

# IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE GÂNGLIOS NERVOSOS, CÉLULAS ARGENTAFINS, ARGIRÓFILAS E IMUNORREATIVAS À SEROTONINA NO CECO DA CAPIVARA (*Hydrochoerus hydrochaeris*)<sup>1</sup>

Michelle Soares Bressan<sup>2</sup>

Cláudio César Fonseca<sup>2</sup>

Eliane Menin<sup>3</sup>

Tarcízio Antônio Rego de Paula<sup>2</sup>

## RESUMO

A distribuição regional e a frequência de gânglios nervosos, células argirófilas, células argentafins e células imunorreativas à serotonina foram estudadas em cinco regiões do ceco de dez capivaras adultas. Para isso, utilizaram-se técnicas específicas de coloração para cada um dos tipos de células endócrinas pesquisadas; e para a quantificação dos gânglios nervosos, submucosos e mioentéricos, empregou-se a técnica da Hematoxilina-Eosina. O maior número de gânglios submucosos na parede do ceco foi de 3,6/mm<sup>2</sup> de área na região de transição ileocecal. O número médio de gânglios mioentéricos/mm<sup>2</sup> de área da túnica muscular foi maior nas regiões de transição ileocecal e na ténia, sendo, respectivamente, de 10 e 9,3. O número médio de células argirófilas por mm<sup>2</sup> de área de mucosa variou de 235,7 na região de transição ileocecal a 138,6 no ápice; o de células argentafins apresentou uma variação de 224,3 células/mm<sup>2</sup> na base e menor número no ápice, 165,7 células/mm<sup>2</sup> de área de mucosa. As células imunorreativas à serotonina foram detectadas em maior número na região de transição ileocecal, com média de 107,1 células/mm<sup>2</sup>, e menor no ápice, de 27,1 células/mm<sup>2</sup>.

Palavras-chave: ceco, gânglios nervosos, células argirófilas, células argentafins, células imunorreativas à serotonina.

<sup>1</sup>Aceito para publicação em 20.8.2004.

<sup>2</sup>Universidade Federal de Viçosa (UFV). Dep. de Veterinária 36570-000, Viçosa, MG. fonseca@ufv.br

<sup>3</sup>UFV. Departamento de Biologia Animal.

## ABSTRACT

### IDENTIFICATION AND QUANTIFICATION OF THE NERVOUS GANGLIA, ARGENTAFFIN CELLS, ARGIROPHYL CELLS AND SEROTONIN-IMMUNOREACTIVE CELLS IN THE CAPYBARA'S *Hydrochoerus hydrochaeris* CECUM

The regional distribution and frequency of nervous ganglia, argirophyl-, argentaffin- and serotonin immunoreactive cells were studied in five areas of the cecum of ten adult capybaras. Specific stain techniques were used to detect each endocrine cell investigated and the general technique of Haematoxilin-Eosin was used to quantify the Meissner (submucous) and Auerbach (myenteric) ganglia. The largest mean number of submucosal ganglia observed in the cecum wall was 3.6 ganglions/mm<sup>2</sup> in the ileo-cecal transition area. The average number of ganglia myenterics/mm<sup>2</sup> in the muscular tunic was larger in the ileo-cecal transition and the taenia areas, 10 and 9.3, respectively. The mean number of argirophyl cells/mm<sup>2</sup> of the mucous membrane area ranged from 235.7 in the ileo-cecal transition area to 138.6 in the apex area; the number of argentaffin cells showed variation of 224.3 cells/mm<sup>2</sup> in the base to a smaller number in the apex, 165.7 cells/mm<sup>2</sup> of the mucous membrane area. The largest number of serotonin-immunoreactive cells was detected in the ileo-cecal transition area, the mean number being 107.1 cells/mm<sup>2</sup> and the smallest number occurring in the apex, representing 27.1 cells/mm<sup>2</sup>.

**Key words:** Cecum, nervous ganglia, argirophyl cell, argentaffin cell, serotonin-immunoreactive cells.

## INTRODUÇÃO

A capivara, considerada o maior roedor, pertence à família Hydrochaeridae, que inclui apenas uma espécie no Brasil, *Hydrochoerus hydrochaeris*. É tida como um animal semi-aquático e essencialmente herbívoro, chegando a ingerir de 3 a 4 kg de vegetação fresca e, ou, vegetais aquáticos diariamente, e a digerir mais da metade da matéria orgânica, inclusive fibras (8). É a espécie de animal silvestre nativa que, atualmente, apresenta maior potencial zootécnico para a produção de carne e couro. É um roedor herbívoro, monogástrico, que realiza fermentação cecal, vive em grupos sociais bem estruturados e apresenta-se altamente eficiente no aproveitamento dos alimentos, tendo digestibilidade similar ou superior à de coelhos e ovinos, tanto com volumoso quanto com concentrados (1).

O aparelho digestório da capivara reflete a sua alimentação natural, sendo bem desenvolvido, particularmente o ceco, que representa 74% de todo o tubo digestivo (13). Segundo os autores, as capivaras se alimentam preferencial e principalmente de pasto, que é digerido por meio de processo fermentativo realizado por microrganismos celulolíticos (bactérias e protozoários) que se alojam no ceco.

O aparelho gastrointestinal é o maior órgão endócrino do corpo (2), tanto em se tratando de número de células endócrinas como de tipos hormonais, superando qualquer outro órgão (16). Além das células endócrinas, foi estabelecido que vários peptídeos são liberados a partir de terminações nervosas no intestino (2). As células distribuídas por toda a mucosa do aparelho digestório apresentam características citoquímicas comuns, das quais a mais evidente e constante é a produção de aminas biogênicas e polipeptídeos, sendo o seu conjunto denominado “sistema Apud” (*Amine Precursor Uptake and Decarboxylation*), que inclui, dentre outras, as células endócrinas gastrointestinais e as células das ilhotas do pâncreas (16).

Feyrter foi o primeiro a reconhecer que o intestino e o pâncreas eram os principais órgãos onde se localizavam as células do sistema endócrino, o qual ele chamou de sistema endócrino difuso (14). Este autor identificou as células neste sistema como: 1) elementos corados convencionalmente em claro, chamados, portanto, de *hellezellen*, ou seja, células claras; 2) células argentafins – capazes de reduzir diretamente soluções de prata; e 3) células argirófilas – capazes de absorver sais de prata, que então podem ser reduzidos por adição de uma substância química com capacidade redutora.

Técnicas de impregnação por sais de prata foram desenvolvidas com diferentes finalidades em diferentes condições. Genericamente, essas reações foram divididas em argentafins e argirófilas. Na reação argentafim (técnica de Masson-Fontana), a redução do nitrato de prata amoniacal é decorrente da capacidade redutora dos próprios componentes intracelulares. Na reação argirófila, os sais de prata em solução amoniacal, aquosa ou alcoólica, ligam-se aos grânulos citoplasmáticos e são, então, reduzidos à prata metálica pela exposição a uma substância exógena redutora. A positividade da reação argentafim exhibe forte correlação com o conteúdo de serotonina das células endócrinas, como demonstrado por técnicas que utilizam fluorescência e imunorreatividade (16).

Os peptídeos encontrados na mucosa dos segmentos do aparelho digestório têm sido detectados em células e terminações nervosas dispersas difusamente pelo neuroeixo (14, 16).

Estudos da musculatura lisa do aparelho digestório têm fornecido uma ferramenta útil para demonstrar que os peptídeos atuam como neurotransmissores, deixando claro que múltiplos peptídeos participam tanto na transmissão excitatória como na inibitória das camadas de músculo liso longitudinal e circular por todo o aparelho digestório. Estudos imuno-histoquímicos indicaram que os peptídeos estão co-localizados com outros tipos de neurotransmissores em neurônios individuais (17).

As células endócrinas, distribuídas por toda a extensão do aparelho digestório, secretam hormônios que regulam a função digestiva,

influenciando na secreção gastrointestinal, absorção, motilidade e fluxo de sangue. O desenvolvimento de anti-soros contra hormônios facilitou a localização destas células em várias espécies, por meio de métodos imuno-histoquímicos (3).

O intestino parece ser um dos muitos alvos da serotonina, a qual estimula fortemente a contração da musculatura lisa e a secreção das glândulas intestinais (5, 6). Estudos em intestino delgado de cobaias têm sugerido que a serotonina pode ser um transmissor que estimula nervos sensoriais e inicia reflexos peristálticos e secretores (7).

Estudos imuno-histoquímicos e de biologia molecular têm mostrado inter-relações funcionais entre células endócrinas e neurônios, constituindo o sistema neuroendócrino. No contexto atual, o termo neuroendócrino não implica uma origem embriológica comum, a partir do neuroectoderma, mas tem conotação de compartilhamento de um fenótipo caracterizado pela expressão simultânea de múltiplos genes que codificam ampla variedade de características neuronais e endócrinas (16). O sistema nervoso entérico (SNE) tem papel central no controle da maioria das funções gastrointestinais, consistindo em uma complicada rede de neurônios organizados dentro de plexos submucosos e mioentéricos (11).

Este estudo teve como objetivo a quantificação de gânglios submucosos e mioentéricos e de células endócrinas (argirófilas, argentafins e imunorreativas à serotonina) na mucosa das regiões do ceco.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletados fragmentos de cinco regiões do ceco, de dez capivaras, incluindo machos e fêmeas adultos, provenientes do criatório da Fazenda Cachoeirinha, município de Viçosa-MG, mediante autorização do Ibama, licença 13.902, número 1/31/2001/000027-7. As regiões pesquisadas foram o ápice, base, corpo, tênia dorsal e transição ileocecal. Os fragmentos foram fixados por 48 h, em líquido de Bouin, para coloração pela Hematoxilina-Eosina (H-E), Grimelius (10) e Imunoperoxidase Direta (18), e em formol a 10% tamponado, para coloração de Masson-Fontana modificada (4). Em seguida, os fragmentos foram desidratados em álcoois, numa ordem crescente de concentração, diafanizados em xilol I e II e incluídos em parafina. Logo após, cortes de 4 µm foram obtidos em micrótomos rotativos manuais, marcas American Optical, no Laboratório de Histopatologia do Departamento de Veterinária do (DVT), e Olympus CUT 4055, no Laboratório de Histologia do Departamento de Biologia Animal (DBA) da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Os cortes foram corados segundo as técnicas de H-E, Grimelius, Masson-Fontana modificada e Imunoperoxidase direta, para a quantificação de gânglios nervosos, células argirófilas, células argentafins

e células imunorreativas à serotonina, respectivamente. Com exceção da imunoperoxidase direta, realizada no Laboratório de Patologia Digestiva e Neuroendócrina da Faculdade de Medicina da UFMG, as demais técnicas foram executadas no Laboratório de Histopatologia do Departamento de Veterinária da UFV.

Nos cortes corados por H-E foi feita a quantificação dos gânglios submucosos e mioentéricos por milímetro quadrado da túnica submucosa e da túnica muscular, respectivamente, de cada uma das regiões pesquisadas. Neste estudo, utilizou-se microscópio de luz Ken-a-vision com aumento de 100 x, com auxílio de ocular graduada calibrada por meio de micrômetro objetivo Olympus. Foram quantificados os gânglios submucosos e mioentéricos da parede cecal, em dez unidades de  $4,72 \mu\text{m}^2$  cada uma, observada em três cortes diferentes da mesma região, perfazendo  $141,6 \mu\text{m}^2$  de área analisada.

Na contagem de células argentafins, argirófilas e imunorreativas à serotonina, utilizou-se microscópio de luz marca Olympus CX 40, com aumento de 200 x, com o auxílio de ocular graduada, calibrada por meio de micrômetro objetivo Olympus. A unidade de área analisada foi de  $2,32 \mu\text{m}^2$  de túnica mucosa. Desta forma, após a quantificação de 30 unidades de área, o total pesquisado foi de  $69,6 \mu\text{m}^2$ . Apenas aquelas células que apresentaram citoplasma impregnado por sais de prata (técnicas argirófila e argentafim) ou imunocorado (imunoperoxidase direta), associadas à imagem negativa do núcleo, foram consideradas reativas, respectivamente, à sua técnica, sendo também verificado o posicionamento das células nos terços apical, médio e basal da mucosa.

As preparações histológicas foram documentadas com câmara digital marca Fuji HC – 300Zi, lente Nikon C – 0.6 x, acoplada ao microscópio Nikon Eclipse E 600 e ao computador, no Laboratório de Biologia e Controle de Hematozoários do DVT.

Os números foram organizados em planilha eletrônica (Excel 97) e calculados a média, desvio-padrão e variância, a 5% de significância, segundo o programa estatístico Saeg 7.1 (Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas - 1997), utilizando-se o Programa Anova, segundo Ribeiro (15).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A porção entérica do sistema nervoso (SNE) tem papel central no controle da maioria das funções gastrointestinais e consiste em uma complicada rede de neurônios organizados dentro dos gânglios submucosos e mioentéricos (11). Os gânglios submucosos (Figura 1A), observados ao longo da túnica submucosa de todas as regiões do ceco, revelaram pequena variação entre estas ( $p > 0,05$ ). O número médio de

gânglios foi de 3,6/mm<sup>2</sup> na região ileocecal, 1,4/mm<sup>2</sup> no ápice, na base e no corpo, e de 2,1/mm<sup>2</sup> na tênia (Quadro 1).

Os gânglios mioentéricos (Figura 1B) foram mais numerosos em regiões onde a túnica muscular apresentou-se estruturalmente mais desenvolvida, como ocorreu na região de transição ileocecal e na tênia. Naquela, o número médio de gânglios mioentéricos por milímetro quadrado de túnica muscular foi de 10, e nestas de 9,3, enquanto nas demais regiões foi praticamente a metade (Quadro 1).

QUADRO 1 - Quantificação dos gânglios por mm <sup>2</sup> de área de parede cecal e de células endócrinas por mm <sup>2</sup> de área de mucosa nas diferentes regiões do ceco (média ± desvio-padrão)					
Parâmetros	Ileocecal	Ápice	Corpo	Base	Tênia
Gânglios submucosos	3,6 ± 1,4	1,4 ± 0,7	1,4 ± 1,4	1,4 ± 0,7	2,1 ± 0,7
Gânglios mioentéricos	10,0 ± 3,6	5,0 ± 2,8	4,3 ± 2,8	5,0 ± 2,1	9,3 ± 3,6
Células argirófilas	235,7 ± 75,7	138,6 ± 58,6	165,7 ± 52,8	171,4 ± 64,3	154,3 ± 52,8
Células argentafins	228,8 ± 67,1	165,7 ± 5,0	205,7 ± 51,4	224,3 ± 81,4	214,3 ± 91,4
Células IR à serotonina	107,1 ± 58,6	27,1 ± 7,1	48,6 ± 18,6	52,8 ± 31,4	42,8 ± 21,4

IR – imunorreativas.



FIGURA 1 - Ceco de *Hydrochoerus hydrochaeris*. A. Gânglios submucosos da região de transição ileocecal (setas). B. Gânglio mioentérico da região da tênia. g. glândulas intestinais. HE.

Os gânglios submucosos são importantes no transporte transepitelial de íons no fluxo de sangue da mucosa, bem como nas funções secretomotoras, e situam-se na túnica submucosa da parede do intestino. Os gânglios mioentéricos, que se localizam entre as camadas circular interna e

longitudinal externa da túnica muscular, estão envolvidos com a motilidade intestinal (11). Com base na observação de que o maior número de gânglios nervosos foi encontrado na região de transição ileocecal e na tênia, pode-se inferir maior atividade a estas, e em menor escala as demais regiões do ceco da capivara, onde o número de gânglios foi menor.

As células imunorreativas à serotonina (Figura 2B) foram encontradas principalmente no terço basal e em menor quantidade no terço médio da mucosa, da mesma forma que o observado com as células argentafins. As argirófilas (Figura 2A) foram identificadas mais freqüentemente no terço basal da mucosa, e ocasionalmente no terço médio e no ápice dessa. As células endócrinas apresentaram, de maneira geral, forma piramidal, alongada e arredondada.

O número de células argirófilas foi maior na região de transição ileocecal, sendo, em média, de 235,7 céls./mm<sup>2</sup>. No ápice, região que apresentou menor número dessas células, a média foi de 138,6 céls./mm<sup>2</sup>. Considerando-se esses números, a análise de variância não mostrou diferença estatística significativa entre esta região e a ileocecal. Na base, o número dessas células foi, em média, de 171,4 céls./mm<sup>2</sup>; no corpo, 165,7 céls./mm<sup>2</sup>; e na tênia, de 154,3 céls./mm<sup>2</sup> (Quadro 1) ( $p > 0,05$ ). No ceco de vacas e bezerros foram detectadas células argirófilas e imunorreativas à serotonina em menor quantidade, quando comparado com outros segmentos do tubo digestivo (abomaso, intestino delgado e intestino grosso). A média de células argirófilas/mm<sup>2</sup> de mucosa encontrada em todo o ceco foi de 8,8 em bezerros e 6,9 em vacas. Neste mesmo estudo, pesquisadores quantificaram células imunorreativas à serotonina/mm<sup>2</sup> no ceco de bezerros e de vacas, tendo registrado, respectivamente, uma média de 9,6 e 7,2 (11). O número de células imunorreativas à serotonina mostrou ser moderado no ceco de búfalos (*Bubalus bubalis*), equiparando-se com o do duodeno e o do cólon (3).

A quantificação de células imunorreativas à serotonina demonstrou, neste estudo, que houve variação significativa apenas entre a região de transição ileocecal e o ápice do ceco. Na região de transição ileocecal o número médio dessas células foi de 107,1 céls./mm<sup>2</sup>, enquanto no ápice foi de 27,1 céls./mm<sup>2</sup>. Na região da base, o número médio foi de 52,8 céls./mm<sup>2</sup>, no corpo de 48,6 céls./mm<sup>2</sup> e na tênia de 42,8 céls./mm<sup>2</sup> (Quadro 1) ( $p > 0,05$ ). O número de células imunorreativas à serotonina não aumentou na região onde a musculatura lisa do ceco foi mais desenvolvida (tênia), como ocorreu com o número de gânglios mioentéricos. Pode-se, portanto, inferir que há maior controle nervoso que endócrino nessa região, como citado no caso de outra espécie (11). Vanner (19) afirmou que a estimulação elétrica (nervosa) nos gânglios sobrepõe-se à estimulação que a serotonina confere a eles.

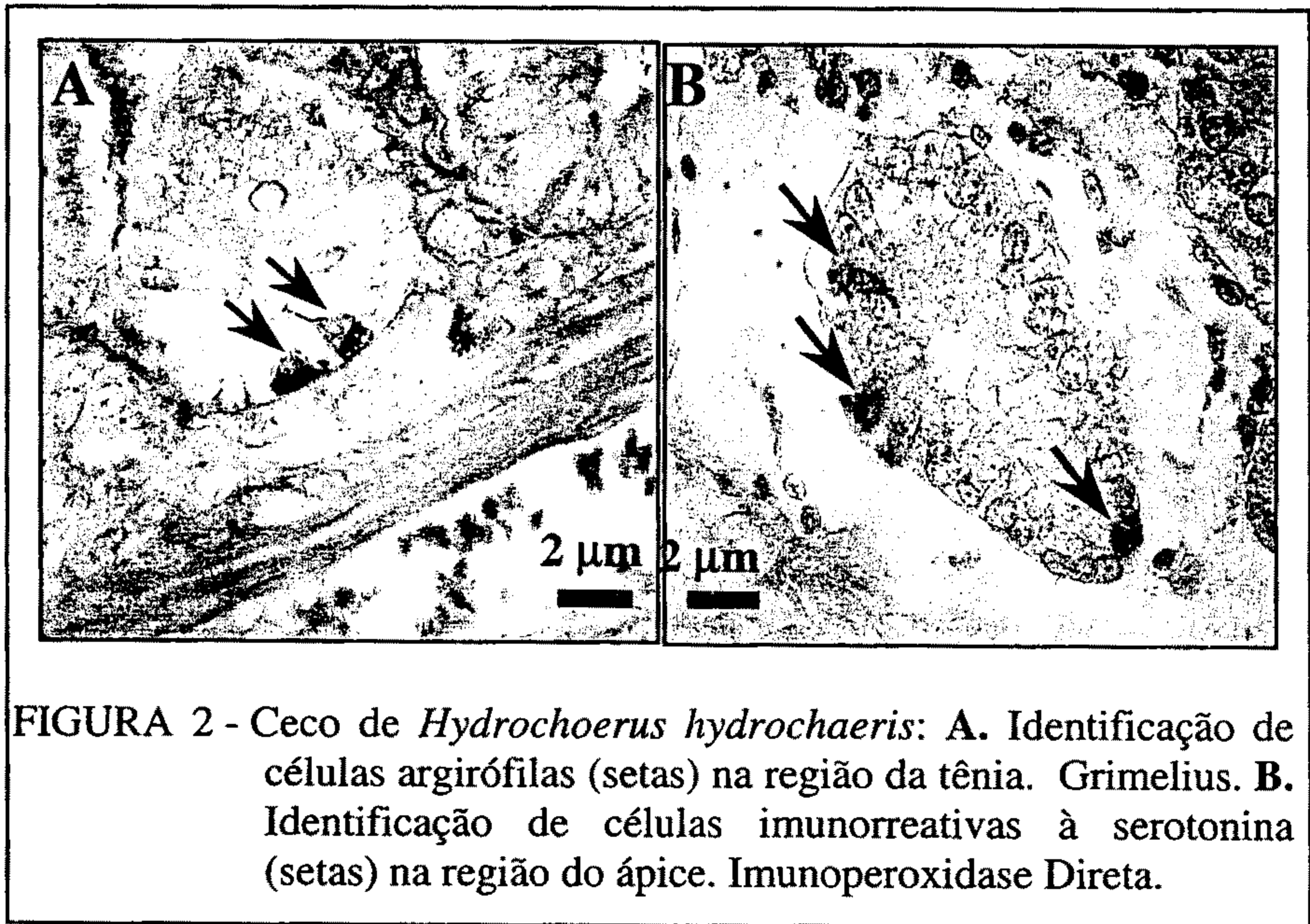


FIGURA 2 - Ceco de *Hydrochoerus hydrochaeris*: A. Identificação de células argirófilas (setas) na região da tênia. Grimelius. B. Identificação de células imunorreativas à serotonina (setas) na região do ápice. Imunoperoxidase Direta.

Em estudos no tubo digestivo de cervos (*Dama dama*), foi detectado que aproximadamente 80% das células endócrinas no duodeno eram imunorreativas à serotonina, sendo clara a menor ocorrência delas no intestino grosso (6). A presença de células enterocromafins, produtoras de serotonina, foi numerosa na região pilórica do estômago de cavalos; no entanto, poucas foram encontradas no duodeno, sendo absolutamente ausentes na maior parte do intestino grosso (5).

As células argentafins (Figura 3) quantificadas na base do ceco foram, em média, de 224,3 céls./mm<sup>2</sup>, e na região ileocecal 228,8 céls./mm<sup>2</sup>. No ápice cecal o número encontrado foi, em média, de 165,7 céls./mm<sup>2</sup>, no corpo 205,7 céls./mm<sup>2</sup>, e na tênia 214,3 céls./mm<sup>2</sup> (Quadro 1) ( $p > 0,05$ ).

Na tentativa de se estabelecer uma proporção entre o número médio de células endócrinas encontradas em todo o ceco, as células imunorreativas à serotonina apresentaram percentualmente menor número que as argirófilas e as argentafins. A proporção aproximada de células imunorreativas à serotonina, quando comparadas com as argirófilas, foi de 1:3,1 e 1:3,7, quando comparadas às argentafins. Comparando-se o número de células endócrinas imunorreativas à serotonina com o número total de células endócrinas (argirófilas e argentafins), as primeiras representaram cerca de 13% das células endócrinas observadas no ceco da capivara.





FIGURA 3 - Ceco de *Hydrochoerus hydrochaeris*. Células argentafins (seta). Região da tênia. Masson-Fontana modificada.

O número de células argentafins manteve-se elevado em relação ao de células imunorreativas à serotonina, talvez por terem sido quantificadas as células argentafins que apresentaram impregnação citoplasmática pelos sais de prata, independentemente do tamanho da granulação. Os grânulos, que preenchem principalmente a região infranuclear do citoplasma, foram encontrados de tamanhos variados e, assim, poderiam ter sido confundidos com precipitados de sais de prata. Entretanto, a coincidência desta distribuição de sais de prata sobre as células epiteliais de revestimento do ceco suscita novas buscas na tentativa de melhor esclarecer esses fatos.

### CONCLUSÕES

1) Existem, caracteristicamente, no ceco da capivara, principalmente nas regiões de transição ileocecal e da tênia, inúmeros gânglios submucosos e mioentéricos, sendo estes de 3 a 4,5 vezes mais numerosos que os primeiros, nas respectivas regiões.

2) A região ileocecal apresenta maior quantidade de células argirófilas, argentafins e imunorreativas à serotonina, seguida da região da base do ceco. Dentre as células, as imunorreativas à serotonina são as menos numerosas.

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Alfredo J. A. Barbosa do Laboratório de Patologia Digestiva e Neuroendócrina do Departamento de Anatomia Patológica e Medicina Legal da Faculdade de Medicina da UFMG, pela orientação e oportunidade na realização da técnica de Imunoperoxidase Direta.

## REFERÊNCIAS

1. ANDRADE, P.C.M.; LAVORENTI, A. & NOGUEIRA, S. L. G.. Efeitos de níveis de proteínas e energia em rações para capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris hydrochaeris* L. 1766) em crescimento. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 35<sup>a</sup>, Fortaleza, 1996. Anais, SBZ 1996. p. 248-51.
2. ARGENZIO, R.A.. Introdução à função gastrointestinal. In: Swenson, M. J. *et al.* Dukes – Fisiologia dos animais domésticos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 10. ed. 1988. p. 229 - 42.
3. BALTAZAR, E.T.; KITAMURA, N.; HONDO, E.; YAMADA, J.; MAALA, C.P. & SIMBORIO, L.T. Immunohistochemical study of endocrine cells en the gastrointestinal tract of the Philippine Carabao (*Bubalus bubalis*). *Anat. Histol. Embryol.*, 27: 407-11, 1998.
4. BARBOSA, A. J. A.; CASTRO, L. P. F. & NOGUEIRA, A. M. F. A simple and economical modification of the Masson-Fontana method for staining melanin granules and enterochromaffin cells. *Stain Technol.*, 59 (4): 193-96, 1984.
5. CECCARELLI, P.; PEDINI, V. & GARGIULO, M. Serotonin-containing cells in the horse gastrointestinal tract. *Anat. Histol. Embryol.*, 24:97-99, 1995a.
6. CECCARELLI, P.; PEDINI, V. & GARGIULO, M.. The endocrine cells in the gastro-enteric tract of adult fallow deer (*Dama dama* L.). *Anat. Histol. Embryol.*, 24:171-74, 1995b.
7. CHEN, J-X.; PAN, H.; ROTHMAN, T.P.; WADE, P.R. & GERSHON, M.D. Guinea pig 5-HT transporter: cloning, expression, distribution, and function in intestinal sensory reception. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 275:433-48, 1998.
8. DEUTSCH, L.A. & PUGLIA, L.R.. Capivara. Os animais silvestres – Proteção, doenças e manejo. Rio de Janeiro: Publicações Globo Rural, 1988. p. 27-41.
9. GRIMELIUS, L. A silver nitrate stain for  $\alpha_2$  cells in human pancreatic islets. *Acta. Soc. Med. Upsal.*, 73:43-270, 1968.
10. HUDSON, N..P.H.; PEARSON, G.T. & MAYHEW, I.G.. Tissue culture of the enteric nervous system from equine ileum. *Vet. Res. Commun.* 24:299-307, 2000.
11. KITAMURA, N.; YAMADA, J.; CALINGASAN, N.Y. & YAMASHITA, T. Histologic and immunocytochemical study of endocrine cells in the gastrointestinal tract of the cow and calf. *Am. J. Vet. Res.*, 4(6):1381-86, 1985.
12. MENDES, A.; NOGUEIRA, S.S.C.; LAVORENTI, A. & FILHO, S.L.G.N. A note on the cecotrophy behavior in capybara (*Hydrochaeris hydrochaeris*). *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 66(1-2):161-167, 2000.
13. POLAK, J.M.; BISHOP, A.E.; BARBOSA, A.J.A. & BLOOM, S.R.. Hormônios gastrointestinais. In: Dani, R.; Paula Castro, L.. *Gastroenterologia Clínica*. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1993. p. 1446-65.
14. REHFELD, J.F. The new biology of gastrointestinal hormones. *Physiol. Rev.* 78 (4):1087-1102, 1998.
15. RIBEIRO, I.J. Análises estatísticas no SAEG. Viçosa: Editora UFV, 2001. 301 p.
16. SANTOS, G.C. & ZUCOLOTO, S. Células endócrinas gastrointestinais: breve histórico e principais métodos de identificação à microscopia óptica. *Arquivo de Gastroenterologia*, 33(1):36-44, 1996.

17. SHUTTLEWORTH, C.W.R. & KEEF, K.D. Roles of peptides in enteric neuromuscular transmission. *Regulatory peptides*, 56:101-20, 1995.
18. STERNBERGER, L.A. *Immunocytochemistry*. 2ed. New York, John Wiley & Sons, 1979. 524p.
19. VANNER, S. Myenteric neurons activate submucosal vasodilator neurons in guinea pig ileum. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 279:380-387, 2000.