

기러기 위장관 내분비세포에 관한 면역조직화학적 연구

박기대 · 이재현 · 구세광 · 이형식*

경북대학교 수의과대학 조직학교실

경산대학교 기초과학부 생물학과*

(1999년 3월 16일 접수)

An immunohistochemical study on the gastrointestinal endocrine cells in the bean goose, *Anser fabalis Latham*

Ki-dae Park, Jae-hyun Lee, Sae-kwang Ku, Hyeung-sik Lee*

Department of Histology, College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University

Department of Biology, Faculty of Basic Science, Kyungsan University*

(Received Mar 16, 1999)

Abstract : The regional distributions and relative frequencies of the gastrointestinal endocrine cells in the bean goose (*Anser fabalis Latham*) were investigated by immunohistochemical methods using bovine Sp-1/chromogranin (CG), serotonin, gastrin, cholecystokinin (CCK)-8, somatostatin and glucagon antisera. BCG-immunoreactive cells were widespread throughout the gastrointestinal tract (GIT) with moderated frequencies except for the gizzard and proventriculus which were a few frequencies. Serotonin-immunoreactive cells were detected throughout the GIT except for the proventriculus and gizzard. These cells were observed in the pylorus with rare frequencies but numerous cells were detected in the intestinal tract. Gastrin-immunoreactive cells were restricted to the gizzard, pylorus and duodenum. These cells were most predominant in the pylorus and a few or rare in the gizzard and duodenum, respectively. CCK-8-immunoreactive cells were observed from the gizzard to ileum. The highest frequencies of endocrine cells were observed in the duodenum. These cells were increased from the gizzard to duodenum but thereafter decreased. Somatostatin-immunoreactive cells were detected in the GIT except for the large intestine. In the proventriculus and pylorus, numerous immunoreactive cells were demonstrated but a few cells were present in the other regions. Glucagon cells were observed in the gizzard, pylorus, ileum, colon and rectum with a few or moderated numbers.

Key words : bean goose, immunoreactive cell, gastrointestinal tract.

서 론

조류의 위장관 점막에는 음식물의 소화, 흡수 및 소화관의 연동운동과 혈관 수축작용 등을 조절하는 다양한 종류의 소화관 내분비세포가 존재하며¹ 이들 내분비세포의 부위별 분포 및 출현빈도는 동물의 종² 또는 식이 습성³에 따라 매우 다양한 것으로 알려져 있다.

한편 조류에 있어서 위장관 내분비세포에 대한 연구는 닭에 대한 보고³⁻⁸가 대부분이며 닭 이외에 비둘기⁹, 오리¹⁰, 벌새¹¹, 갈매기¹², 메추리¹³ 및 각종 조류¹⁴에 대해서도 단편적인 보고가 있으나 오리과(科)에 속하는 기러기¹⁵에 대한 보고는 거의 찾아 볼 수 없는 바 본 실험에서는 기러기 성체의 위장관에 출현하는 각종 내분비세포의 부위별 분포와 출현빈도를 관찰하기 위하여 bovine Sp-1/chromogranin(CG), serotonin, gastrin, cholecystokinin(CCK)-8, somatostatin, glucagon 등 6종의 항혈청을 이용하여 면역조직화학적 방법으로 관찰하였다.

재료 및 방법

큰기러기(*Anser fabalis*) 성체 5 마리를 암수 구별없이 실험에 사용하였다. 실험동물은 방혈후 위장관 각 부위의 조직을 절취하여 Bouin 액에 24시간 이상 고정하였다. 고정된 조직은 일반적인 방법으로 ethanol에 탈수한 후 paraffin에 포매하여 3~4 μ m의 연속절편을 제작하였다. 이후 소화관 각 부위의 정확한 조직학적 구조를 확인하기 위하여 hematoxylin-eosin 염색을 실시하였다.

또한 위장관내에 분포하는 면역반응세포를 관찰하기

위하여 peroxidase antiperoxidase(PAP)법¹⁶에 의한 면역조직화학적 염색을 실시하였다. 면역조직화학적 염색을 위하여 먼저 파라핀을 제거한 조직절편을 100% methanol과 0.1% 과산화수소(H₂O₂)에 각각 30분간 침적하여 조직내의 내인성 peroxidase를 억제시킨 후 phosphate buffered saline(PBS; 0.01M, pH 7.4)으로 30분간 3회 세척하였다. 이어 비특이적인 면역 globulin의 결합을 방지하기 위하여 normal goat serum으로 실온에서 1시간 전처리한 후 Table 1에 제시한 1차 항혈청으로 4 $^{\circ}$ C 냉장고 내에서 24시간 반응시키고 PBS로 30분간 3회 세척하였다. 이후 2차 항혈청인 anti rabbit IgG goat serum으로 실온에서 1시간 반응시킨 후 PBS로 30분간 3회 세척하였다. 이어 PAP complex(Sigma, USA)로 실온에서 1시간 반응시킨 후 PBS로 30분간 3회 세척하였고 DAB 용액(3,3'-diaminobenzidine tetra-hydrochloride containing 0.01% H₂O₂ in Tris-HCl buffer(0.05M, pH 7.6))로 발색시킨 후 Mayer's hematoxylin으로 핵 염색을 실시하여 광학현미경하에서 관찰하였다.

결 과

본 실험결과 큰기러기 위장관내에서 BCG, serotonin, gastrin, CCK-8, somatostatin 및 glucagon 등 6종의 면역반응세포가 관찰되었으며 이들 면역반응세포는 대체로 원형, 타원형 또는 방추형으로 관찰되었다.

BCG 면역반응세포는 전 위장관에서 관찰되었으며 십이지장, 공장 및 직장에서 다수의 면역반응세포가 관찰되어 가장 높은 출현빈도를 보인 반면 유문부, 회장, 결장 및 맹장에서는 중등도의 면역반응세포들이, 샘위 및

Table 1. Antisera used in this study

Antisera*	Code	Source	Dilution
BCG**	517210	Incstar	1 : 500-1,000
Serotonin	BO68082C	BioGenex Lab, USA	1 : 20
Gastrin	PUO190796	BioGenex Lab, USA	1 : 20
CCK-8	750257	Incstar, stillwater, USA	1 : 500
Somatostatin	PUO421295	BioGenex Lab, USA	1 : 20
Glucagon	PUO391095	BioGenex Lab, USA	1 : 20

* All antisera were raised in rabbits.

** BCG : bovine Sp-1/chromogranin, CCK-8 : cholecystokinin-8.

Table 2. Relative frequencies and regioned distributions of the endocrine cells in the gastrointestinal tract of the bean goose (*Anser fabalis*)

	BCG*	Ser	Gas	CCK-8	Som	Glu
Proventriculus	***	-	-	-	+++	-
Gizzard	+	-	+	+	+	+
Pylorus	++	±	+++	++	+++	+
Duodenum	+++	+++	±	+++	+	-
Jejunum	+++	+++	-	++	+	-
Ileum	++	+++	-	+	+	+
Colon	++	+++	-	-	-	+
Cecum	++	+++	-	-	-	-
Rectum	+++	+++	-	-	-	++

* BCG: Bovine Sp-1/chromogranin, Ser: Serotonin, Gas: Gastrin, CCK-8: Cholecystokinin-8, Som: Somatostatin, Glu: Glucagon.

** - : not detected, ±: rare, +: a few, ++: moderate, +++: numerous.

근육위에서는 소수의 면역반응세포들이 관찰되었다(Fig 1).

Serotonin 면역반응세포는 샘위와 근육위를 제외한 전 위장관에서 관찰되었으며 유문부에서는 점막 기저부에서 극소수의 면역반응세포가 관찰된 반면 장 부위에서는 다수의 면역반응세포들이 점막 전체에 산재하여 관찰되었다(Fig 2).

Gastrin 면역반응세포는 샘위, 근육위 및 십이지장에 국한되어 관찰되었고 유문부에서 다수의 면역반응세포들이 점막 전체에 산재되어 가장 높은 출현빈도를 나타내었으나 근육위와 십이지장에서는 소수 또는 극소수의 면역반응세포만이 관찰되었다(Fig 3).

CCK-8 면역반응세포는 근육위로부터 회장에 걸쳐 관찰되었다. 이들 면역반응세포들은 십이지장에서는 점막 전체에 걸쳐 다수의 면역반응세포들이 관찰되어 가장 높은 출현빈도를 나타내었으나 유문부와 공장에서는 중등도의 면역반응세포들이 근육위와 회장에서는 소수의 면역반응세포들이 관찰되었다(Fig 4).

Somatostatin 면역반응세포는 대장을 제외한 전 위장관에서 관찰되었고 샘위와 유문부에서는 다수의 면역반응세포들이 관찰된 반면 근육위와 소장부위에서는 소수의 면역반응세포들이 관찰되었다(Fig 5).

Glucagon 면역반응세포는 근육위, 유문부, 회장, 결장 및 공장에서 관찰되었으며 특히 직장에서 가장 높은 출현빈도를 나타내었으나 근육위, 유문부, 회장 및 공장에

서는 위샘(gastric gland) 또는 상피세포 사이에서 소수의 면역반응세포들이 관찰되었다(Fig 6).

고 찰

CG는 송아지의 부신수질에서 최초로 분리된 산성 단백질로¹⁷ 대부분의 amine과 peptide 생산물질의 분비과정에 공존하고 있다¹⁸⁻²¹. 특히 조류의 위장관에 있어서 이들 CG 면역반응세포의 출현에 대해 닭의 위장관에서는 CGA 및 B가 대부분의 serotonin 세포와 공존한다고 하였고^{18,22} 오리와 청둥오리에서는 전 위장관에서 다수의 면역반응세포들이 관찰된다고 하여^{10,23} 위장관 전체에 걸쳐 다수의 면역반응세포들이 관찰된 본 *dusr*의 결과와 일치하였다. 또한 조류의 위장관에서 이들 면역반응세포의 출현은 CG가 다른 내분비세포의 marker로서 가치가 있다는 보고²³⁻²⁵로 미루어 보아 본 실험에서도 다른 내분비세포가 marking 된 것으로 생각되나 닭과 오리를 제외한 여타의 조류 위장관에서는 이와 유사한 보고를 거의 찾아볼 수 없는 바 더 다양한 조류에서 이들 면역반응세포의 부위별 출현분포 및 빈도에 대한 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다.

Serotonin은 위장관에서는 enterochromaffin(EC) 세포에서 분비되며²⁶ 위산 분비억제와 평활근 수축작용에 의한 연동운동에 관여하는 등 소화관의 생리적 기능에 중요

한 역할을 담당한다고 알려져 있다^{17,28-30}. 이들 serotonin 면역반응세포들은 조류에서 전 위장관에 걸쳐 출현하는 것으로 알려져 있으나^{10,23} 닭의 샘위와 근육위에서는 serotonin 면역반응세포들이 관찰되지 않는다고 하였으며^{6,7} 벌새에서는 유문부에서 이들 면역반응세포가 관찰되지 않는다고¹¹ 하는 등 동물의 종에 따른 차이가 인정되고 있다. 한편 본 연구의 결과 샘위와 근육위를 제외한 전 위장관에서 다수의 면역반응세포들이 관찰되었으며 특히 유문부에서도 극소수의 면역반응세포가 출현하여 닭⁶과 유사하였으나 벌새¹¹와는 다소 차이를 나타내었다.

Gastrin은 14개 및 34개의 아미노산으로 구성된 두 종류가 존재하며 위산과 pepsin의 분비촉진 및 위점막의 벽세포 증식 자극 등 소화관 운동에 관여한다³¹. Okamoto *et al*³²은 오리에서 근육위로부터 회장에 걸쳐 이들 면역반응세포의 출현을 보고하여 근육위, 유문부 및 십이지장에 국한된 본 실험의 결과와 다소 상이하였으나 닭에서 유문부와 십이지장에 국한되어 면역반응세포가 관찰된다는 Rawdon과 Andrew⁵의 보고와 유사하였다. 한편 본 실험의 결과 이들 면역반응세포들이 근육위에서도 관찰된 점은 현재까지 오리³²와 유사하여 오리과(科)에 속하는 조류의 특징으로 생각되나 이에 대한 좀더 폭넓은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

CCK는 췌장의 소화효소 분비촉진작용과 gastrin 작용을 억제하는 기능을 가지고 있는 내분비물질로 알려져 있으나 조류에서는 포유류와는 달리 위-십이지장의 연동운동에 관여한다³³. 한편 조류에 있어서 이들 면역반응세포의 분포에 대해 오리¹⁰에서는 십이지장에서 직·결장에 걸쳐 관찰된 반면 벌새¹¹와 닭⁵에서는 전 위장관에서 관찰되지 않아 동물종에 따른 차이가 인정되고 있다. 본 실험의 결과 근육위, 유문부, 회장, 결장 및 직장에서 이들 면역반응세포들이 관찰되어 이전의 보고^{5,10,11}들과 다소 상이하게 관찰되었다.

Somatostatin은 양의 시상하부에서 최초로 분리된 polypeptide로서 위장관 내분비세포, 신경세포 및 중추신경계에서도 확인되고 있으며 위산분비와 혈액분비를 감소시키는 등 대부분 다른 위장관 내분비세포들에 대한 억제성 호르몬으로 알려져 있다³⁵. 닭^{5,6}, 갈매기¹², 비둘기⁹와 같은 대부분의 조류에서는 유문부에서 가장 높은 출현빈도를 나타내나 특이한 식이습성을 가진 벌새¹¹에서는 샘위에서 가장 높은 출현빈도를 나타내어 식이습성

에 따른 차이가 인정된다. 본 실험에서는 대장을 제외한 전 위장관 부위에서 출현하였으며 샘위와 유문부에서 가장 높은 출현빈도를 나타내어 비둘기⁹, 벌새¹¹ 및 닭^{5,6}에서의 보고와는 다소 차이를 보였으나 대장부위에서 관찰되지 않은 점은 이 등²³의 보고와 일치하였다.

Glucagon은 췌장 glucagon과 장 glucagon의 두 종류가 존재하며³⁷ 혈당상승작용과 당원분해작용 등 당 대사기능과 관련이 있으며 소화관에서는 위 수축운동이나 위산분비를 억제하는 작용을 가진다³⁸. 조류에서 이들 면역반응세포의 분포는 닭⁵⁻⁷, 비둘기⁹ 및 벌새¹¹에서 보고되어 있으며 동물의 종에 따른 차이가 인정되고 있다. 또한 닭에 있어서 이들 면역반응세포의 분포에 대해 Yamanaka *et al*⁶과 Alumets *et al*⁷은 성체에서 샘위와 하부소장에 국한되어 관찰된다고 하였으나 Rawdon과 Andrew⁵는 부화직후에서 근육위와 대장을 제외한 전 위장관에서 관찰된다고 하여 같은 종 내에서도 연령에 따른 차이가 인정되고 있다. 한편 본 실험의 결과 이들 면역반응세포들은 근육위, 유문부, 회장, 결장 및 직장에서 관찰되어 이전의 보고들^{5-7,9,11}과 다소 상이하였다.

결 론

기러기 위장관에 존재하는 내분비세포의 부위별 분포 및 출현빈도를 관찰하기 위하여 bovine Sp-1/chromogranin (BCG), serotonin, gastrin, cholecystokinin(CCK)-8, somatostatin 및 glucagon 항혈청을 이용하여 면역조직화학적으로 관찰하였던 바 BCG 면역반응세포는 전 위장관에 걸쳐 관찰되었으며 근육위와 샘위에서는 소수의 면역반응세포가 관찰된 반면 유문부와 장 부위에서는 중등도 또는 다수의 면역반응세포들이 관찰되었다. Serotonin 면역반응세포는 샘위와 근육위를 제외한 전 위장관 부위에서 관찰되었고 유문부에서는 점막 기저부에서 극소수의 면역반응세포만이 관찰되었으나 장 부위에서는 다수 또는 중등도의 면역반응세포들이 점막 전체에 산재되어 관찰되었다. Gastrin 면역반응세포는 근육위, 유문부 및 십이지장에 국한되어 관찰되었으며 유문부에서 가장 높은 빈도를 나타내었다. CCK-8 면역반응세포는 근육위에서 회장에 걸쳐 관찰되었으며 십이지장에서 가장 높은 출현빈도를 나타내었다. Somatostatin 면역반응세포는 대장을 제외한 전 위장관에서 관찰되었고 샘위와 유문부에서 다수의 면역반응세포들이 관찰되어 가장 높은 빈도

를 나타내었다. 한편 glucagon 면역반응세포는 직장에서 유문부, 회장 및 결장에서는 소수의 면역반응세포들이 중등도로 가장 높은 출현빈도를 나타내었으나 근육위, 관찰되었다.

Legends for figures

Fig 1. BCG-immunoreactive cells in the GIT of the bean goose.

- a. Proventriculus b. Gizzard c. Pylorus d. Duodenum e. Jejunum f. Ileum g. Colon
 h. Cecum i. Rectum
 a-c, f-h : $\times 480$, d, e, i : $\times 240$, PAP method.

Fig 2. Serotonin-immunoreactive cells in the GIT of the bean goose.

- a. Pylorus b. Duodenum c. Jejunum d. Ileum e. Colon f. Cecum g. Rectum
 a, d : $\times 480$, b, c, e-g : $\times 240$, PAP method.

Fig 3. Gastrin-immunoreactive cells in the GIT of the bean goose.

- a. Gizzard b. Pylorus
 a : $\times 480$, b : $\times 240$, PAP method.

Fig 4. CCK-8-immunoreactive cells in the GIT of the bean goose.

- a. Gizzard b. Pylorus c. Duodenum d. Jejunum e. Ileum
 a, c-e : $\times 480$, b : $\times 240$, PAP method.

Fig 5. Somatostatin-immunoreactive cells in the GIT of the bean goose.

- a. Proventriculus b. Gizzard c. Pylorus d. Duodenum e. Jejunum
 a, b, d, e : $\times 480$, c : $\times 240$, PAP method.

Fig 6. Glucagon-immunoreactive cells in the GIT of the bean goose.

- a. Gizzard b. Pylorus c. Ileum d. Colon e. Rectum
 a-e : $\times 480$, PAP method.

참 고 문 헌

- Lundberg JM, Tatemoto K, Terenius L, et al. Localization of peptide YY(PYY) in gastrointestinal endocrine cells and effects on intestinal blood flow and motility. *Proc Natl Acad Sci USA*, 79:4471-4475, 1982.
- Solcia E, Capella C, Vassallo G, et al. Endocrine cells of the gastric mucosa. *Int Rev Cytol*, 42:223-286, 1975.
- Yamada J, Iwanaga T, Yamashita T, et al. Distribution and frequency of occurrence of endocrine cells in the proventriculus of birds. *Jap J Zootech Sci*, 50:653-659, 1979
- El-Salhy M, Wilander E, Grimelius L, et al. The distribution of polypeptide YY(PYY)- and pancreatic polypeptide(PP)-immunoreactive cells in the domestic fowl. *Histochemistry*, 75:25-30, 1982.
- Rawdon BB, Andrew A. An immunohistochemical survey of endocrine cells in the gastrointestinal tract of chicks at hatching. *Cell Tiss Res*, 220:279-292, 1981.
- Yamanaka Y, Yamada J, Kitamura N, et al. An immunohistochemical study on the distribution of endocrine cells in the chicken gastrointestinal tract. *Z Mikrosk Anat Forsch*, 103:437-446, 1989.
- Alumets J, Håkanson R, Sundler F. Distribution, ontogeny and ultrastructure of pancreatic polypeptide(PP) cells in the pancreas and gut of the chicken. *Cell Tiss Res*, 194:377-386, 1978.
- Brodin E, Alumets J, Håkanson R, et al. Immunoreac-

- tive substance-P in the chicken gut: Distribution, development and possible functional significance. *Cell Tiss Res*, 216:455-469, 1981.
9. Saito T, Yamada J, Kitamura N, *et al.* An immunohistochemical study on the distribution of endocrine cells in the gastrointestinal tract of domestic pigeon (*Columba livia var domestica*). *Z Mikrosk Anat Forsch*, 103:237-246, 1989.
 10. Castaldo L, Lucini C. An immunohistochemical study on the endocrine cells in the gastrointestinal tract of domestic duck. *Eur J Basic Appl Histochem*, 35:131-143, 1991.
 11. Richardson KC, Yamada J, Wooller RD. An immunohistochemical study of the gastrointestinal endocrine cells of the New Holland Honeyeater, *Phylidonyris novaehollandiae*. *Aust J Zool*, 36:483-496, 1988.
 12. Iwanaga T, Yamada J, Yamashita T, *et al.* Endocrine cells in the pyloric region of the Black-tailed Gull (*Larus crassirostris*). *Res Bull Obihiro Univ*, 11:555-564, 1980.
 13. Yamada J, Kayamori T, Okamoto T, *et al.* Endocrine cells in the pyloric region of the Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Arch Histol Jap*, 41:41-52, 1978.
 14. Yamada J, Kitamura N, Yamashita T. The relative frequency and topographical distribution of somatostatin-, GRP-, APP-, glucagon-, 5-HT- and neurotensin-immunoreactive cells in the proventriculus of seven species of birds. *Arch Histol Jap*, 48:305-314, 1985.
 15. 우한정, 윤무부. 동물대백과 7권. 아카데미 서적, 서울, 98-107, 1988.
 16. Stemberger LA. *Immunocytochemistry*. 2nd ed, John Wiley & Sons, 104-149, 1979.
 17. Takayanagi M, Watanabe T. Immunocytochemical colocalizations of insulin, aromatic L-amino acid decarboxylase, dopamine beta-hydroxylase, S-100 protein and chromogranin A in B cells of the chicken endocrine pancreas. *Tissue & Cell*, 28:17-24, 1996.
 18. Salvi E, Buffa R, Renda TG. Ontogeny, distribution and amine/peptide colocalization of chromogranin A- and B-immunoreactive cells in the chicken gizzard and antrum. *Anat Embryol Berl*, 192:547-555, 1995.
 19. Buffa R, Gini A, Pelagi M, *et al.* Immunoreactivity of hormonality characterized human endocrine cells against three novel anti-human chromogranin B(B11 and B13) and chromogranin A(A11) monoclonal antibody. *Arch Histol Cytol*, 52:99-105, 1989.
 20. Cetin Y, Grube D. Immunoreactives for chromogranin A and B, secretogranin II in the guinea pig endocrine pancreas. *Histochemistry*, 94:479-484, 1990.
 21. Fischer-Colbrie R, Assmann H, Hogn C, *et al.* Immunological studies on the distribution of chromogranin A and B in the endocrine and nervous tissues. *Neuroscience*, 16:547-555, 1985.
 22. Salvi E, Buffa R, Renda TG. Ontogeny, distribution and amine/peptide colocalization of chromogranin A- and B-immunoreactive endocrine cells in the small and large intestine of the chicken. *Anat Embryol Berl*, 194:89-98, 1996.
 23. Lee JH, Ku SK, Lee HS. Immunohistochemical studies in the intestine of the duck. *Anas platyrhynchos platyrhynchos* Linne, with ages. *Korean J Vet Res*, 38:1-8, 1998.
 24. Wakinson A, Jonsson AC, Davison M, *et al.* Heterogeneity of chromogranin A-derived peptides in bovine gut, pancreas and adrenal medulla. *Biochem J*, 1: 471-479, 1991.
 25. Lundquist M, Amberg H, Candell J, *et al.* Silverstain for identification of neuroendocrine cells. A study of the chemical background. *Histochem J*, 22:616-623, 1990.
 26. El-Sahly M, Wilander E, Lundqvist M. Comparative studies of serotonin-like immunoreactive cells in the digestive tract of vertebrates. *Biomed Res*, 6:371-375, 1985
 27. Walsh JH. Gastrointestinal hormones and peptides. In ed Johnson L, *Physiology of the gastrointestinal tract*. Raven Press, New York pp 59-144, 1981.
 28. Pearce AGE, Polak JM, Bloom SR. The newer gut hormones. Cellular sources, physiology, pathology and clinical aspects. *Gastroenterology*, 72:746-761, 1977.
 29. El-Salhy M. On the phylogeny of the gastro-entero-

- pancreatic(GEP) neuroendocrine system. *Acta Univ Upsal*, 385:1-39, 1981.
30. Solcia E, Capella C, Buffa R, *et al*. Endocrine cells of the digestive system. In ed Johnson L, *Physiology of the gastrointestinal tract*, Raven Press, New York pp 39-58. 1981.
 31. Dockray GJ, Waillant C, Hopkins CR. Biosynthetic relationships of big and little gastrins. *Nature*, 237:770-772, 1978.
 32. Okamoto T. Distribution and ultrastructure of gastrin cells in the duck digestive tract. *Jpn J Vet Sci*, 42: 643-649, 1980.
 33. Martínez V, Jimenez M, Gonalons E, *et al*. Effects of cholecystokinin and gastrin on gastroduodenal motility and coordination in chickens. *Life Sci*, 52:191-198, 1993.
 34. Martínez V, Rodriguez Membrilla A, Jimenez M, *et al*. Immunohistochemical differentiation of gastrin and cholecystokinin in gastrointestinal tract of chickens. *Poult Sci*, 72:2328-2336, 1993.
 35. Kitamura N, Yamada J, Calingasan NY, *et al*. Immunocytochemical distribution of endocrine cells in the gastrointestinal tract of the horse. *Equine Vet J*, 16:103-107, 1984.
 36. Alumets J, Sundler F, H kanson R. Distribution, ontogeny and ultrastructure of somatostatin immunoreactive cells in the pancreas and gut. *Cell Tiss Res*, 185: 465-479, 1977.
 37. Larsson LI, H kanson R, Sj berg NO, *et al*. Fluorescence histochemistry of the gastrin cells in fetal and adult man. *Gastroenterology*, 68:1152-1150, 1975.
 38. Alumets J, H kanson R, Sundler F. Ontogeny of endocrine cells in porcine gut and pancreas. *Gastroenterology*, 85:1359-1372, 1983.
-