon; M-ENK: Met-enkephalin; HE: hematoxylin and eosin; LSFM: light sheet fluorescence microscopy; HIS: histamine; CGRP: calcitonin gene related peptide; PsT: pancreatin; APP: avian pancreatic polypeptide; GRP: gastrin-releasing polypeptide; LEU: leucine; PEP: pepsinogenic; CHY: chymosin; XEN: xenopsin; MEV: scanning electron microscopic; MET: scanning transmission electron microscopy; GIP : Peptide inhibitor gastric.

(S.3) Tabela 2.0: Resultados descritivos

Article	Study Reference	Anatomy	Histology	Histochemistry	Immunohistochemistry	Electron microscopy	Morphometry
1	D'Este , et al., 1995	?	?	argyrophil cells	gastro-duodenal region: amylin-immunoreactive cells co-stored serotonin and chromogranin A	?	?
2	Burrell, et al., 1991	?	Folds but not true villi; no glandular crypt-like structures	PAS-positive mucous cells, higher in the large intestine; argyrophil cells, probably of the closed type.	Small intestine: IR SER, CAER, GAS, CCK-8, PYY, PP, NT, SOM, GLP-1, GLU; large intestine: IR GLP-1; SP- and VIP-immunoreactive nerve fibers.	?	Small intestine: SER,CAER,GAS,CCK, PYY (+++); PP,NT, SOM, GLP-1, GLU (++) CgA, CCK-nt, BOM, VIP, SP (+) Large intestine: SER, NT (++) CgA,PYY, PP, SOM, GLP-1, VIP, SP (+)
3	Burrell, et al., 1992	?	?	?	immunoreactive cells C-terminal G/CCK- and PYY/PP.	PYY/PP- or C-terminal G/CCK- immunoreactivity	PYY / PP cells: granules with diameter ~ 295 nm; C-terminal L / CCK cells: granules with diameter ~ 240 nm.
4	Seino, et al., 1979	?	?	?	duodenum: IR motilin.	?	?
5	Martin-Lacave et al., 1982A	Longitudinal folds in the small intestine, which become smaller and less caudally.	Absence of villi and crypts; Presence pseudostratified epithelium with basement membrane and brush border; cells: absorption, undifferentiated, mucosal, enterochromaffin and "granular cells".	enterochromaffin cells	?	Granular cell that resembles Paneth cell; absence of Brunner's gland; enterochromaffin cell.	?
6	Lee, H.S. and ku, S.K , 2004	?	?	?	Most endocrine cells open type.	?	Duodenum: BCG, SOM, GAS, CCK-8, GLU, INS, SEC (+/-); SER, HPP (++) Small intestine: BCG, SER, SOM, CCK-8, GLU, INS, HPP (+/-); GAS, SEC (-) Large intestine: BCG, SER (+/-), all other IR (-)
7	Arena et al., 1990	?	Two histologically different regions were recognized in the small intestine (oral and aboral region).	Small intestine: superficial mucosal cells with few goblet cells in oral and aboral epithelia.	small intestine: IR for SER, STT and G; colon: IR for SER, CG, BPP. Cloaca: IR for SER.	?	IR SER (numerous), BPP and Cromogranin (rare), SOM and GAS (numerous) .

8	KU et al., 2001	?	?	?	Intestine: spherical or spindle-shaped IR cells (spruce-like cells) located in the basal portion of the intestine.	?	Duodenum: CG(±), Gas(+), CCK-8(++)/ Jejunum: GAS(±), GLU(±) /Ileo: GLU(±) Rectum: BOM(+)/ In all TGI SER(+), SOM(+) except rectum.
9	Tarakçi et al, 2005	?	?	?	Most of the immunoreactive cells in the intestine were spherical or spindle-like in shape (open-type cells).	?	Duodenum: SER (+++), INS (++) ; Ileo: GAS (+); Rectum: SER (++) , GAS (+) INS (++) .
10	Jeon et al, 1986	?	?	?	?	Duodenal region: ↑ secretory granules with electronic low to moderate intensity; most closed cell types with variable format and some with halo presence	Cells with varying diameter from 170 to 650nm, 363nm mean
11	Perez-Tomas et al., 1990	?	Small intestine: goblet and absorptive cells, no villi, no Lieberkiihn crypts, no Brunner glands, and no Paneth cells; large intestine: mucous columnar cells, similar structures "cell nests".	IR (+): Small intestine: WGA, DBA, SBA, and LTA in mucous granules; PNA, WGA, DBA, and SBA in microvilli. Large intestine: WGA, DBA, and LTA in mucous granules; PNA and SBA in luminal surface.	?	small intestine: longitudinal folds with cells with microvilli and goblet;; large intestine: small folds covered by columnar cells with microvilli, different types of immunocompetent and phagocytic	?
12	Al-Thani A. S. and El-Sherif G., 1996	?	Folds of small intestinal mucosa with scattered lymphatic aggregations; ↑ cell columns and brush edge absorbent goblet cells. In both intestines, goblet cells are normal with large amounts of mucin granules. The muscular layer is thicker in the large intestine.	?	?	?	?
13	Kobayashi, 1967	?	?	?	?	Epithelium simple columnar with columnar, goblet and argentaffin cells; no Paneth cells; a few granulated cells.	The epithelium is thicker in the mid-intestine (50-60μ) than in the end-intestine (35-50μ).
14	Van Aswegen et al. 1992	?	?	?	Open-label IR-NT cells in the colon; small intestine (IR-SER), most of which reached the luminal surface and in the colon located in the basal part of the	?	GAS IR in numerous (duodenum) and dispersed (ileum). Glucagon, Neurotensin, Somatostatin, PP cells, Serotonin showed IR + in

					mucosa. IR-GAS cells in the duodenum and ileum were seen to reach the lumen. No GAS cells were seen in the colon. The IR cells PP, GLU, SOM were confined to the basal part of the mucosa, these cells were not observed in the colon.		numerous (duodenum and ileum) and serotonin being abundant in the colon.
15	Giraud et al. 1978	small intestine being darker in colour and lined by projecting villi.	?	?	?	The small intestine was lined by epithelial cells covered by long, densely packed microvilli. Goblet cells were interspersed along the surface of the intestinal villi.	?
16	Yamada et al. 1987	?	No crypts and villi, although invaginations were seen at the basal portions of the intestinal folds; pseudostratified epithelium; number of goblet cells increased distally.	?	IR +: SER, SOM, EGL and NT the entire length of the intestine. IR +: SOM and EGL ↑ proximal bowel, but ↓ distally. In contrast, the IR +: NT ↓ proximal intestine, ↓ distal intestine. IR +: GAS and MOT mid proximal in front of the intestine. IR +: GLU and rare pancreatic GLI in the proximal half of the intestine. IR +: SEC and CCK initial portion of the intestine	?	SER, SOM, MOT, EGL frequency of numerous cells in all small intestinal tract. GAS, BPP, GLP rare cell frequency in initial region, middle of proximal half, middle of whole half of small intestine. SEC, CCK-33 frequency of rare cells only in the early small intestine. Region ampoule frequency (little / moderate) SER, SOM, NT and EGL. In cloaca moderate frequency NT.
17	Madrid et al. 1989	?	?	Lacerta lepida: sulphosialo-mucins in the goblet cells of small and large intestines; Testudo graeca: small intestinal goblet cells with sialo-mucins or sulphosialo-mucins; Mauremys caspica: mucous cells of the small intestine with sulpho- and sialo.	?	?	?
18	Çakici and Akat, 2013	?	fingerlike villi with columnar absorptive and goblet cells in small intestine; small folds with columnar cells and numerous goblet cells in large intestine.	goblet cells PAS and AB positives	?	?	Small intestine (PAS) 93.66 (AB) 90.36 Large intestine (PAS) 94.6 (AB) 48.57

							<p>Epithelial cell area</p> <p>Small intestine</p> <p>Esophagus 130.01 ± 35.36 *</p> <p>Stomach 181.34 ± 39.48</p> <p>Large intestine 418.72 ± 108.45 *</p> <p>Large intestine</p> <p>Esophagus 130.01 ± 35.36 *</p> <p>Stomach 181.34 ± 39.48 *</p> <p>Small intestine 221.24 ± 19.7*</p> <p>Nuclear area of epithelial cell</p> <p>Small intestine</p> <p>Esophagus 30.27 ± 5.79 *</p> <p>Stomach 31.48 ± 4.19 *</p> <p>Large intestine 50.26 ± 9.31</p> <p>Large intestine</p> <p>Esophagus 30.27 ± 5.79 *</p> <p>Stomach 31.48 ± 4.19 *</p> <p>Small intestine 51.19 ± 14.05</p>
19	Suganuma et al. 1981	?	Brush-bordered columnar epithelium and goblet cells.	<p>"Clemmys Japonica: brush border ↑ sialomucins, ↑ goblet cells and sulfomucins on the villi.</p> <p>Elaphe climacophora: brush border and scattered goblet cells, with sulfomucins.</p> <p>Eumeces latiscutatus: brush border was not apparent, whole layer ↑ sulfomucins; in the goblet cells sulfomucins ↑; columnar cells with PAS+ granules."</p>	?	?	?
20	Martin-Lacave et al. 1982B	?	?	?	?	<p>Small intestine: columnar oligo- mucous cells and ↓granules around the membrane, nucleus in the basal /</p> <p>Goblet cells: ↑ globules of variable size, finely granular and variable density. Nucleus of irregular shape with</p>	?

						condensed chromatin. The surface of the luminal portion of the cells has some microvillus / granule cells: the granules differ by species.	
21	Dehlawi and Zaher, 1989.	?	Mucosa: absorbent, globular and endocrine cells. Small and small ↓ endocrine cells and have clear cytoplasm with spherical and central nuclei. The granular cytoplasm of columnar (+) Mallory cells. The lumen of the small intestine with ↑ villi long and coiled. The intestinal glands are absent. Cecal mucosa: simple epithelial cells and calyces. Colon mucosal epithelium: simple columnar cells, chalices and endocrines.	?	?	?	?
22	Ahmed et al, 2009.	?	↑ Villils of the small intestine; intestinal crypts. The intestinal mucosa with absorbent epithelium with goblet cells. The enteroendocrine cells of different forms, located in the superficial epithelium of the small intestine.	Goblet cells PAS/AB (+). Argyrophyll cells of different shapes and localized in the surface epithelium of the esophagus and small intestine, and among the cells of the gastric glands.	?	?	?
23	Ferri et al. 1976	Small and large intestine are rather alike: both are sinuous tubes of regular . Large intestine has a larger diameter and shows structures resembling the haustra.	(1) Mucosa: scattered lymphocytes or isolated lymph nodes (2) Submucosa: large blood vessels and scattered lymphocytes (3) Muscular: with inner layer with circularly arranged fibers, and an outer layer with longitudinally arranged fibers (4) Serosa: mesothelial cells scaly . There are no vilos, Lieberkuhn crypts, Brunner or Paneth cell glands. In the small intestine, the epithelium is simple in column, with absorbent cells, chalices (↑)	In the small intestine, there are argentaffin and argyrophil cells.	?	Apical cell membrane with microvilli and fine glycocalyx. Junctional complexes and desmosomes are present. Mitochondria in any cytoplasm with moderate electrodensity matrix and some granules. The enterochromaffin cells have their membrane (↓) inflections and their cytoplasm with (↓) density and (↑) rounded granules, presence of ribosomes,	?

			distally and endocrine. Epithelium without changes that divides the segments.			REL, REG.	
24	Perez-Tomas et al. 1989 ^A	?		?	L- (or EG-) IR + (GLU) cells. EC-L IR + cells (SER). D + IR cells (SOM).	EC cells (↑) population in the duodenum, in the epithelium of the large intestine (10-15 cells supra and infranuclear), diameter ~ 235nm, (↑) density, variable morphology, presence of GC, lysosomes and RER.	G cells: granules ~ 150-220 nm; L cells: granules ~ 150-370 nm; D cells round shape and variable density, beads ~ 150-250 nm; N cells form oval uniform density, granules ~ 295 nm; B cells (large and small intestine) morphology of granules variable and ~ 320-790 nm.
25	Perez-Tomas et al. 1989 ^B	?	?	?	Small intestine T. graeca IR (+) GAS, GLU, INS, PYY, SOM, SER in the proximal and distal regions. M. caspica IR (+) GAS, GLU, INS, NT, PYY, PP, SOM, SER L. lepida IR (+) GAS, GLU, NT, PP, PYY, SOM, SER Large intestine T. graeca IR (+) INS, NT, PYY, SER; M. caspica IR (+) INS, NT, PYY, SER; L. lepida IR (+) INS, NT, PP, PYY, SER. In conclusion, for the three species, the small intestine showed a higher number, qualitatively and quantitatively."	?	<u>T. graeca</u> Small intestine Proximal: SER (+++); GAS, GLU, INS (+); PYY, SOM (+) Distal: PYY (+++); GLU, INS, (++) GAS, NT, SOM, SER (+) Large intestine Proximal: SER (++) NT, PYY (+) Distal: INS, NT (+++); SER (++) PYY (+) <u>M. caspica</u> Small intestine Proximal: GAS, GLU, SER (+++); SOM (+); INS, NT, PYY (+) Distal: GAS (+++); GLU, PYY, SER (++) INS, NT, SOM (+) Large intestine Proximal e distal: INS, SER (+++); NT, PYY (++) <u>L. lepida</u> Small intestine Proximal: PYY, SER (+++); GAS, GLU, PP (+); NT, SOM (+) Distal: PYY (+++); GAS, NT, SOM (++) GLU, PP, SER (+) Large intestine Proximal: NT (+++); INS, PP, PYY, SER (++) Distal: NT (+++); INS, PYY, SER (++) PP (+)
26	Rodrigues-Sartori et al. 2014	Longitudinal folds in the the small intestine; large intestine is	Pseudostratified epithelium/ Goblet cells are less numerous than enterocytes, but are of greater volume/ The large	Goblet cells: PAS (+) and / or AB (+) cytoplasmic granules; (+) argirophil cells in	?	Small intestine: epithelium with enterocytes with apical layer of microfilms and goblet cells. Large	The average small intestine measures (53.8 ± 16.0 mm) in length and its diameter gradually diminished from the proximal (2.5 ± 0.5 mm) to the

		much shorter and wider than the small intestine, and possesses two distinct segments: proximal colon and distal colon.	intestine consists of a very dilated proximal segment followed by a short distal segment. The villi are absent, but the high folds in the inner lining of the small intestine.	the proximal small intestine and (+) argentafins cells, the latter in the large intestine has granules concentrated in the supra-nuclear region.		intestine has low folds and compressed with epithelium of goblet cells, considerable presence of protozoa and flagellated bacteria.	distal (0.7 ± 0.1 mm) end. The proximal colon 911.3 ± 4.5 mm) in length and (6.0 ± 2.7 mm in diameter, and the distal colon (95.3 ± 2.3 mm) in length and (2.0 ± 0.7 mm) in diameter. In the small intestine, the goblet cells diameter (4.1 ± 1.0 μ m) and in the large intestine, (6.6 ± 1.1 μ m).
27	D'Este et al. 1993	?	?	?	CG-IR cells were located in both the superficial epithelial folds of the villi and in the glands. The major co-localizations exhibited by CgA IR (+) 5HT; HIST; PYY, SOM and SP cells, however, for CgB, presence was in some cell types in the same manner as described above. There was no co-localization for CgA and CgB for the other immunohistomers. "	?	CgA-IR and CgB-IR cells were numerous in all regions of the intestinal mucosa (Upper small, Lower small, Large), except for the distal small intestine.
28	Huang and Wu, 2006.	?	?	?	The endocrine cells of both open and close types. The GI endocrine cells were round, oval, triangular, spindle-, shuttle- or flask-like in shape. Mostly in intestinal epithelium, most of these cells were situated in the basal portion of the epithelia.	?	<p><u>G. japonicus</u> Duodenum: SER(8.6 ± 2.2), SS(1.0 ± 0.5), GAS(3.8 ± 0.8) Jejunum: SER(7.0 ± 2.9), GAS(1.4 ± 0.5) Ileum: SER(7.8 ± 1.2) Rectum: SER(7.0 ± 1.6)</p> <p><u>E. chinensis</u> Duodenum: SER(11.8 ± 2.3), SOM(1.6 ± 0.3), SP(2.1 ± 0.7) Jejunum: SER(9.0 ± 3.0), SS(0.3 ± 0.4) Ileum: SER(7.3 ± 0.8), SS(7.5 ± 0.9), GLU($0.7.9 \pm 1.7$), SP (8.0 ± 0.8) Rectum: SER(5 ± 1.1), SS(2.7 ± 0.9), GLU(3.8 ± 1.4), SP(3.3 ± 1.4)</p> <p><u>S. indicus</u> Duodenum: SER(3.0 ± 0.9), GAS(1.7 ± 1.4) Jejunum: SER(1.6 ± 1.0) Ileum: SER(3.1 ± 1.1), GLU(1.4 ± 0.7) Rectum: SER(7.0 ± 2.4), GLU(6.5 ± 1.7), SP(7.5 ± 2.3)</p> <p><u>E. elegans</u> Duodenum: SER(3.1 ± 0.9), GAS(1.3 ± 1.1) Jejunum: SER(1.4 ± 1.4) Ileum: SER(3.4 ± 1.6)</p>

							Rectum: SER(5.2±2.0)
29	Gapp and Polak, 1989.	?	?	?	Open-cell cells present in the epithelium of the intestinal mucosa, from the base to the crest of the mucosal folds.	?	Insulin Content (ng/g) - intestinal mucosa Upper: (5.6 ± 1.3) Middle: (5,8 ± 1,3) Lower: (9,5 ± 1,2)
30	Buchan et al. 1983	?	?	?	Of the nine peptides present duodenum, jejunum and ileum of alligator, five were found exclusively in mucosal endocrine cells (GAS, GLP, EGL, NT, SEC), two exclusively in the peripheral autonomic innervation (VIP and SP) and only two (BOM and SOM) were found in both endocrine cells and nerves.	?	?
31	Trandaburu et al. 2006	?	?	?	Intestinal epithelium, villi and nerves IR (+) SER (numerous) different morphological populations of serotonin cells ("open" and "closed") were localized.	?	Distribution of serotonin cells respectively: E. orbicularis/ L.viridis/ L.agilis/ N.natrix Small intestine Proximal: 16.666±1.425*/22.388±2.354*/20.81±2.396*/15.15±1.533* Middle: 10.4737±.466*/14.055±1.109*/14.375±1.352*/6.105±1.464** Distal: 9.17±.293*/10.611±1.289*/10.25±2.313*/5.062±1.242* Large intestine: 15.631±1.3/15.944±1.392/15.062±2.12/14.312±1.279 Cells "open" and "closed" of serotonin-producing cells respectively: E. orbicularis/ L.viridis/ N.natrix Small intestine Proximal:2.54/1.91/ 1.84 Middle: 1.72/1.82/1.63 Distal: 1.24/1.45/1.14 Large intestine:0.94/1.10/1.13

32	Adamson and Campbell. 1988	?	?	?	SER IR(+) in the small and large intestines in all species. Immunoreactivity was not found in the enteric neurons fixed immediately after dissection.	?	?
33	Gapp, Kenny and Polak. 1985	?	?	?	IR (+) presence GAS, SEC, NT, MOT, PYY, GLU, GIP, SOM, SER, INS are present in open-type GEP cells in the mucosal epithelium of the upper intestine. BOM and SP could not be observed.	?	Immunoreactive insulin (ng/mg protein) Upper intestine: 0,38± 0,04 Middle intestine: 0,32± 0,05
34	Reinecke et al. 1981	?	?	?	IR (+) VIP in the epithelial cells of the intestinal mucosa (↑) duodenum, with balloon format with IR (+) basal and apical region. IR (+) VIP in the nerve fibers of the myenteric plexus and submucous with (↑) density; IR (+) perikarya (↑) in the submucosal plexus of the small intestine.	?	Relative frequency immunoreactive perikarya submucous (duodenum/jejunum/ileum/colon) respectively: Myenteric: 9,5/14,2/15,7/4,6 Plexus: 1,5/2,0/2,6/1,3 Distribution of VIP immunoreactive cells in gut mucosal epithelium Duodenum: Moderate number of cells. Jejunum, ileum and colon: not present.
35	Seino et al., 1979	?	?	?	Motilin-containing cells was not observed in the gut on the lizards	?	?
36	Reinecke et al. 1991	?	?	?	Epithelium of the gastrointestinal tract, the immunoreactive cells had an endocrine structure and were of the open type. Immunoreactivity presented in Duodenum: Pst 1-6; 1-17; 33-49 and CgA / B Jejuno / ileum: Pst 1-6, Pst 1-17; 33-49 and CgA / B Colon / rectum: Pst 1-6 and CgA / B; Pst 1-17; 33-49 Pst 14-49 and CgA: negative immunoreactivity in all regions.	?	Frequency of cells IR + Pst 14-49 and CgA: negative in all regions. Duodenum: Pst 1-6; 1-17; 33-49 and CgA / B (+) Jejuno / ileum: Pst 1-6 (++) , Pst 1-17; 33-49 and CgA / B (+) Colon / rectum: Pst 1-6 and CgA / B (+++), Pst 1-17; 33-49 (++)
37	Reinecke et al. 1980	?	?	?	IR (+) NT cells are of triangular shape, "open" type are located both in the crypts and on the	?	The distribution pattern of the neurotensin-like immunoreactive cells in the gut less frequent in the

					villi, predominantly the latter.		duodenum and the large intestine, but numerous in the small intestine, where 260 cells per surface unit are present.
38	Shalaby, 2012	Small intestine is short (duodenum, jejunum and ileum). The duodenum is the most proximal part and in the form of thickened convoluted structure. The large intestine consists of rectum which is a short tube	The structure of the small intestine appeared uniform all extension, the mucosal layer of the duodenum and ileum is folded into villi. The epithelium covering the villi was simple columnar with goblet cells. The rectal mucosa consists of simple columnar epithelium without goblet cells.	The villi of the ileum appeared with numerous goblet cells with positive reaction to alcian blue Periodic acid Schiff reaction	?	The mucosa of the duodenum display ridge-like and complex primary folds showing zigzag pattern of arrangement. The columnar cells and goblet cells are observed on the fold. Minute pores (glandular opening). In the rectum, the serosa is followed by the muscularis and narrow submucosa.	?
39	Kanou, 1984	?	?	?	?	Continuous folds in the intestinal lumen of the pylorus to the rectum. Disruption in the position of the nuclei in the epithelial cells of the mucosa, goblet cells with two types of secretion: homogeneous and others with high density granules.	Thirty-six luminal folds. The epithelium consists of columnar cells with a diameter of $35.65 \pm 9.5 \mu\text{m}$ in the middle of villi and have microvilli of $1.83 \pm 0.46 \mu\text{m}$ in length at their apices.

Artigo II
Identificação de células enteroendócrinas de *Tropidurus torquatus* e
***Salvator merianae* (Squamata: Lacertilia).**

RESUMO

LOPES, Fernanda Barbosa, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, setembro de 2017. **Identificação de células enteroendócrinas de *Tropidurus torquatus* e *Salvator merianae* (Squamata: Lacertilia)**. Orientadora: Sirlene Souza Rodrigues Sartori. Coorientadores: Fábio Alessandro Pieri e Clóvis Andrade Neves.

As células enteroendócrinas estão dispersas no epitélio do trato digestório e secretam peptídeos que controlam a fisiologia digestiva, regulando a secreção, absorção, motilidade e proliferação celular. O objetivo do trabalho foi descrever o sistema endócrino gastrointestinal de duas espécies de répteis squamatas, *Tropidurus torquatus* e *Salvator merianae*. Para o trabalho foram coletados cinco exemplares de cada espécie, que foram eutanasiados para a retirada dos órgãos digestivos, os quais foram fragmentados, fixados em formalina de Carson por 24h, desidratados em série etílica crescente, incluídos em parafina histológica e seccionados à 5µm de espessura. As secções foram submetidas às técnicas de Grimelius para células endócrinas argirófilas e Masson-Fontana para as células argentafins. As células argirófilas foram observadas ao longo do trato gastrointestinal com maior frequência do que as células de argentafins. Com exceção do esôfago cranial e médio, as células argirófilas foram observadas em *T. torquatus* e *S. merianae* com predomínio no estômago. A distribuição das células argirófilas no epitélio do trato gastrointestinal e nas glândulas reflete a importância dessas na regulação das secreções e motilidade gastrointestinais. Já as células argentafins, ausentes na porção cranial do esôfago e do intestino delgado para ambas as espécies, encontram-se distribuídas com frequência variável em quase todo trato gastrointestinal, predominando a região pilórica de *T. torquatus*. Mesmo em menor proporção, as células argentafins estão presentes e provavelmente agem sobre terminações nervosas para controle de atividades motoras. As alterações histomorfológicas do trato digestório de *T. tropidurus* e *S. merianae*, parecem refletir um compromisso entre a variação na demanda associada à alimentação e os custos de manutenção (ou regulação) do trato digestório.

Palavras chave: células argentafins, células argirófilas, histologia, morfofisiologia, trato gastrointestinal, répteis.

ABSTRACT

LOPES, Fernanda Barbosa, M.Sc., Federal University of Viçosa, September 2017. **Identification of enteroendocrine cells of *Tropidurus torquatus* and *Salvator merianae* (Squamata: Lacertilia)**. Advisor: Sirlene Souza Rodrigues Sartori. Co-advisors: Fábio Alessandro Pieri and Clóvis Andrade Neves.

The enteroendocrine cells are dispersed in the epithelium of the digestive tract and secrete peptides that control digestive physiology, regulating secretion, absorption, motility and cellular proliferation. The objective of this work was to describe the gastrointestinal endocrine system of two species of squamate reptiles, *Tropidurus torquatus* and *Salvator merianae*. Five specimens of each species were collected, which were euthanized for removal of the digestive organs, which were fragmented, fixed in Carson's formalin for 24h, dehydrated in a growing ethylic series, included in histological paraffin and sectioned at 5µm thickness . Sections were submitted to the Grimelius techniques for argiophile and Masson-Fontana endocrine cells for the Argentafins cells. Argyrophilic cells were observed along the gastrointestinal tract more frequently than argentafins cells. With the exception of the cranial and middle esophagus, the argiophilic cells were observed in *T. torquatus* and *S. merianae* with predominance in the stomach. The distribution of argiophilic cells in the epithelium of the gastrointestinal tract and in the glands reflects the importance of these in the regulation of gastrointestinal secretions and motility. However, argentafins cells, absent in the cranial portion of the esophagus and small intestine for both species, are distributed with variable frequency in almost every gastrointestinal tract, predominating the pyloric region of *T. torquatus*. Even to a lesser extent, argentafins cells are present and probably act on nerve endings to control motor activities. The histomorphological alterations of the digestive tract of *T. tropidurus* and *S. merianae* seem to reflect a compromise between the variation in the demand associated with feeding and the costs of maintenance (or regulation) of the digestive tract.

Key words: argentafins cells, argiophil cells, histology, morphophysiology, gastrointestinal tract, reptiles.

1. INTRODUÇÃO.

O conhecimento a respeito das adaptações morfofuncionais do tubo digestivo permite entender o regime e comportamento alimentares das espécies e contribui com estudos nas áreas da fisiologia, patologia, nutrição e conservação animal.

Entretanto, trabalhos sobre a morfologia interna de répteis são escassos, e mesmo as referências clássicas na morfologia comparativa (Andrew e Hickman, 1974; George et al. 1998) trazem poucas informações sobre esta classe de vertebrado, de modo que há uma lacuna no que diz respeito à morfologia básica, particularmente no que se refere ao aparelho digestório. Dentre os poucos trabalhos morfológicos já realizados sobre o aparelho digestório de répteis tem-se: Ferri et al., 1999; Smith et al., 2001; Pereira et al., 2005; e Rodrigues et al., 2011, 2014, 2015.

Assim sendo, o presente trabalho busca descrever e comparar o sistema endócrino gastrointestinal de duas espécies de répteis squamatas (*Tropidurus torquatus* e *Salvator merianae*), investigando a morfologia, distribuição e frequência relativa e das células enteroendócrinas argirófilas e argentafins.

Sistema Endócrino Gastrointestinal

As células enteroendócrinas representam uma proporção pequena do total da população de células epiteliais no trato digestório, mas a sua função é essencial para a fisiologia digestiva normal e também para a homeostase do organismo como um todo (Dockray, 2006). Estas células, através da liberação de peptídeos ou aminas, atuam regulando a secreção, absorção, motilidade e proliferação das células epiteliais (Rindi et al., 2004). Os peptídeos gastrointestinais podem ser liberados pelas células enteroendócrinas na corrente sanguínea e agirem à distância (peptídeos endócrinos) ou em células vizinhas agindo localmente (peptídeos parácrinos) (Kendzierski et al., 2000). Alguns desses peptídeos também podem ser liberados de terminações nervosas (peptídeos neurócrinos) agindo em sinapses (Polak et al., 1993).

As células enteroendócrinas podem ser classificadas de acordo com a sua morfologia (Fujita & Kobayashi, 1977; Sjölund et al., 1983; Dayal et al.,

1987), com a sua capacidade de absorver determinados sais (Grimelius e Wilander, 1980), com a morfologia dos seus grânulos secretores (Polak et al., 1993) e com a presença de moléculas marcadoras específicas (Rindi et al., 2004; Schonhoff et al., 2004).

Quanto aos aspectos morfológicos, as células enteroendócrinas apresentam conformação variada, com núcleo arredondado e citoplasma claro, podendo ou não existir um prolongamento apical que alcança o lúmen intestinal. As células enteroendócrinas do “tipo fechado”, cujo ápice não tem contato com o lúmen intestinal, são identificadas principalmente no corpo e fundo gástricos, enquanto aquelas do “tipo aberto”, com comunicação apical com o lúmen, predominam no restante do tubo digestivo. As células do “tipo aberto” apresentam forma piramidal, de garrafa ou de pera (piriforme), enquanto as do “tipo fechado” são ovais ou arredondadas (Fujita e Kobayashi, 1977; Dayal et al., 1987).

O papel bem estabelecido das células enteroendócrinas envolve o reconhecimento dos nutrientes luminiais (células do “tipo aberto”) ou da presença do alimento pela distensão mecânica da parede (células do “tipo fechado”), iniciando um amplo espectro de respostas funcionais, como inibição do esvaziamento gástrico e da secreção de ácido gástrico (Raybould, 2006), estimulação da secreção gástrica e do pâncreas exócrino (Owyang e Logsdon, 2004), da secreção endócrina (Drucker, 2007), da secreção de fluído intestinal, e inibição da ingestão de alimentos (Strader e Woods, 2005; Moran, 2009).

De acordo com Polak et al. (1993), as células enteroendócrinas podem ser classificadas em argentafins (capazes de reduzir diretamente soluções de prata) e argirófilas (capazes de absorver sais de prata, que então podem ser reduzidos por adição de uma substância química com capacidade redutora). Das técnicas que utilizam sais de prata, a técnica de Grimelius identifica as células argirófilas, que são todas as células enteroendócrinas exceto as células produtoras de colecistocinina e somatostatina, enquanto o método de Masson-Fontana faz a marcação nas células argentafins, que são somente as células produtoras de serotonina (Grimelius e Wilander, 1980). Desta forma, as células argentafins são também argirófilas (Santos e Zucoloto, 1996).

Tropidurus torquatus e Salvator merianae

Tropidurus torquatus (Wied, 1820) (Fig.1A), vulgarmente conhecido como calango, pertence à família Tropiduridae (Infraordem Iguania). O comprimento rostro-cloacal varia de 40 a 140 mm e machos adultos são maiores que as fêmeas (Giaretta, 1996). Dentre as espécies do gênero, *T. torquatus* é a mais amplamente distribuída, ocorrendo desde o sudeste brasileiro ao norte da Argentina. No Brasil, ocorre em todas as regiões, exceto na região Amazônica, sendo típico na região Centro-Oeste, Sudeste e Sul (Rodrigues, 1987). Habita áreas abertas e é muito comum em áreas alteradas pela ação do homem, como roçados, quintais e jardins (Bergallo e Rocha, 1994). É uma espécie diurna e heliófila, ativa nas horas mais quentes do dia durante os meses frios, mas durante os meses mais quentes sua atividade é maior no início da manhã e final da tarde (Bergallo e Rocha, 1993). É considerada uma espécie onívora, generalista e oportunista, com estratégias alimentares do tipo “senta-e-espera” (Araujo, 1987).

Salvator merianae (Harvey et al., 2012) (Fig.1B), conhecido vulgarmente como teiú, pertence à família Teiidae (Infraordem Scincomorpha). O comprimento rostro-cloacal pode chegar a 450 mm em machos adultos, que são maiores que as fêmeas (Ávila-Pires, 1995). Está presente na Argentina, no Brasil e no Uruguai, sendo que no Brasil encontra-se em todas as regiões, exceto na Floresta Amazônica (Vanzolini et al., 1980). Ocorre principalmente em áreas abertas de cerrado, mas pode ser observado em bordas de matas-de-galeria e dentro de matas mais abertas. É uma espécie diurna, heliófila e ativa durante todo o dia permanecendo ativos durante os meses quentes do ano, verão, primavera e parte do outono, mas entram em hibernação durante o inverno (Abe, 1995; Klein et al., 2006). Passa a maior parte do tempo em movimento à procura de presas que localiza com o auxílio da língua comprida e bífida (Vitt, 1995). Apresenta hábito alimentar onívoro, sendo sua dieta muito variada, incluindo vertebrados, partes vegetais, moluscos e artrópodes. Pode ainda comer carniça.

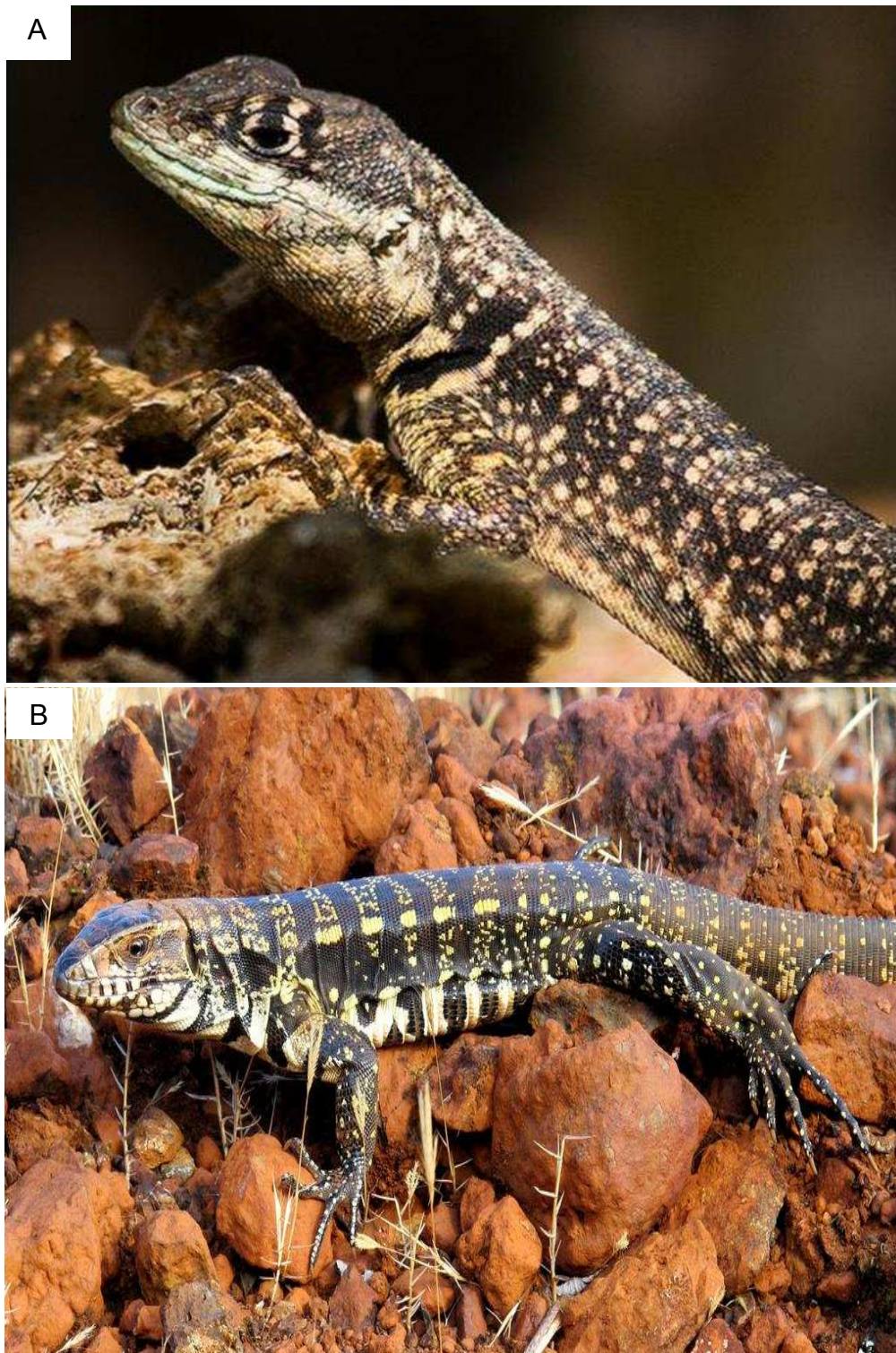


Fig. 1: Fotografias das espécies estudadas: *Tropidurus torquatus* (A), *Salvator merianae* (B). Fonte: A) Fotografia feita por Alessandro Bearzi B) Fotografia feita por Pedro H. Martins. <http://www.reptile-database.org/>

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material biológico

O material biológico consistiu de cinco exemplares adultos, dentre machos e fêmeas, de cada espécie em estudo: *Tropidurus torquatus* (Wied, 1820) com a média do comprimento rostro-cloacal 9,74 mm e peso 110,43 gramas e *Salvator merianae* (Duméril & Bibron, 1839) com média do comprimento rostro-cloacal 26,8 mm e peso 441,75 gramas. Os animais foram coletados nos municípios de Viçosa e Guiricema, na Zona da Mata Mineira (número da Licença do IBAMA: 10504-1) no período de outubro-fevereiro. Os animais foram mantidos em jejum de 24 horas e fornecido água filtrada “ad libitum”, acondicionados em gaiolas (40x20x20cm) e (80x40x40cm) e eutanasiados com uma superdosagem de pentobarbital (120mg/kg), injetada intraperitonealmente. Todo o trabalho foi conduzido com a autorização do Comitê de Ética para Uso de Animais (CEUA) mediante o protocolo 27/2016. Após a eutanásia, os animais foram medidos com auxílio de uma fita métrica. A cavidade peritoneal foi exposta por meio de uma incisão longitudinal mediana na região ventral e o tubo digestivo foi extraído. Foi calculado o comprimento relativo de cada órgão, dividindo-se o seu comprimento pelo comprimento corporal (Tab. 1). Coletaram-se fragmentos do esôfago (cranial, médio e caudal), estômago (fúndico cranial, fúndico caudal e pilórico), intestino delgado (cranial, médio e caudal) e intestino grosso (cólon e reto) (Figs. 2 e 3).

Espécie	Comprimento dos segmentos (cm)			
	ESO	EST	ID	IG
<i>T. torquatus</i>	1,36 ± 0,88	1,92 ± 0,31	4,58 ± 0,87	1,88 ± 0,48
<i>S. merianae</i>	4,18 ± 1,13	9,54 ± 3,39	7,4 ± 1,39	4,96 ± 1,51

Tabela 1: Média das medidas anatômicas dos exemplares de *Tropidurus torquatus* e *Salvator merianae*. Comprimento dos segmentos digestórios: esôfago (ESO), estômago (EST), intestino delgado (ID) e intestino grosso (IG), em centímetros.

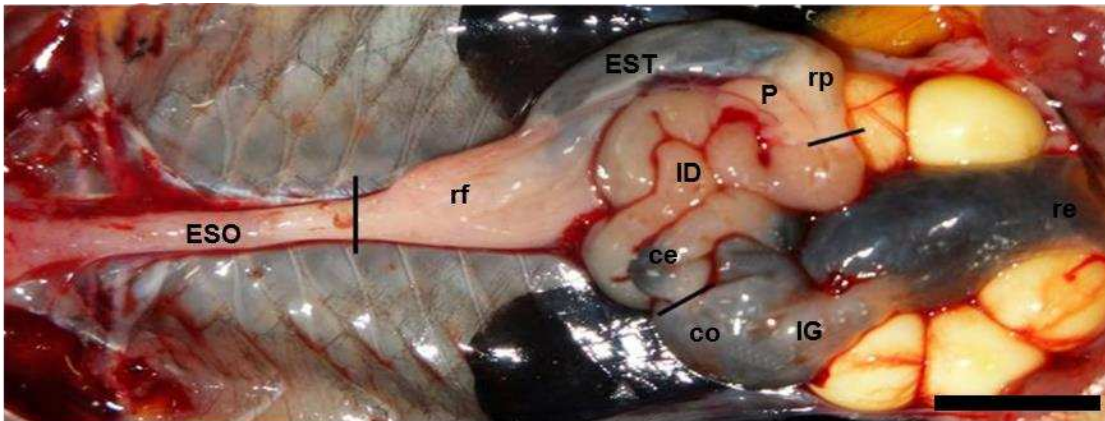


Fig. 2: Tubo digestivo de *Tropidurus torquatus* (fêmea): ce=ceco; co=cólon; ESO=esôfago; EST=estômago; ID=intestino delgado; IG=intestino grosso; P=pâncreas; re=reto; rf=região fúndica; rp=região pilórica; barra = 5mm.

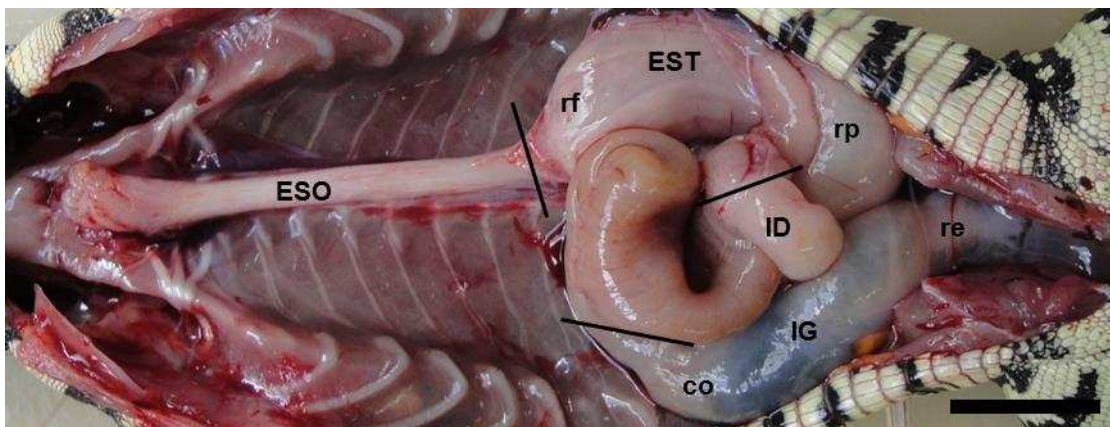


Fig. 3: Tubo digestivo de *Salvator merianae* (fêmea): co=cólon; ESO=esôfago; EST=estômago; ID=intestino delgado; IG=intestino grosso; re=reto; rf=região fúndica; rp=região pilórica; barra= 20mm.

2.2 Análises histológicas e histoquímicas

Os fragmentos coletados foram lavados em solução salina e fixados em formalina de Carson (Carson et al., 1973), por 24 horas. Os fragmentos fixados foram desidratados em série crescente de álcool etílico, incluídos em parafina histológica (paraplast), seccionados com micrótomo rotativo manual (Olympus America Inc. CUT 4055), obtendo-se seções de 5 μm de espessura, que foram colocadas em lâminas histológicas e submetidas às técnicas de impregnação pela prata, Grimelius para células endócrinas argirófilas (Grimelius e Wilander, 1980) e Masson-Fontana (Barbosa et al., 1984) porem

adaptado para as células argentafins (Anexo 1 A e B), tendo como controles positivos lâminas de estômago e duodeno de macaco.

2.3 Registro fotográfico e morfometria das imagens histológicas

A observação e o registro fotográfico das secções foram realizados em microscópio de luz Olympus BX60 acoplado com câmera digital QColor3 DP73 (Olympus).

A morfometria das células foi realizada em microscópio óptico (Nikon E100 LED) utilizando objetiva de 40X, ocular de 10X e abertura numérica ($A = \pi \cdot r^2$). Foram analisadas dez áreas aleatórias da mucosa, de quatro cortes histológicos (com espaçamento de 20 μm entre eles), de cada segmento do tubo digestório, de cada animal. A quantificação foi realizada, estabelecendo-se uma escala de frequência das células argirófilas e das argentafins: ausentes; raras, 1 a 2 células/ área; poucas, 3 a 4 células/ área; muitas 5 a 8 células/ área; elevadas, ≥ 10 células/área).

3. RESULTADOS

O tubo digestivo possui revestimento interno várias pregas longitudinais, sua parede composta por quatro túnicas, sendo elas, de dentro pra fora: mucosa, submucosa, muscular e adventícia. O epitélio é pseudoestratificado com os núcleos celulares posicionados de forma irregular dando a impressão de possuir mais de uma camada de células. Há três tipos de células epiteliais: células prismáticas ciliadas, células caliciformes mucossecretoras e células basais germinativas. As células ciliadas são alongadas e apresentam núcleo central ou apical, com formato oval. Tais células encontram-se intercaladas com as células caliciformes, que também são alongadas e possuem núcleo basal em forma de “meia lua”.

Foram identificadas no epitélio de revestimento e glandular, células enteroendócrinas argirófilas e argentafins distribuídas em diversas regiões e com variadas morfologias no tubo digestivo de ambas as espécies. As células endócrinas do “tipo fechado”, cujo ápice não tem contato com o lúmen intestinal, são identificadas principalmente no corpo e fundo gástricos, enquanto aquelas do “tipo aberto”, com comunicação apical com o lúmen, predominam no restante do tubo digestivo, entretanto, devido à posição variada dos cortes, não foi possível esta confirmação em nosso estudo. Tais células apresentam núcleo elíptico, arredondado ou, acompanhando a morfologia celular, e citoplasma repleto de grânulos impregnados em marrom e/ou preto nas células argirófilas e argentafins, geralmente concentrado na região infranuclear. A intensidade da marcação pela prata, principalmente na técnica de Grimelius, variou entre segmentos e inclusive dentro de um mesmo segmento do trato digestório.

3.1 Esôfago

No epitélio de revestimento e glandular esofágico de *T. torquatus* não foram observadas células endócrinas argirófilas (Fig. 4A), entretanto em *S. merianae*, observamos a presença espaçada destas células nas glândulas da porção caudal do epitélio de revestimento glandular (Fig. 4B). Tais células argirófilas estão presentes na base da glândula gástrica. Raras células endócrinas argentafins foram identificadas isoladas no epitélio de revestimento esofágico das espécies estudadas, sendo elas com morfologia piramidal ou ovalada. (Figs. 4C e D).

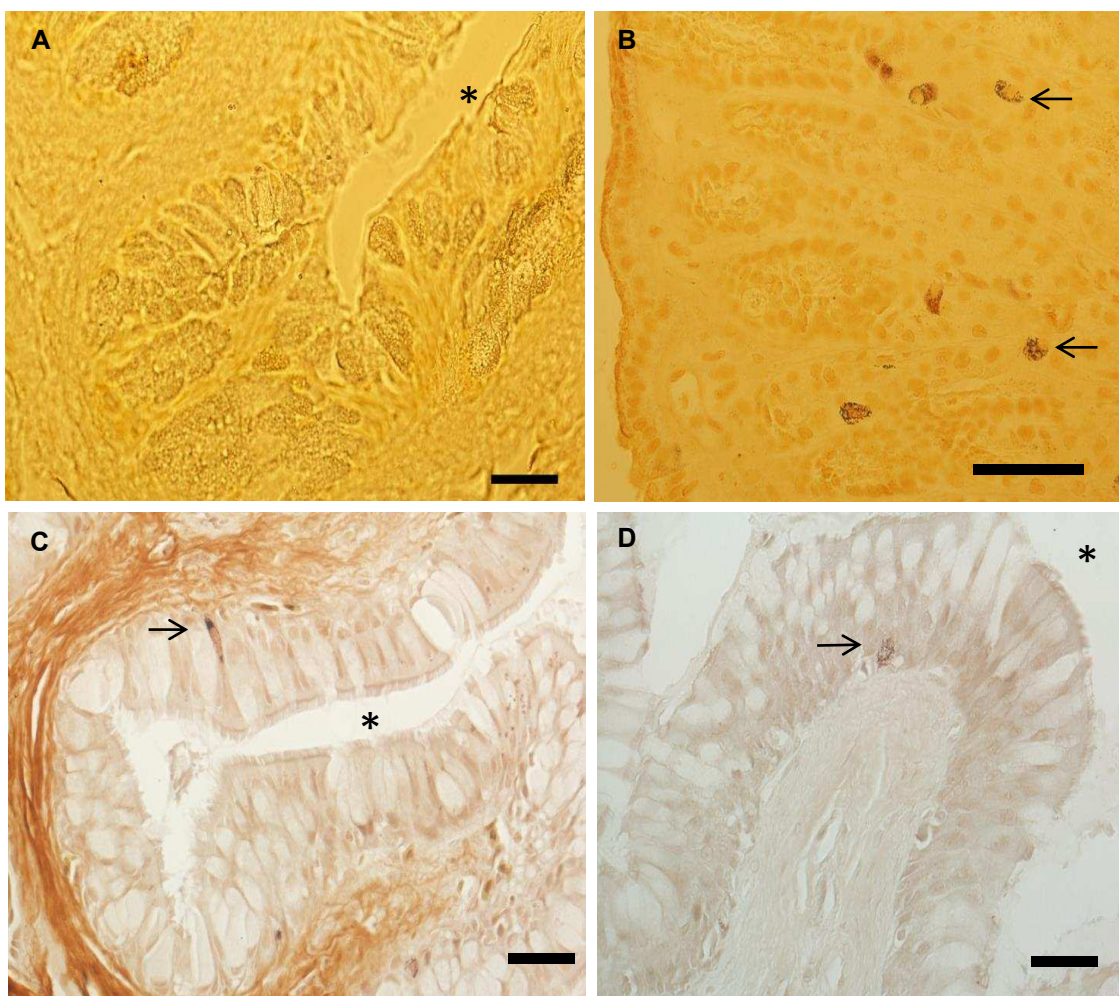


Fig. 4: Fotomicrografias do esôfago caudal de *Tropicurus torquatus* (A-C) e *Salinator merianae* (B-D), evidenciando as células endócrinas argirófilas e argentafins (setas). Grimelius (A-B), Masson-Fontana (C-D). *=lúmen; barra= 20 μ m.

3.2 Estômago

Células endócrinas argirófilas são distribuídas no epitélio de revestimento da superfície e das fossetas e, em maior abundância, nas glândulas, foram observadas no segmento fúndico de ambas as espécies (Figs. 5A e B). Na região pilórica, tais células argirófilas possuem localização predominante nas glândulas (Figs. 5C e D). Também foram identificadas células argentafins nos segmentos fúndico (Figs. 5E e F) e pilórico (Figs. 5G e H) das espécies estudadas, distribuídas no epitélio de revestimento e nas glândulas gástricas.

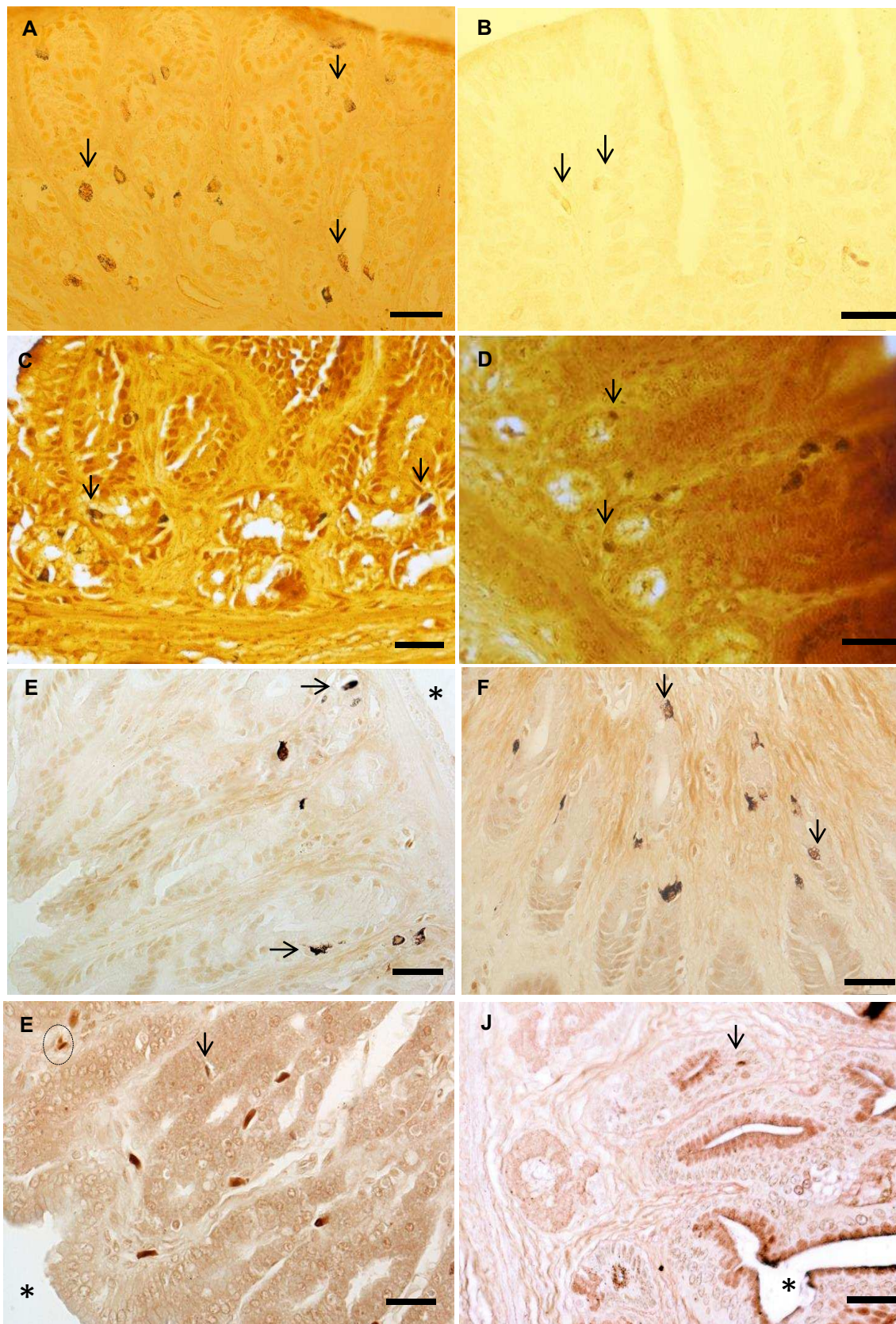


Fig. 5: Fotomicrografias do estômago de *Tropidurus Torquatus* (A, C, E, e G) e *Salvator merianae* (B, D, F e H), evidenciando as células endócrinas argirófilas e argentafins (setas). Grimelius. (A-B) região fúndica, (C-D) região pilórica. Masson-Fontana. (E-F) região fúndica (G-H) região pilórica *=lúmen; círculo pontilhado= hemácia; barra= 20 μ m.

3.3 Intestino delgado

Em *T. torquatus* as células argirófilas foram encontradas dispersas em meio às células epiteliais que revestem a base das pregas intestinais predominantemente nos segmentos cranial, médio e caudal, com morfologia oval a alongada, podendo ser bastante afilada (Fig. 6A). Em *S. merianae* as poucas e pequenas células argirófilas foram observadas em todas as regiões do intestino (Fig. 6B). As células argentafins em ambas as espécies, predominaram no intestino delgado médio e caudal (Figs. 6C e D).

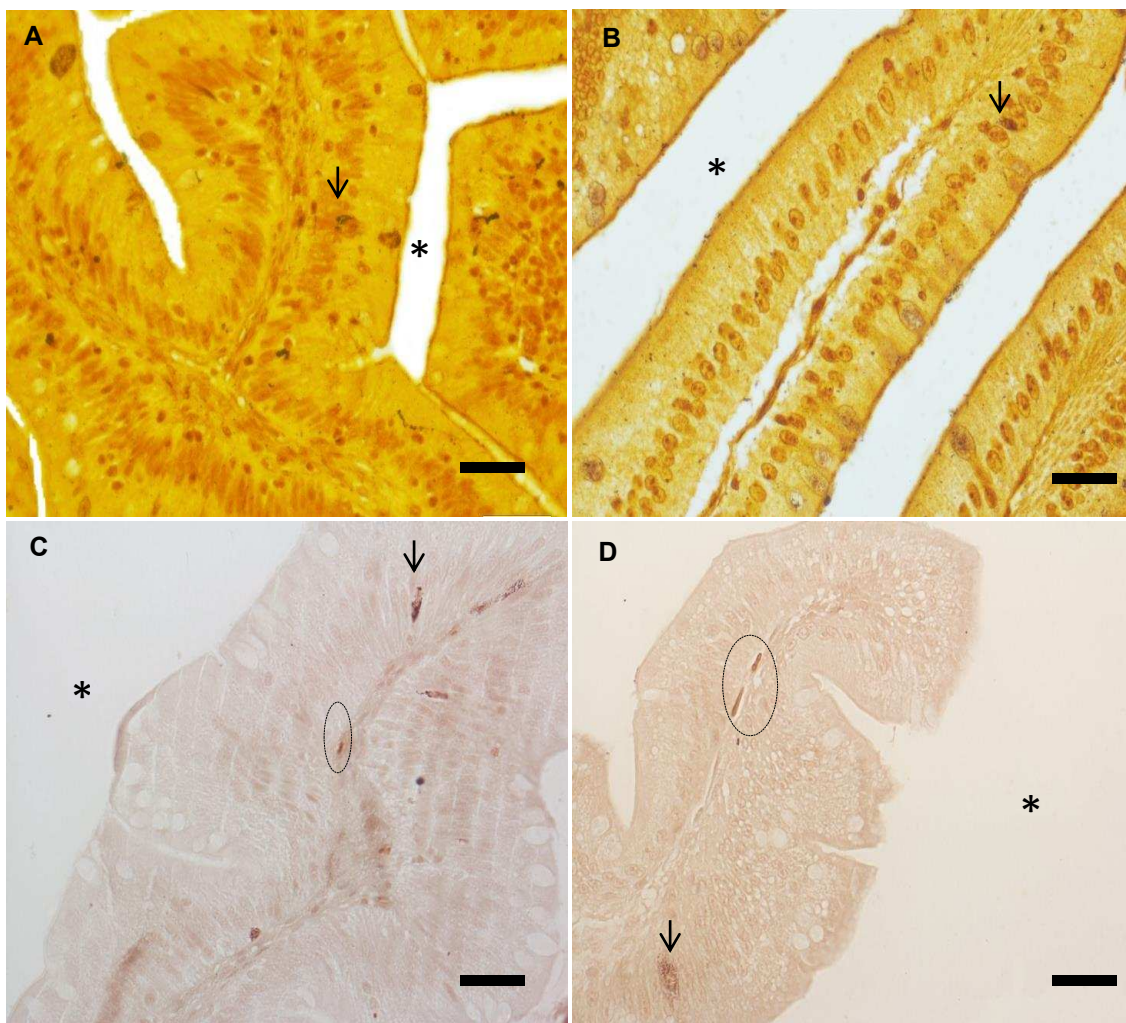


Figura 6: Fotomicrografias do intestino delgado de *Tropicurus torquatus* (A e C) *Salvator merianae* (B e D), evidenciando as células endócrinas argirófilas (setas). Grimelius. (A) Secção do intestino delgado médio (B) Secção do intestino delgado caudal. Masson-Fontana. (C e D) Secção intestino médio. *=lúmen, círculo pontilhado= hemácias; barra 20µm.

3.4 Intestino grosso

Em ambas as espécies as células argirófilas apresentam morfologia piramidal à alongada nas diferentes porções do intestino grosso: transição entre intestinos delgado e grosso (ceco presente em *T. torquatus* e ausente em *S. merianae*) (Figs. 7A e B), cólon (Figs. 7C e D) e reto (Figs. 7E e F). Já as células argentafins presentes no intestino grosso possuem diferentes morfologias, podendo os grânulos estar concentrados na região supra nuclear (Figs. 8G e H).

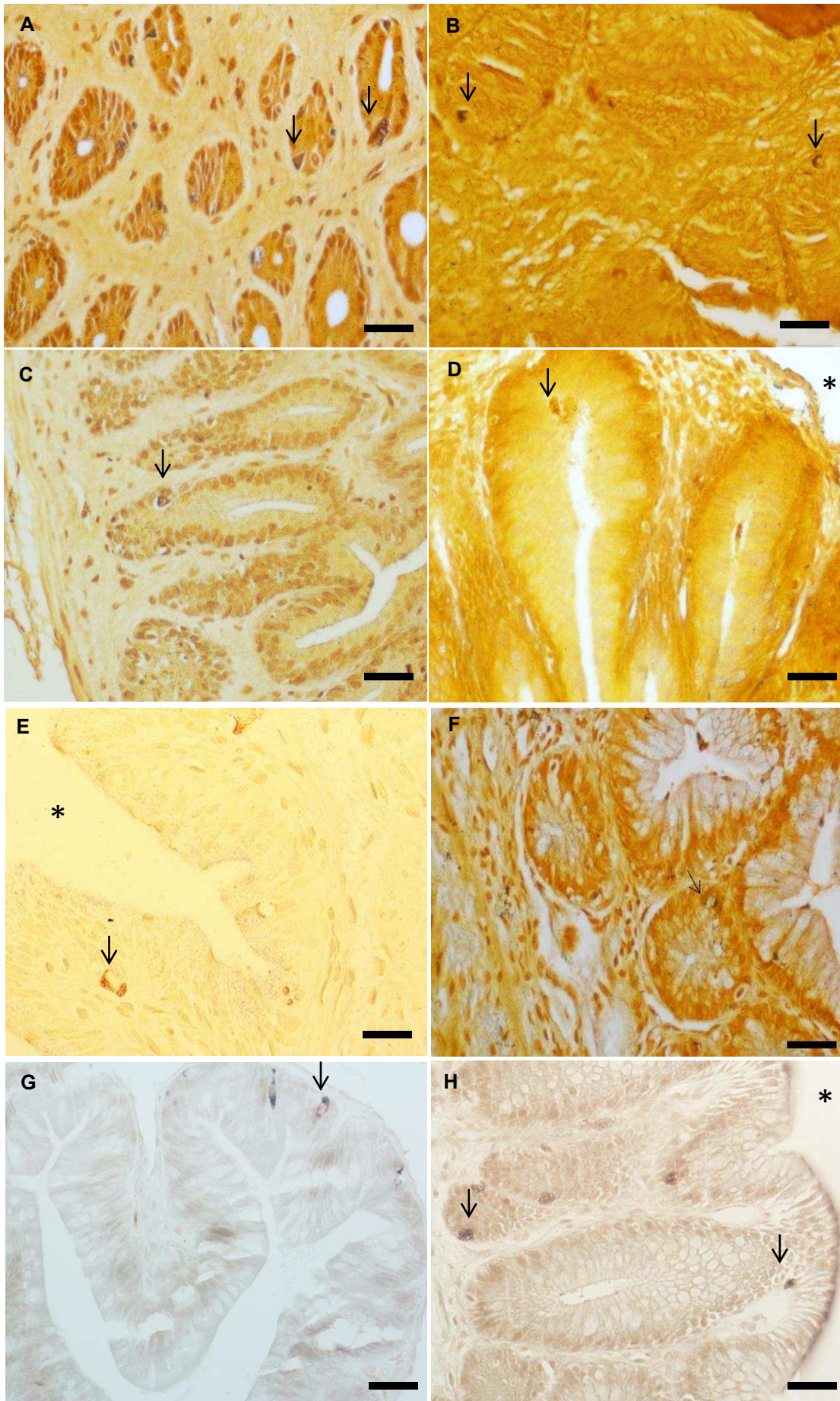


Figura 7: Fotomicrografias do intestino grosso de *Tropidurus torquatus* (A, C, E e G) e *Salvator merianae* (B, D, F e H), evidenciando as células endócrinas argirófilas e argentafins (setas). Grimelius. (A-B) Secção da transição do intestino delgado-intestino grosso. (C-D) Secção do cólon. (E-F) Secção do reto. Masson-Fontana. (G-H) Secção de transição e intestino grosso e reto. *=lúmen; barra 20µm.

3.5 Frequência das células enteroendócrinas de *Tropidurus torquatus* e *Salvator merianae*

Comparando a frequência das células enteroendócrinas, notamos que o padrão de células argirófilas e argentafins difere entre as espécies (Figs. 9 e 10).

As células argirófilas não foram observadas no esôfago em *T. torquatus* (Fig. 9A), no entanto, em *S. merianae* estiveram presentes na porção caudal com aproximadamente quatro células/área (Fig. 9B). As células argentafins estiveram presentes somente na região caudal do esôfago e com frequência semelhante em ambas às espécies, apresentando raras células (Figs. 10A e B).

No estômago de *T. torquatus* há aumento considerável no número de células argirófilas nas regiões fúndica e pilórica, com aproximadamente oito células/área (Fig. 9A). Em *S. merianae* a mesma frequência é encontrada nas porções fúndicas, com aproximadamente duas células/ área, e aumenta consideravelmente na porção pilórica, com variações de cinco até oito células/área (Fig. 9B). Para as células argentafins, em *T. torquatus* a porção fúndica apresenta aproximadamente quatro células/área, com aumento da frequência na porção pilórica, aproximadamente oito células/área (Fig. 10A). Já em *S. merianae* a porção fúndica possui aproximadamente quatro células/área e reduz para raras células na porção pilórica (Fig. 10B).

Na região entre estômago e intestino delgado as células argirófilas em *T. torquatus* e *S. merianae* apresentaram frequência de até quatro células/área e reduzindo esta frequência sentido intestino delgado (Figs 9A e B). A distribuição de células argentafins em ambas as espécies foi menor comparado às argirófilas, com frequência de até duas células/área em toda região de transição (Figs. 10 A e B).

No intestino delgado as células argirófilas foram constatadas no epitélio das porções cranial, médio e caudal em *T. torquatus* e em *S. merianae*, com frequência de até duas células/área em ambas as espécies (Figs. 9A e B). O padrão de distribuição de células argentafins (Fig. 10) em *T. torquatus* e *S. merianae* foi semelhante, existindo células no epitélio das porções médio e caudal, com raras células/área (Figs. 10A e B).

Em *T. Torquatus* o número de células argirófilas aumenta sentido ao intestino grosso, onde há cerca de oito células/área (Fig. 9A) e o número de células argirófilas também aumenta nesta região em *S. merianae*, embora este número, aproximadamente três células/ área (Fig. 9B), seja menor que em *T. torquatus*. A frequência é reduzida nas porções do intestino grosso em ambas as espécies, inclusive no ceco de *T. torquatus*, com raras células/área (Figs 9A e B). Ambas as espécies possuem células argentafins nas porções do intestino grosso (Figs. 10A e B), sendo em maior quantidade, aproximadamente quatro células/área, em *S. merianae* entre os intestinos delgado-grosso e intestino grosso-retos.

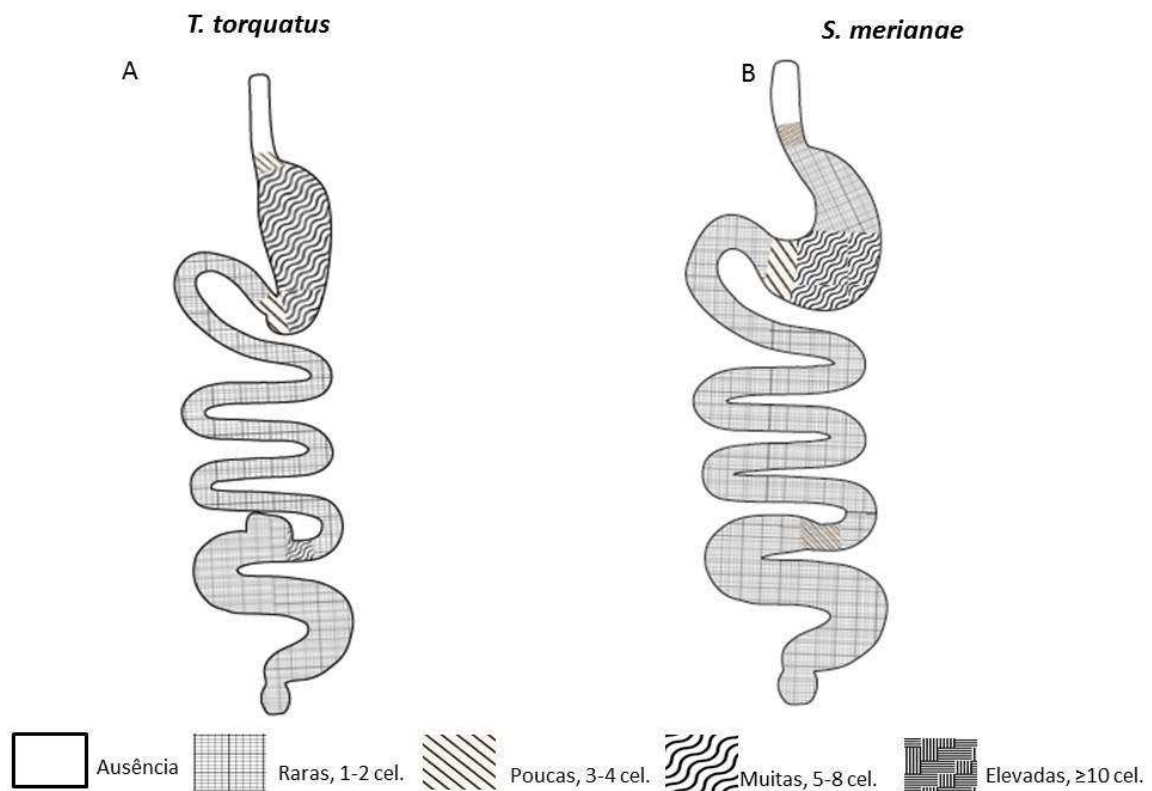


Figura 9: Desenho esquemático mostrando a distribuição e frequência relativa de células enteroendócrinas argirófilas de *Tropidurus torquatus* e *Salvator merianae*. Número médio de células argirófilas por campo (ausência/raras 1-2 células/poucas 3-4 células/muitas 5-8 células/elevadas ≥ 10 células).

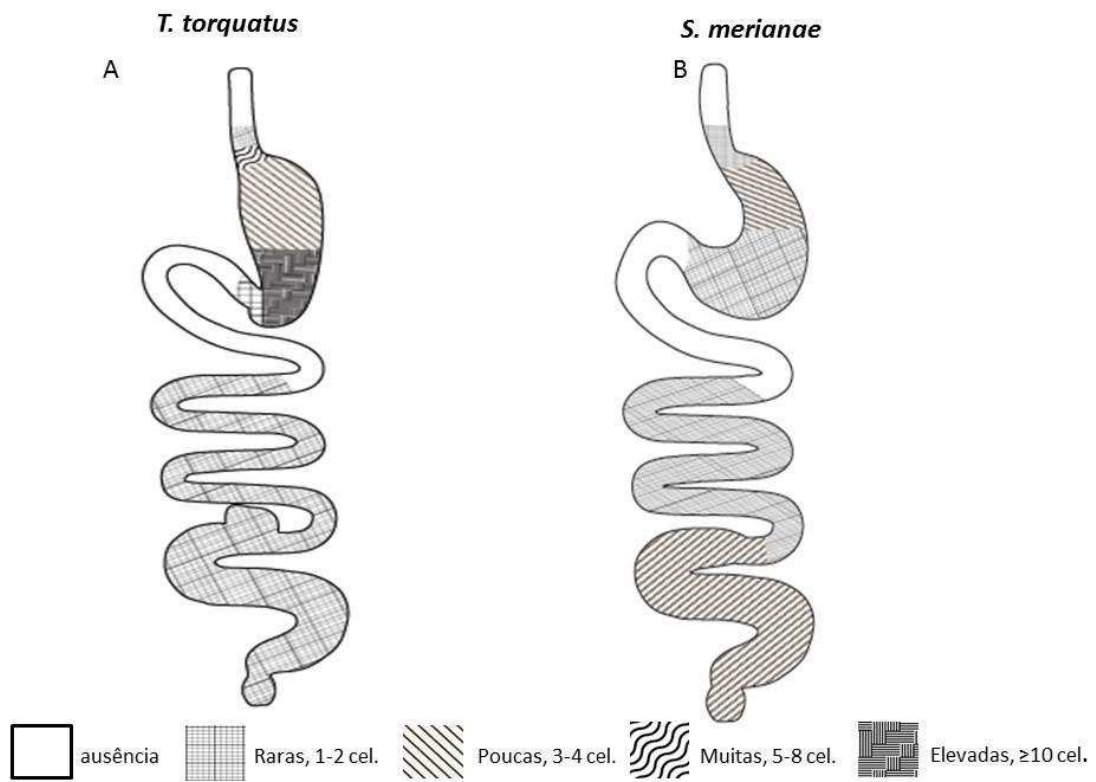


Figura 10: Desenho esquemático mostrando a distribuição e frequência relativa de células enteroendócrinas argentafins de *Tropidurus torquatus* e *Salvator merianae*. Número médio de células argirófilas por campo (ausência/raras 1-2 células/poucas 3-4 células/muitas 5-8 células/elevadas ≥ 10 células).

4. DISCUSSÃO

Em nosso estudo observamos a presença das células argirófilas no esôfago, foram detectadas somente em *S. merianae*, no epitélio glandular que surge a partir da porção caudal, o que nos permite inferir que elas estão envolvidas com o controle da secreção. Segundo Rodrigues et al. (2015), tais glândulas secretam muco, para proteção e lubrificação. Células argirófilas e também argentafins, foram observadas na mucosa esofágica da serpente *Xenodon merremii* (Ferri et al., 1976) e do muçua *Kinosternon scorpioides* (Pereira et al., 2005). A ausência de células argirófilas no esôfago de *T. torquatus* nos leva a questionar se toda célula argentafim seria argirófila, como afirmado por Santos e Zucoloto (1996). Células argentafins, mas não argirófilas também foram observadas no esôfago da lagartixa *Hemidactylus mabouia* (Rodrigues, 2009) e da rã-touro *Rana catesbeiana* (Nada et al., 1984). Dada a ausência de células endócrinas argirófilas e a presença de neurônios bem próximos às glândulas esofágicas, Rodrigues et al. (2015) sugeriram maior participação do controle neural para a secreção. Portanto, podemos inferir que as células argirófilas possuem controle endócrino acima do controle neural, devido à necessidade de manter o alimento por mais tempo no tubo digestivo, para a absorção.

Quanto às células argentafins no epitélio de revestimento esofágico de *Tropidurus torquatus* e *Salvator merianae*, que é do tipo ciliado com células caliciformes. De acordo com Grimelius e Wilander (1980), as células argentafins são produtoras de serotonina, mediador parácrino conhecido por estimular a contração da musculatura lisa do tubo digestivo, e que também pode estar envolvido no mecanismo regulatório do movimento ciliar no esôfago (Perez-Tomas et al., 1989). Assim sendo, pode-se dizer que tais células são importantes no controle da passagem do alimento, haja vista que o epitélio ciliado direciona o alimento para o estômago, auxiliado pelos movimentos peristálticos (Duellman e Trueb, 1985; Pereira et al., 2005; Rodrigues et al., 2015).

Quanto à morfologia das células endócrinas do estômago das espécies estudadas houve predomínio das células arredondadas, distribuídas principalmente nas glândulas gástricas. De acordo com Fujita e Kobayashi

(1977), as células endócrinas do “tipo fechado”, cujo ápice não tem contato com o lúmen intestinal, são identificadas principalmente no corpo e fundo gástricos, enquanto aquelas do “tipo aberto”, com comunicação apical com o lúmen, predominam no restante do tubo digestivo, entretanto, devido à posição variada dos cortes, não foi possível esta confirmação em nosso estudo.

No estômago das espécies estudadas nossos resultados mostraram que em *T. torquatus* as células argentafins são mais numerosas na região pilórica. Independente da distribuição e frequência das células endócrinas nas regiões do estômago, elas certamente participam do controle parácrino e telócrino da secreção e motilidade gástricas. Inclusive, dentre os segmentos estudados, o estômago foi o que apresentou maior número de células enteroendócrinas, talvez por ser um local de maior permanência do conteúdo alimentar. A presença de células argirófilas e argentafins, semelhante ao descrito em *H. mabouia* (Arena et al., 1990; Rodrigues-Sartori et al., 2011, 2014; Pereira et al., 2015. Segundo Luppá (1977), no estômago dos répteis as células argirófilas estão localizadas principalmente na região fúndica e nas glândulas pilóricas, enquanto as células argentafins estão presentes na região superior das glândulas fúndicas.

Células endócrinas argirófilas e argentafins foram observadas no intestino delgado de ambas as espécies, exceto na porção cranial de *T. torquatus*, em que, mais uma vez, identificamos células argentafins, mas não argirófilas, contradizendo a premissa de Santos e Zucoloto (1996). As células argentafins, como produtoras de serotonina (Grimelius e Wilander, 1980), são cruciais para o controle das funções digestivas. A serotonina é secretada em resposta a alterações no conteúdo do lúmen intestinal (Drapanas et al., 1962; Li et al., 2000), e atua estimulando terminações nervosas aferentes para evocar alterações reflexas na motilidade gástrica, retardando o esvaziamento gástrico durante a fase intestinal da digestão (Raybould, 2002). A serotonina também é conhecida por estimular a contração da musculatura lisa entérica e por provocar a secreção exócrina (Ceccarelli et al., 1995).

O intestino delgado das espécies estudadas foi o segmento onde as células endócrinas apresentaram menor número e tamanho, e maior variação morfológica. O menor número encontrado pode implicar em menor papel endócrino e maior participação neural nas funções intestinais, o que é uma

característica primitiva, haja vista que o sistema nervoso surgiu primeiro que o endócrino na evolução dos sistemas de controle (Falkmer, 1993). Outro cofator refer-se a atrofia do intestino durante a hibernação está principalmente relacionada com a diminuição da altura dos vilos, e conseqüentemente, diminuição da mucosa intestinal demonstrada em mamíferos e observados em *S. merianae* (Simões, 2012) que tiveram a mesma resposta após o jejum sazonal e ao jejum prolongado de 60 dias e pode representar um importante ajuste em termos energéticos.

Pela análise nas espécies estudadas percebemos o quão diferem em número de células quando comparamos com outras espécies, por exemplo, a presença maior em número de células nas espécies dos mamíferos *Hydrochoerus hydrochaeris* (Bressan et al., 2005), *Didelphus aurita* (Fonseca et al., 2002, Freitas-Ribeiro et al., 2011, Basile et al. 2012); da ave *Caracara plancus* (Almeida et al., 2016); do peixe *Barbusa conchoni* (Rombout, 1977); e do anfíbio *Rana temporaria* (Valverde et al., 1993). O menor número também pode ser devido à dificuldade de identificação destas células no epitélio intestinal, em razão do seu pequeno tamanho, da sua morfologia muito afilada. O menor tamanho das células endócrinas neste segmento se deve ao fato delas ficarem comprimidas em meio às demais células do epitélio, que é densamente ocupado por células absortivas e caliciformes, possivelmente de modo compensatório pela inexistência de vilos e criptas. A maior variação morfológica reflete a diversidade de células endócrinas no intestino delgado, com secreção de diferentes hormônios e com diferentes mecanismos de ação, embora as técnicas de Grimelius e Masson-Fontana não discriminem tais tipos celulares.

Segundo estudos de Grimelius e Wilander (1980), a técnica de Grimelius cora quase todas as células endócrinas do trato gastrointestinal, exceto as células produtoras de colecistocinina e as produtoras de somatostatina, enquanto o método de Masson-Fontana cora as células enterocromafins do tipo I (estoque de serotonina e substância P) e do tipo II (estoque de serotonina e motilina). A variação na intensidade de marcação pela prata pode ser devido às diferenças entre os diversos tipos de células enteroendócrinas ou diferenças fisiológicas momentâneas entre estas células.

Nas espécies estudadas, a transição entre os intestinos delgado e grosso, assim como na transição esôfago-gástrica, é local de muitas células argirófilas, que possivelmente atuam sobre esfíncteres ou valvas para controle da passagem do bolo e prevenção do refluxo. Nos intestinos dos mamíferos, as células enteroendócrinas estão localizadas principalmente nas glândulas, entretanto em muitos répteis as glândulas ou criptas intestinais são inexistentes, ou existem somente no intestino grosso, como em *T. torquatus* e *S. merianae*, em que há depressões semelhantes às criptas intestinais, onde foram observadas as células endócrinas argirófilas e argentafins. Perez-Tomas et al. (1989) e Tarakçi et al. (2005) identificaram células imunorreativas à serotonina no epitélio da superfície e das glândulas no intestino grosso de répteis, sugerindo que este mediador químico tem ação trófica sobre o epitélio intestinal.

5. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho concluíram que as características morfológicas, a distribuição e a frequência das células endócrinas argirófilas e argentafins no tubo digestivo de *Tropidurus torquatus* e *Salvator merianae* podem refletir aspectos funcionais da digestão e do regime alimentar, ou mesmo aspectos evolutivos do sistema digestório.

Dentre os aspectos ecológicos, ambas as espécies possuem atividade e dieta com variação sazonal e considerável plasticidade no uso de distintos habitats, ademais, ambas as espécies são semelhantes em relação ao hábito alimentar, entretanto com comportamentos alimentares diferentes e particularidades na dieta, um fator relevante e certo que interfere no perfil populacional das células do trato digestório, uma vez que este possui plasticidade celular.

Distintamente, *S. merianae* possui dormência sazonal e permanece por um longo período sem se alimentar e que o epitélio do intestino pode responder à ausência/presença de nutrientes luminais através de ajustes morfológicos e funcionais importantes.

A presença do ceco somente em *T. Torquatus* nos intriga, devido estar relacionado com o hábito alimentar herbívoro, entretanto, a dieta não é um preditor da presença e tamanho do ceco como é sabido em outras espécies reptilianas.

No presente trabalho pudemos associar a distribuição e frequência das células argirófilas e seu papel na ação endócrina; das células argentafins e sua ação no controle/estímulo da peristalse nas diferentes espécies. As alterações histomorfológicas do trato digestório de *T. tropidurus* e *S. merianae*, parecem refletir um compromisso entre a variação na demanda associada à alimentação e os custos de manutenção (ou regulação) do trato digestório.

6. CONCLUSÃO GERAL

Analisar a morfologia do trato digestório dos répteis através da fantástica ferramenta de revisão sistemática mostrou que todos os trabalhos avaliados contribuíram para a pesquisa científica, enriquecendo os fatores importantes na morfologia e os processos digestivos que cada espécie dispõe para a sua nutrição. A variação entre a qualidade e quantidade de dados gerados, reflete as limitações metodológicas de cada época, e não desvaloriza e não reflete a qualidade da investigação realizada. Incorporamos com a revisão sistemática pontos norteadores e sugestões das ferramentas mais eficazes na descrição morfológica mais acurada. Ampliando o estudo, realizamos o mapeamento e caracterização do perfil das células enteroendócrinas de *T. torquatus* e *S. merianae* nos permitiu relacionar a frequência e distribuição de ambas as espécies com os aspectos ecológicos, dentre eles, o comportamento alimentar nos distintos habitats e os aspectos funcionais da digestão. Ampliando este estudo, pesquisas futuras do perfil imunohistoquímico poderão complementar as lacunas e questionamentos ainda não elucidados.

7. REFERÊNCIAS

- Abe AS. 1995. Estivation in South-American Amphibians and Reptiles. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 28(11-12), 1241-1247.
- Andrew W, Hickman CP. 1974. *Histology of the vertebrates. A comparative text.* Saint Louis: The C. V. Mosby Company. 439 p.
- Almeida WM, Fraga KB, Aguiar Júnior FCA, Magalhães CP. 2016. Análise histológica do trato intestinal do *Carcara plancus* (Miller, 1977). *Cienc. anim. bras.*, Goiânia, v.17, n.3, p. 425-434.
- Araújo AFB. 1987. Comportamento alimentar dos lagartos: o caso dos *Tropidurus* do grupo *Torquatus* da Serra de Carajás, Pará (Sauria: Iguanidae). *An Etol.* 5: 203-234.
- Ávila-Pires TCS. 1995. Lizards of Brazilian Amazonia (Reptilia: Squamata). *Zool Verh Leiden.* 1995: 3-706.
- Barbosa AJA, Castro LPF, Nogueira AMF. 1984. A simple and economical modification of the Masson-Fontana method for staining melanin granules and enterochromaffin cells. *Stain Technology*, v. 59, n.4, p. 193-196.
- Basile DRS, Novaes RD, Marques DCS, Fialho MCQ, Neves CA, Fonseca CC. 2012. Analysis of the morphology and distribution of argentaffin, argyrophil and insulin-immunoreactive endocrine cells in the small intestine of adult opossum *Didelphis aurita* (Wied-Neuwied, 1826). *Tissue & Cell.* 44, 301-307.
- Bergallo HG, Rocha CFD. 1993. Activity patterns and body temperatures of two sympatric lizards (*Tropidurus torquatus* and *Cnemidophorus ocellifer*) with different foraging tactics in southeastern Brazil. *Amphibia-Reptilia.* 14: 312-315.
- Bergallo HG, Rocha CFD. 1994. Spatial and trophic niche differentiation in two sympatric lizards (*Tropidurus torquatus* and *Cnemidophorus ocellifer*) with different foraging tactics. *Australian Journal of Ecology.* 19: 72-75.
- Bressan MS, Fonseca CC, Menin E, Paula TAR. 2005. Aspectos Anátomo-Histológicos e Neuroendócrinos do ceco da capivara *Hydrochoerus hydrochaeris* Linnaeus, 1766 (Mammalia, Rodentia). *Arq. ciên. vet. zool. UNIPAR*, 8(2): p. 197-203.
- Campbell JA, Lamar WW. 2004. *Os répteis venenosos do Hemisfério Ocidental.* Comstock Publishing Associates, Ithaca and London. Comstock Publishing Associates, Ithaca e Londres. 870 pp.
- Carson FL, Martin JH, Lynn JA. 1973. Formalin fixation for electron microscopy: a re-evaluation. *American Journal of Clinical Pathology.* 59: 365-373.

Ceccarelli P, Pedini V, Gargiulo AM. 1995. The endocrine cells in the gastroenteric tract of adult fallow deer (*Dama dama*L.). *Anat. Histol. Embryol.* 24, 171-174.

Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA. 1991. “Princípios Éticos para o Uso de Animais de Laboratório”. <http://www.cobea.org.br> .

Dayal Y, Delellis RA, Wolf HJ. 1987. Hiperplastic lesion of the gastrointestinal endocrine cells. *The American Journal of Surgical Pathology*, v. 11, n. 87.

Dockray GJ. 2006. Gastrointestinal hormones: gastrin, cholecystokinin, somatostatin and ghrelin. In: Johnson, L.R. (Ed.), *Physiology of the Gastrointestinal Tract*. Academic Press, p. 91–120.

Drapanas T, McDonald JC, Stewart, JD. 1962. *Serotonin release following instillation of hypertonic glucose into the proximal intestine*. *Ann Surg* 156: 528–536.

Drucker DJ. 2007. The role of gut hormones in glucose homeostasis. *The Journal of Clinical Investigation*, v.117, p. 24-32.

Falkmer S. 1993. Phylogeny and ontogeny of the neuroendocrine cells of the gastrointestinal tract. *Endocrinol. Metabol. Clin. North American*, v22, n.4, p.731-751.

Ferri D, Liquori GE, Scillitani G. 1999. Morphological and histochemical variations of mucous and oxynticopeptic cells in the stomach of the seps, *Chalcides chalcides*. *Journal of Anatomy*. 194: 71-77.

Ferri S, Junqueira LC, Medeiros LO. 1976. Gross, microscopic and ultrastructural study of the Intestinal tube of *Xenodon merremii* Wagler, 1824 (Ophidia). *Journal of Anatomy*. 121(Pt 2): 291-301.

Fialho RF, Rocha CFD, Vrcibradic D. 2000. Feeding Ecology of *Tropidurus torquatus*: Ontogenetic Shift in Plant Consumption and Seasonal Trends in Diet. *Journal of Herpetology* 34 (2): 325-330.

Fujita T, Kobayashi S. 1977. Structure and function of gut endocrine cells. *International Review of Cytology*, Suppl. 6, p. 187-233.

Fonseca CC, Nogueira JC, Barbosa AJ. 2002. Argrophilic and Glucagon-immunoreactive cells in the ileum and colon of the developing opossum *Didelphis albiventris* (Marsupialia). *Cells Tissues and Organs* 170: 20-33.

Freitas-Ribeiro GM, Fonseca CC, Sartori SSR, Loures-Ribeiro A, Neves CA. 2012. Endocrine cells and nerve ganglia of the small intestine of Opossum *Didelphis aurita* (Wied-Neuwied, 1826). *Acta Sci. Biol. Sci.* 33, 479-485.

George LL, Alves CER, Castro RRL. 1998. *Histologia comparada*. São Paulo: Editora Roca. 286 p.

- Giaretta AA. 1996. Lacertilia: *Tropidurus torquatus* (NCN). Home range. *Herpetol Rev.* 27: 80-81.
- Grimelius L, Wilander E. 1980. Silver stains in the study of endocrine cells of the gut and pancreas. *Investigative Cell Pathology*, v. 3, p. 3-12.
- Harvey MB, Ugueto GN & Gutberlet-Jr RL. 2012. Review of Teiid Morphology with a Revised Taxonomy and Phylogeny of the Teiidae (Lepidosauria: Squamata). *Zootaxa*, 3459: 1–156.
- Kendzierski SK, Pansky B, Budd GC, Saffran M. 2000. Evidence for Biosynthesis of Preproinsulin in Gut of Rat. *Endocrine*. v. 13, n. 3, p. 353-359.
- Li Y, Hao Y, Zhu J, Owyang C. 2000. Serotonin released from intestinal enterochromaffin cells mediates luminal non-cholecystokinin-stimulated pancreatic secretion in rats. *Gastroenterology* 118: 1197–1207.
- Klein W, Perry SF, Abe AS, Andrade DV. 2006. Metabolic response to feeding in *Tupinambis merianae*: Circadian rhythm and a possible respiratory constraint. *Physiological and Biochemical Zoology*, 79(3), 593-601.
- Luppa H. 1977. Histology of the digestive tract. In *Biology of the Reptilia* (ed. Gans C. Parsons TS). London: Academic Press. p. 225-302.
- Magalhães MS. 2010. Morfologia do tubo digestório aplicada à compreensão da dieta em quelônios da família Podocnemididae. Manaus : [s.n.], xii, 78 f. : il. color.
- Moran TH. 2009. Gut peptides in the control of food intake. *International journal of obesity*. 33: 7-10.
- Owyang C, Logsdon CD. 2004. New insights into neurohormonal regulation of pancreatic secretion. *Gastroenterology*. 127: 957-969.
- Pereira JG, Fonseca CC, Menin E, Neves MTD. 2005. Estudo histológico e histoquímico do esôfago do muçã *Kinosternon scorpioides* Linnaeus, 1766 (Reptilia, Chelonia, Kinosternidae). *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR*. 8(1): 3-10.
- Perez-Tomas R, Ballesta J, Pastor LM, Madrid JF, Polak JM. 1989. Comparative immunohistochemical study of the gastroenteropancreatic endocrine system of three reptiles. *General and Comparative Endocrinology*. 76: 171-191.
- Polak JM, Bishop AE, Barbosa AJA, Bloom SR. 1993. Hormônios gastrointestinais. In: Dani, R., Castro, L.P. *Gastroenterologia Clínica*. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara-Koogan, 1446-1465 p.
- Raybould HE. 2002. Visceral perception: sensory transduction in visceral afferents and nutrients *Gut*,51(Suppl I):i11–i14.

Raybould HE, Glatzle J, Freeman SL, Whited K, Darcel N, Liou A, Bohan D. 2006. Detection of macronutrients in the intestinal wall. *Autonomic Neuroscience*, 125: 28-33.

Rindi G, Leiter AB, Kopin AS, Bordi C, Solcia E. 2004. The “normal” endocrine cells of the gut changing concepts and new evidences. *The New York Academy of Sciences*. 1014: 1-12.

Rombout JHW. 1977. Células enteroendócrinas no trato digestivo de *Barbus conchoni* (teleostei , cyprinidae). Dezembro, Volume 185, Edição 4 , pp 435-450.

Rodrigues MT. 1987. Sistemática, Ecologia e Zoogeografia dos *Tropidurus* do grupo *torquatus* ao Sul do Rio Amazonas (Sáuria: Iguanidae). *Arquivos de Zoologia*. 31(3): 105-230.

Rodrigues SS. 2009. Morfologia do tubo digestivo da lagartixa *Hemidactylus mabouia* (Moreau de Jonnés, 1818) (Squamata: Gekkonidae). Tese de Doutorado (Biologia Celular e Estrutural). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG. 110p.

Rodrigues Sartori SS, Nogueira KOPC, Rocha AS, Neves CA. 2011. Morphology of the stomach of the tropical house gecko *Hemidactylus mabouia* (Squamata: Gekkonidae). *Acta Zoologica* (Stockholm) v. 92, p. 179-186.

Rodrigues-Sartori SS, Nogueira, KOPC, Rocha AS, Neves CA. 2014. Functional morphology of the gut of the tropical house gecko *Hemidactylus mabouia* (Squamata: Gekkonidae). *Animal Biology* 64, 217-237.

Rodrigues Sartori SS, Nogueira KOPC, ARAÚJO VA, NEVES CA. 2015. Functional morphology of the esophagus of the tropical house gecko *Hemidactylus mabouia* (Squamata: Gekkonidae). *Animal Biology* (Print), v. 65, p. 177-191.

Santos GC, Zucoloto S. 1996. Células endócrinas gastrointestinais: Breve histórico e principais métodos de identificação à microscopia óptica. *Arquivos de Gastroenterologia*, v. 33, n.1, p. 36-43.

Schonhoff SE, Giel-Moloney M, Leiter AB. 2004. Minireview: Development and differentiation of gut endocrine cells. *Endocrinology*, 145: 2639-2644.

Simões BMV. 2012. Caracterização histomorfométrica do intestino delgado do lagarto teiú, *Tupinambis merianae*, em resposta à dormência sazonal e alimentação. Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro.

Sjölund K, Sandén G, Hakanson R, Sundler F. 1983. Endocrine cells in human intestine: an immunocytochemical study. *Gastroenterology*. 85: 1120-1130.

Smith D, Dobson H, Spence E. 2001. Gastrointestinal studies in the Green iguana: technique and reference values. *Veterinary Radiology & Ultrasound*. 42(6): 515-520.

Strader AD, Woods SC. 2005. Gastrointestinal hormones and food intake. *Gastroenterology*. 128: 175-191.

Tarakçi BG, Köprücü SS, Yaman M. 2005. An Immunohistochemical study on the Endocrine Cells in the Gastrointestinal Tract of the Freshwater Turtle, *Mauremys caspica caspica*. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*. 29: 581-587.

Valverde E, Rada OD, Burrell MA, Rovira J, Sesma P. 1993. Immunocytochemical and ultrastructural characterization of endocrine cells and nerves in the intestine of *Rana temporária* *Tissue and Cell* Volume 25, Issue 4, August, Pages 505-516.

Vanzolini PE, Ramos-Costa AMM, Vitt LJ. 1980. Répteis das Caatingas. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências. 161 p.

Vitt LJ. 1995. The ecology of tropical lizards in the Caatinga of northeast Brazil. *Occasional Papers of the Oklahoma Museum of Natural History*. 1: 1-29.

Warrell DA. 2004. Acidentes ofídicos na América Central e do Sul: Epidemiologia, aspectos clínicos e manejo clínico. In: Campbell JA, Lamar WW. 2004. Os répteis venenosos do Hemisfério Ocidental.

Zamith APL. 1952. Contribuição para o conhecimento da estrutura da mucosa do esôfago dos vertebrados. *Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"*. 9(179): 359-434.

Zug GR. 1993. *Herpetology: An Introductory biology of amphibians and reptiles*. San Diego, California: Ed. Academic Press, Inc. 630p.

8. Anexos

A) Técnica de Grimelius (Modificado e Adaptado)

1. Vidrarias utilizadas

- 2 provetas de 100 ml
- 3 Erlenmeyers 250 ml
- 3 cubas de coloração

2. Lavar as vidrarias

- em água corrente por 1 hora ou deixar de molho em água destilada 24 horas
- em água destilada por 3 vezes

3. Pesar os reagentes

- AgNO₃ (Nitrato de prata)..... 1 g
- Hidroquinona..... 1 g
- sulfito de sódio anidro.....5 g

4. Preparo do tampão acetato 0,2M (pH 5,6)

Para 100 ml de tampão:

Solução A – Acetato de sódio anidro 0,2M – PM 82,0

Solução B – Ácido acético 0,2M – PM 60,0

PH 5,6

Misturar :

- 90 ml da solução A
- 10 ml da solução B

5. Preparar a solução de prata

- AgNO₃ (Nitrato de prata)..... 1 g
- Tampão acetato 0,2M (pH 5,6)..... 10 ml
- Água destilada.....90 ml

6. Preparar banho maria (60° C)

- Colocar duas cubas com solução de prata (sendo uma para uso e a outra de reserva)
- Colocar uma cuba vazia para solução reveladora

7. Preparar as lâminas

- Iniciar a desparafinização e hidratação (série pré-coloração)

8. Incubar as lâminas na solução de AgNO₃ (Nitrato de prata) a 60° C por 3 horas

9. Preparo da solução reveladora:

Esta deve ser preparada 30 minutos antes de ser usada e transferida para a cuba vazia

- Hidroquinona..... 1 g
- Sulfito de sódio anidro.....5 g

- Água destilada em vidro.....100 ml

10. Após as 3 horas de incubação na solução de prata, mergulhar as lâminas na solução reveladora por 1 minuto e observar ao microscópio, se estiver como o esperado colocar as lâminas na água destilada para interromper a reação.

11. Montagem das lâminas

- Desidratar e diafanizar os cortes corados (série pós-coloração) e passar rapidamente por Alcool absoluto/ Xilol/Xilol I/ Xilol II/ Xilol III nesta sequência.

12. Montar as lâminas com bálsamo ou Entellan ®.

B) Técnica de Masson-Fontana (Modificado e Adaptado)

1. Vidrarias utilizadas

- 2 provetas 100 ml
- 3 Erlenmeyers 200 ml
- 2 cubas de coloração
- 2 contas gotas

Lavar as vidrarias por 1 hora em água corrente ou deixar de molho em água destilada por 24 horas

2. Preparar a solução de nitrato de prata (AgNO_3)

- Dissolver 500 mg ou 0,5 g de AgNO_3 (Nitrato de prata) em 100 ml de água destilada.

3. Separar 10 ml desta solução.

4. Adicionar NH_4OH (Hidróxido de amônio) gota a gota até que o precipitado marrom desapareça e a solução torna-se ligeira turva. Caso passe do ponto de viragem, ou seja, se a cor ligeiramente turva ficar incolor e adicionar gota a gota de solução de nitrato de prata que estava separada, até que a solução volte a ficar ligeira turva.

5. Filtrar a solução em papel filtro.

6. Levar esta solução para o banho maria a 60° C.

7. Iniciar a desparafinização e a hidratação (série pré-coloração).

8. Colocar as lâminas na solução a 60° C por 1 hora.

9. Interromper a coloração em água destilada.

10. Observar ao microscópio. Se houver muita precipitação e/ou o background estiver muito escuro, fazer o uso do tiosulfato de sódio anidro 5% (5g para cada 100 ml de água destilada) por poucos segundos.

11. Montagem das lâminas

- Desidratar e diafanizar os cortes corados (série pós-coloração) e passar rapidamente por Alcool absoluto/ Xilol/Xilol I/ Xilol II/ Xilol III nesta sequência.

12. Montar as lâminas com bálsamo ou Entellan®.