

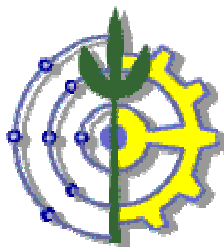
UFRRJ
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA
ANIMAL

DISSERTAÇÃO

ESTUDO IMUNO-HISTOQUÍMICO DAS CÉLULAS
ENDÓCRINAS DO TUBO GASTRINTESTINAL DE
MORCEGOS (MAMMALIA, CHIROPTERA).

CLARICE MACHADO DOS SANTOS

2007



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

**ESTUDO IMUNO-HISTOQUÍMICO DAS CÉLULAS
ENDÓCRINAS DO TUBO GASTRINTESTINAL DE MORCEGOS
(MAMMALIA, CHIROPTERA).**

CLARICE MACHADO DOS SANTOS

Sob a orientação do professor
Adriano Lúcio Peracchi

e Co- orientação do professor
Armando Sales

Dissertação submetida como requisito
parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Ciências, no Programa de
Pós-Graduação em Biologia Animal.

Seropédica, RJ
Março, 2007

599.4
S237e
T

Santos, Clarice Machado dos, 1980-
Estudo imuno-histoquímico das
células endócrinas do tubo
gastrointestinal de morcegos
(Mammalia, Chiroptera) / Clarice
Machado dos Santos. - 2007.
48 f. : il.

Orientador: Adriano Lúcio
Peracchi.

Dissertação (mestrado)-
Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro, Instituto de Biologia.
Bibliografia: f. 42-48.

1. Morcego - Teses. 2. Morcego
- Anatomia - Teses. 3. Morcego -
Aparelho digestivo - Teses. 4.
Gastroenterologia veterinária -
Teses. I. Peracchi, Adriano Lúcio,
1938- II. Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro. Instituto
de Biologia. III. Título.

DEDICATÓRIA

As minhas queridas crianças
as quais sempre levo em meu
coração Manuela Machado e
Isabella Menezes. Amo muito
vocês!

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Adriano Lúcio Peracchi pela confiança e orientação durante a realização deste trabalho. Ao Professor Dr. Armando Sales pelo incentivo e apoio desde a graduação e pela ajuda plena em todos os momentos de dificuldade.

A Aparecida Alves do Nascimento cujo exemplo de vida, perseverança e dedicação me motivou a seguir não só um título mais meus sonhos.

Aos amigos de laboratório, Thatiana Paz Ribeiro, Tatiana Luzia Gregio de Sousa, em especial a minha grande amiga, a técnica Ilza Lucas Coelho Meirelles pelo auxílio na microtomia e toda a assistência necessária tanto profissional; como muitas vezes emocional.

Meus sinceros agradecimentos a Daniela Dias e Jefferson Simanas Mikalauskas, Sidney Gouveia Feitosa, Patrício Adriano da Rocha e Victor Vilas-Boas Silveira que colaboraram de forma incomensurável na coleta de todo o material aqui estudado. A Carlos Antonio do Nascimento Santos e Bernardo Oliveira Pascarelli pelo apoio na imunohistoquímica e histomorfometria.

A Lycia de Brito Gitirana pela qual guardo eterna gratidão pelos conhecimentos compartilhados durante minha vida acadêmica, todos transmitidos de forma simples e objetiva.

Aos colegas e docentes do curso de Pós-graduação em especial Silvana Duarte, Andriele Ferreira Muri, Margareth Alves Ribeiro Cardozo de Almeida e Issac Passos de Lima, pela amizade e convivência produtiva.

Agradeço aos servidores do Instituto de Biologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pela paciência e solicitude nos momentos necessários.

Aos meus amigos e familiares que sempre torceram e me apoiaram, em especial ao amigo Roberto Larches pela convivência e compreensão durante esses anos.

A minha linda Tekinha que deixou muita saudade em meu coração.

Aos meus pais pelos ensinamentos e formação de caráter. Pela dádiva de vida, pelo amor incondicional e por toda luta e dedicação.

A Francis Arthur Seco Prando que há cinco anos compartilha dos meus dias, sempre me dando apoio e amor necessário para seguir em frente.

A Deus por ter me dado cachorros fofos, amigos fiéis, uma família unida, pais incríveis, um amor sob medida e principalmente VIDA e saúde para poder levar a frente meus sonhos!

BIOGRAFIA

Clarice Machado dos Santos, filha de Valdélcio Teixeira dos Santos e Sandra Machado dos Santos, nasceu em 20 de novembro de 1980, no município do Rio de Janeiro (RJ).

Ingressou no curso de graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, no ano de 1999, tendo concluído em 2004. No decorrer do curso de graduação em Medicina Veterinária exerceu atividade de Monitoria na disciplina, Anatomia Animal no período de 18 de abril de 2000 a 10 de março de 2001, porém, seu interesse maior foi direcionado para a área de e Histologia Animal onde também exerceu atividade de monitoria no período de 17 de julho de 2002 a 20 de março de 2004. Sua atividade científica teve início no ano de 2002, através do estágio no laboratório de Histologia Animal e Comparada do Departamento de Histologia e Embriologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, sob orientação da Prof. Dra. Lycia de Brito Gitirana, onde permaneceu até 20 de dezembro de 2002. Estagiou no Laboratório de Histologia e Embriologia do Departamento de Biologia Animal da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, no ano de 2003, tendo concluído em 2004 sob orientação do Prof. Dr. Armando Sales. Durante este período têm submetido trabalhos e resumos para publicação em revistas científicas, anais de congressos e conferências. Ingressou no curso de Pós-graduação em Biologia Animal (Nível mestrado) em março 2005.

RESUMO

SANTOS, Clarice Machado dos. **Estudo imuno-histoquímico das células endócrinas do tubo gastrintestinal de morcegos (Mammalia, Chiroptera)**. 2007. 48p Dissertação (Mestrado em Biologia Animal). Instituto de Biologia, Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2007.

Este trabalho visou analisar a influência do hábito alimentar na distribuição regional e frequência relativa das células endócrinas secretoras de colecistoquinina, gastrina, serotonina e enteroglucagon nos morcegos insetívoros (*Lonchorhina aurita* e *Molossus molossus*), frugívoros (*Artibeus cinerius* e *Sturnira lilium*), nectarívoros (*Anoura geoffroyi* e *Glossophaga soricina*) e hematófago (*Desmodus rotundus*). Foram utilizados ao todo vinte e quatro animais, coletados durante a noite, com auxílio de “redes japonesas” ou puçá e tarrafas em diversos pontos, da reserva do Tinguá em Nova Iguaçu (Rio de Janeiro) e caverna casa de Pedra (SE-01) Fazenda Santo Antonio, Itabaiana (Sergipe). Fragmentos de duas regiões do estômago (fundo e piloro) e três fragmentos do intestino (duodeno, jejuno/íleo e intestino grosso) foram removidos, fixados, processados e em seguida submetidos à imunohistoquímica. Quatro tipos de células imunoreativas (IR) para serotonina (5-HT), gastrina (GAS), colecistoquinina (CCK) e enteroglucagon (GLUC) foram identificadas na mucosa gástrica e intestinal das espécies estudadas. Sendo as células imunoreativas a 5-HT, GAS, GLUC identificadas no estômago e as células IR a 5-HT, CCK e GLUC identificadas no intestino. A distribuição regional e frequência relativa das células endócrinas variaram conforme as espécies e hábito alimentar. As células IR a serotonina foram encontradas ao longo de todo o tubo gastrintestinal, sendo o tipo celular predominante. As células IR a gastrina foram abundantes e fortemente marcadas na região pilórica de todas as espécies estudadas, sendo a maior frequência relativa encontrada nos morcegos frugívoros. As células IR a CCK foram observadas ao longo do intestino de todas as espécies estudadas, variando apenas a sua frequência relativa. Sua distribuição pode ser observada tanto nas glândulas intestinais, como entre as células epiteliais de revestimento. As células IR ao enteroglucagon apresentaram menor frequência relativa quando comparadas às outras células endócrinas. Houve diferenças na distribuição e na frequência relativa das células endócrinas do tubo gastrintestinal dos animais de mesmo hábito alimentar. Entretanto, estas diferenças foram menores quando comparadas com os animais de hábitos alimentares diferentes.

Palavras chave: Células endócrinas, imuno- histoquímica, tubo gastrintestinal, morcegos.

ABSTRACT

SANTOS, Clarice Machado dos. **Immunohistochemical study of endocrine cells in the gastrointestinal tube in bats (Mammalia, Chiroptera)**. 2007. 48p Dissertação (Mestrado em Biologia Animal). Instituto de Biologia, Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2007

This work aimed to analyze the influence of feeding habits on the regional distribution and relative frequency of cholecystokinin, gastrin, serotonin and enteroglucagon secreting endocrine cells in insectivorous (*Lonchorhina aurita*, *Molossus molossus*), frugivorous (*Artibeus cinerius*, *Sturnira lilium*), nectarivorous (*Anoura geoffroyi*, *Glossophaga soricina*) and hematophagous (*Desmodus rotundus*) bats. Twenty-four animals collected at night with mist nets and hand nets in various places of Tinguá Reserve in Nova Iguaçu (Rio de Janeiro State) and Casa de Pedra Cave (SE-01) at the Santo Antonio Farm in Ribeira (Sergipe State) Brazil were used. The bats were sacrificed and two regions of the stomach (fundic and piloric) and three regions of the intestine (duodenum, jejunum/ileum and large intestine) were removed and cut in smaller fragments. Four types of immunoreactive (IR) cells – to serotonin (5-HT), gastrin (GAS), colecystokinin (CCK) and enteroglucagon (GLUC) – were identified in gastric and intestinal mucosa. The 5-HT, GAS and GLUC-IR cells were identified in the stomach. The 5-HT, CCK and GLUC-IR cells were found in the entire intestine. The regional distribution and relative frequency of endocrine cells varied according to animal species and feeding habits. Immunoreactive cells to 5-HT were found throughout the entire gastrointestinal tube which were the predominant cellular type. The gastrin-IR cells were numerous and strongly labeled in the pyloric region of all species. The CCK-IR cells were observed throughout the intestine of all species, varying only in relative frequency. Their distribution could be observed in the intestinal glands as well as among the surface epithelium. The GLUC-IR cells had lower relative frequency when compared to the other endocrine cells. In this study, interspecific differences were observed between animals with the same feeding habits, but these were less when compared to animals with different feeding habits. This suggests, then, a correlation between the distribution and frequency of endocrine cells and feeding habit.

Key words: Endocrine cells, immunohistochemical, gastrointestinal tube, bats.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Representação esquemática das etapas do método imunoenzimático ABC.....	11
Figura 2.	Fotomicrografia do estômago de <i>Molossus molossus</i> , região pilórica. Hematoxilina-eosina (HE).....	6
Figura 3.	Fotomicrografia do estômago de <i>Molossus molossus</i> , região fúndica. HE.....	6
Figura 4.	Fotomicrografia do estômago, região fúndica de <i>Desmodus rotundus</i> , HE.....	6
Figura 5.	Fotomicrografia do estômago, região fúndica de <i>D. rotundus</i> , região fúndica, HE.....	6
Figura 6.	Fotomicrografia da região gastroduodenal de <i>S. lilium</i> . PAS.....	7
Figura 7.	Fotomicrografia do intestino II de <i>D. rotundus</i> . HE.....	7
Figura 8.	Representação esquemática da molécula de 5-HT.....	12
Figura 9.	Representação esquemática da formação da gastrina.....	13
Figura 10.	Representação esquemática do tubo gastrintestinal de quirópteros com representação das regiões utilizadas.....	19
Figura 11.	Fotomicrografia de células IR a 5-HT. Estômago região fúndica de <i>A. cinerius</i>	25
Figura 12.	Fotomicrografia células IR a 5-HT. Estômago região pilórica de <i>G. soricina</i>	25
Figura 13.	Fotomicrografia células IR a 5-HT. Estômago região fúndica de <i>D. rotundus</i>	25
Figura 14.	Fotomicrografia células IR a 5-HT. Estômago região fúndica de <i>A. cinerius</i>	25
Figura 15.	Fotomicrografia de células IR a 5-HT. Estômago região pilórica de <i>A. cinerius</i>	26
Figura 16.	Fotomicrografia de células IR a 5-HT. Intestino III de <i>L. aurita</i>	26
Figura 17.	Fotomicrografia de células IR a 5-HT. Intestino I de <i>G. soricina</i> ...	26

Figura 18.	Fotomicrografia de células IR a 5-HT. Intestino I de <i>M. molossus</i>	26
Figura 19.	Fotomicrografia de células IR a gastrina. Estômago região pilórica de <i>S. lilium</i>	29
Figura 20.	Fotomicrografia de células IR a gastrina. Estômago região pilórica de <i>S. lilium</i>	29
Figura 21.	Fotomicrografia de células IR a gastrina. Estômago região pilórica de <i>M. molossus</i>	29
Figura 22.	Fotomicrografia de células IR a gastrina. Estômago região pilórica de <i>A. cinerius</i>	29
Figura 23.	Fotomicrografia de células IR a gastrina. Estômago região pilórica <i>M. molossus</i>	30
Figura 24.	Fotomicrografia de células IR a gastrina. Estômago região pilórica de <i>D. rotundus</i>	30
Figura 25.	Fotomicrografia de células IR a CCK. Intestino I de <i>L. aurita</i>	33
Figura 26.	Fotomicrografia de células IR a CCK. Intestino II de <i>S. lilium</i>	33
Figura 27.	Fotomicrografia de células IR a CCK. Intestino II de <i>G. soricina</i> ...	33
Figura 28.	Fotomicrografia de células IR a CCK. Intestino II de <i>D. rotundus</i>	33
Figura 29.	Fotomicrografia de células IR a CCK. Intestino I de <i>S. lilium</i>	34
Figura 30.	Fotomicrografia de células IR a CCK. Intestino I de <i>A. geoffroyi</i>	34
Figura 31.	Fotomicrografia de célula IR a enteroglucagon. Estômago região fúndica de <i>A. geoffroyi</i>	37
Figura 32.	Fotomicrografia de célula IR a enteroglucagon. Estômago região fúndica de <i>L. aurita</i>	37
Figura 33.	Fotomicrografia de célula IR a enteroglucagon. Estômago região pilórica de <i>M. molossus</i>	37
Figura 34.	Fotomicrografia de célula IR a enteroglucagon. Intestino III de <i>L. aurita</i>	37
Figura 35.	Fotomicrografia de células IR a enteroglucagon. Intestino I e colédoco de <i>M. molossus</i>	38
Figura 36.	Fotomicrografia de células IR a enteroglucagon. Colédoco de <i>M. molossus</i>	38

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Quirópteros utilizados, com respectivos hábitos alimentares e locais de coleta.....	16
Tabela 2. Detalhes dos Anticorpos e principais reagentes utilizados.....	18
Tabela 3. Distribuição e frequência relativa das células endócrinas de <i>L. aurita</i> e <i>M. molossus</i> , <i>A. cinerius</i> e <i>S. lilium</i> , <i>A. geoffroyi</i> e <i>G. soricina</i> e <i>D. rotundus</i>	28
Tabela 4. Distribuição e frequência relativa numérica das células endócrinas de <i>L. aurita</i> e <i>M. molossus</i> , <i>A. cinerius</i> e <i>S. lilium</i> , <i>A. geoffroyi</i> e <i>G. soricina</i> e <i>D. rotundus</i>	29

SUMÁRIO

1.0 INTRODUÇÃO.....	1
2.0 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Organização Geral Do Tubo Gastrointestinal De Morcegos.....	3
2.1.1 Estômago.....	3
2.1.2 Intestino.....	5
2.2 Células Endócrinas Do Sistema Neuroendócrino Difuso.....	8
2.3 Estudo Imunohistoquímico.....	9
2.4 Os Peptídeos Reguladores e Aminas Biogênicas Investigadas.....	12
2.4.1 Serotonina.....	12
2.4.2 Gastrina.....	13
2.4.3 CCK.....	14
2.4.4 Glucagon.....	14
2.5 Sistemática.....	16
3.0 MATERIAL E MÉTODOS.....	17
4.0 RESULTADO E DISCUSSÃO.....	23
5.0 CONCLUSÃO.....	41
6.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42

1.0 INTRODUÇÃO

A Ordem Chiroptera, excedida em número de espécies apenas pelos roedores, distribui-se pela maior parte das regiões temperadas e tropicais, de ambos os hemisférios, estando ausentes apenas em ilhas oceânicas remotas e regiões polares (Nowak, 1991). Esta ordem é dividida em duas sub-ordens: Megachiropteros, com apenas uma família e Microchiropteros, com 16 famílias, 177 gêneros e cerca de 930 espécies (Wilson & Reeder, 1993). Todavia, em nenhuma outra região encontra-se a grande diversidade de espécies que caracteriza a região Neotropical, onde 266 já foram listadas (Wilson, 1996). No Brasil, ocorrem 138 espécies conhecidas até o momento (Aguiar *et al.*, 1998), o que representa 74% do total que Koopman (1993) assinalou para a América do Sul.

A mobilidade dada pelo voo e seus hábitos noturnos permitiram a estes animais a exploração de nichos, relativamente sem competição durante sua evolução e diversificação e isto parece ter sido responsável pela grande riqueza de espécies e diversidade de hábitos alimentares existentes, que incluem: frugivoria, nectarivoria, carnivoria, piscivoria, insetivoria, onivoria e, únicos entre os mamíferos, sanguivoria (hematofagia).

No Brasil, os quirópteros são muito estudados como dispersores de sementes (Uieda & Vasconcellos-Neto, 1985), polinizadores (Peracchi & Silva, 1995; Bredt *et al.*, 2002), hábitos alimentares (Peracchi & Albuquerque, 1976; Fenton *et al.* 1999; Mikich, 2002; Passos *et al.*, 2003; Passos & Graciolli, 2004), distribuição de espécies (Vieira, 1942; Marinho-Filho, 1996; Peracchi *et al.*, 2000; Dias *et al.*, 2002; Mikalauskas *et al.*, 2006; Reis *et al.*, 2006), aspectos reprodutivos (Taddei, 1980; Fabián & Marques, 1989; Zortéa, 2003; Marinho-Filho, 2004), diversidade e aspectos ecológicos (Trajano, 1985; Muller & Reis, 1992; Sipinski & Reis, 1995; Mikalauskas, 2005); porém, são poucos os estudos genéticos e moleculares.

O tubo gastrintestinal (TGI) de morcegos tem sido investigado comparativamente através da histologia, histoquímica e por ultra-estrutura e os dados avaliados pela ampla variedade de espécies (Studholme *et al.*, 1986). A morfologia do estômago e intestino tem sido descrita em diversas espécies de Microchiroptera (Rouk & Glass, 1970; Forman, 1972; Kamiya & Pirlot, 1975; Madkour, 1977). Ito & Winchester (1963) descreveram a citologia da mucosa gástrica através da microscopia eletrônica de transmissão e relataram que os diversos tipos celulares se assemelham àqueles encontrados em estudos preliminares em humanos, ratos, porco, gato, cães e macacos. A principal diferença entre estas espécies era a frequência dos tipos celulares dentre eles as células argentafins foram destacadas.

O sistema gastrintestinal destes mamíferos voadores é um modelo atrativo para o entendimento da evolução do TGI em geral. Isto se deve ao fato dos morcegos possuírem uma diversificada dieta, sendo possível a investigação da relação entre a distribuição e frequência das células endócrinas com os hábitos alimentares (Forman *et al.*, 1979; Yamada *et al.*, 1984).

As células endócrinas gastrintestinais são dispersas ao longo do epitélio de revestimento, glândulas gástricas e intestinais do tubo digestório e sintetizam vários tipos de polipeptídios e aminas biologicamente ativas (Sundler *et al.*, 1980). Segunda a clássica definição de Bayliss & Starling (1902), a quase totalidade destes peptídeos são reconhecidamente hormônios, embora alguns sejam considerados como 'candidatos a hormônios' (Grossman, 1977) e outros atuem como reguladores locais. Os peptídeos reguladores desenvolvem importante função na regulação do processo digestivo através do controle na absorção dos nutrientes, na secreção intestinal e das glândulas associadas, na motilidade intestinal e no fluxo sanguíneo intestinal (Deveney & Wal, 1983).

O avanço recente dos métodos imunohistoquímicos, a obtenção de anticorpos específicos aliados às técnicas de radioimunoensaio, radioimunohistoquímica, química de peptídeos sintéticos e ultimamente da engenharia genética, permitiram identificar, localizar e

quantificar cerca de 35 “peptídeos reguladores” no sistema endócrino, como também alguns de seus precursores (Polak & Bloom, 1983; Yanaihara *et al.*, 1988).

Até o momento, as investigações das células endócrinas do tubo gastrintestinal são consideradas uma importante parte no estudo filogenético (D’Este *et al.*, 1994). Além disso, a distribuição regional e a frequência relativa destas células têm sido encontradas variando conforme a espécie animal e seu hábito alimentar (Solcia *et al.*, 1975). Mais de 15 diferentes tipos de células endócrinas, já foram descritas no tubo gastrintestinal de quirópteros através do método imunohistoquímico. Destas células endócrinas, nove foram descritas no tubo gastrintestinal do morcego hematófago, *Desmodus rotundus* (Yamada *et al.*, 1984), onze no tubo gastrintestinal de insetívoros, *Pipistellus abramusi* e *Plecotus auritus* (Yamada *et al.*, 1988), oito no tubo gastrintestinal do nectarívoro *Anoura caudifer* e frugi-nectarívoro *Carollia perspicillata* (Ashihara *et al.*, 1999), dez no tubo gastrintestinal de piscirívoros, *Noctilio leporinus* (Komori *et al.*, 2000) e quatro no pâncreas do morcego frugívoro *Rousettus aegyptiacus* (Michelmores *et al.*, 1998). Estes estudos revelaram diferenças interespecíficas e sugerem uma correlação entre a distribuição das células endócrinas e o hábito alimentar do animal.

Este trabalho teve por objetivo contribuir para a ampliação do conhecimento da existência de células secretoras de colecistoquinina, gastrina, serotonina e glucagon em quirópteros. Neste estudo também foi comparada a influência do hábito alimentar com a distribuição e a frequência relativa das células endócrinas; assim, contribuindo para o estudo morfológico e também para a fisiologia e a patologia do sistema digestório de mamíferos.

2.0. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Organização geral do tubo gastrintestinal de morcegos.

2.1.1. Estômago

A morfologia do estômago de quirópteros tem sido objeto de diversos trabalhos, nos quais se procurou correlacionar a forma do órgão com o hábito alimentar e filogenia (Forman *et. al.*, 1979).

Owen (1868) considerou que a variação morfológica do estômago em diversas espécies de morcegos estaria relacionada com a quantidade de alimento ingerido e o intervalo entre cada alimentação. De maneira geral, os microquirópteros possuem um estômago saculiforme, com exceção dos hematófagos nos quais é tubular (Forman, 1972).

A organização geral da mucosa gástrica de morcegos lembra a organização de humano e os mesmos termos podem ser usados para designar as várias regiões, chamando-as de região cárdia, fundo, corpo e piloro (Fig. 2, 3). A mucosa gástrica está recoberta por um epitélio cilíndrico simples mucosecretor que se aprofunda para revestir as fovéolas nas quais desembocam glândulas tubulosas, envoltas pela lâmina própria e repousando sobre a muscular da mucosa (Rouk & Glass, 1970).

A mucosa do estômago apresentada é passível de modificações, no que diz respeito à quantidade e tamanho das rugas observadas, bem como na distribuição e na quantidade de células principais e parietais. Segundo Forman *et al.* (1979), a superfície interna do estômago de todos os morcegos apresenta rugas que persistem mesmo com o órgão repleto e que variam de tamanho, chegando a constituir verdadeiras pregas da mucosa as quais podem se interdigitarem em maior ou menor grau, dependendo do hábito alimentar da espécie estudada. Segundo Forman *et al.* (1979), as interdigitações são importantes mecanismos de adaptação que atua no retardamento do trânsito do bolo alimentar e conseqüentemente, melhora a digestão para as espécies frugívoras.

A camada mucosa mostra algumas diferenças regionais. Em *Myotis lucifugus*, a glândula gástrica se inicia discreta na região fúndica e ao longo da região pilórica. A glândula cárdica é limitada por uma zona muito pequena em torno do orifício esofágico. A área ocupada pela glândula pilórica é maior. O restante da mucosa gástrica contém uma população mista de células, mas a proporção dessas células pode variar. As células principais ou zimogênicas são mais abundantes na região do fundo e se tornam escassas na região distal, sendo ausentes na porção inferior do corpo. As células parietais ou oxínticas estão presentes no fundo e no corpo, e são mais abundantes na região cranial do piloro. Outras células que podem ser encontradas na camada mucosa são as células mucosecretoras e as células argentafins (Ito & Winchester, 1963).

Histologicamente, a mucosa gástrica de *Desmodus rotundus* exibe notáveis diferenças quando comparada com as demais espécies (Rouk & Glass, 1970). As glândulas da região fúndica são, em sua maioria, acinosas, pouco profundas, com reduzido número de células principais, parietais e argentafins (Rouk & Glass, 1970) (Fig. 4, 5). A lâmina própria apresenta-se rica em vênulas, fato que associado ao pequeno tamanho das glândulas, permite a rápida absorção da fração líquida do alimento (Winsatt & Guerriere, 1962).

A submucosa está constituída por tecido conjuntivo frouxo, poucos gânglios nervosos do plexo de Meissner, arteríolas, vênulas e tecido linfóide difuso e nodular (Rouk & Glass, 1970). A muscular se apresenta em duas camadas de músculo liso; uma interna circular e uma longitudinal externa mais delgada que a primeira. Entre as duas camadas se observa os gânglios nervosos que formam o plexo mioentérico (plexo de Auerbach) (Rouk & Glass, 1970).

→ As células argentafins

Dos cinco tipos celulares encontrados na mucosa gástrica, as células argentafins ou enterocromafins são menores e menos abundantes. Estas células são facilmente distinguidas dos outros tipos celulares pela seletividade de seus grânulos por certos métodos de impregnação por prata. As células argentafins são também facilmente identificadas por microscópio de contraste de fase; embora, algumas variações destas células são reconhecidas na microscopia de luz. Umas possuem densos grânulos de notável tamanho, em outras estes são finos, como partículas de poeira, e ainda há outras que aparentam conter grânulos de inclusão. Todas estas formas são muito diferentes dos outros elementos epiteliais (Ito & Winchester, 1963).

Na microscopia eletrônica, as células argentafins do estômago são piramidais ou ovaladas com ampla superfície em contato com a membrana basal. Muitas delas se localizam entre a parte basal de outras células epiteliais, não tendo a borda livre dentro de seu lúmen. Entretanto, as células enterocromafins podem apresentar prolongamentos estendendo-se acima do lúmen. Estas células possuem numerosos grânulos densos e esféricos que medem acima de 0,4 μm em diâmetro, envolto por uma fina membrana. Elementos difundidos no retículo endoplasmático rugoso e alguns ribossomos livres estão presentes na matriz citoplasmática entre os grânulos e em outros lugares do citoplasma. As mitocôndrias são pequenas e freqüentemente esféricas. A borda lateral destas células se apresenta freqüentemente lisa e possui uma típica barreira terminal; porem, desossomos são pouco observados (Ito & Winchester, 1963).

2.1.2. Intestinos

Os morcegos possuem intestinos curtos quando comparados com outros mamíferos (Forman *et al.*, 1979). Estudos comparativos entre os intestinos de espécies com diferentes hábitos alimentares revelaram que os frugívoros apresentam intestinos mais longos (em relação com o comprimento do corpo) do que os insetívoros, os carnívoros, os nectarívoros, os onívoros e os hematófagos (Robin, 1881; Eisentraut, 1950).

Os segmentos delgado e grosso do intestino estão presentes em quase todas as espécies, com exceção do hematófago *Desmodus rotundus*, cuja morfologia do tubo gastrointestinal é caracterizada pelo reduzido tamanho do intestino delgado e ausência do intestino grosso e ceco intestinal (Harlow & Braun, 1997). Nas outras espécies, em geral, no intestino delgado se observa um duodeno muito curto, porém de grande diâmetro. O ceco é ausente; no entanto, na junção do intestino delgado com o intestino grosso se verifica uma dilatação resultante do acúmulo de placas de Payer a esse nível. O intestino grosso é curto e não forma os segmentos ascendente e transversal (Forman *et al.*, 1979).

A mucosa do intestino delgado apresenta uma morfologia variável nas diversas espécies, principalmente no que diz respeito à forma, tamanho e quantidade de vilosidades; apesar desta variação, parece existir um determinado padrão na distribuição destas vilosidades para cada família. As espécies frugívoras são as que apresentam maior quantidade de vilosidades, as quais são muito interdigitadas. Estas observações foram confirmadas por Tedman & Hall (1985) em *Pteropus alectes* e *Pteropus poliocephalus* que observaram na superfície do epitélio duodenal a formação de inúmeras vilosidades, que foram longas e proeminentes em comparação às pequenas glândulas intestinais. Segundo Forman *et al.* (1979) sendo estas vilosidades muito grandes originam um mecanismo que retarda o trânsito do bolo alimentar e, em consequência, permite uma melhor absorção dos nutrientes nele contido.

As células que compõem o epitélio das vilosidades e das glândulas intestinais dos morcegos são dos mesmos tipos das descritas para outras espécies de mamíferos. Tedman & Hall (1985) chamaram a atenção para a grande quantidade de células de Paneth contendo grânulos de secreção glicoproteica que parecem representar lisossomos. Entretanto, poucas destas células, foram encontradas revestindo a base das glândulas intestinais dos megaquiropteros *Pteropus alectes* e *Pteropus poliocephalus*.

As glândulas duodenais são glândulas mucosas e sua secreção é restrita à região ao redor da junção gastroduodenal, aparecendo mais desenvolvidas nas espécies que utilizam alimentos de origem vegetal do que nas demais (Forman *et al.*, 1979) (Fig. 6).

A lâmina própria e a camada submucosa são pouco desenvolvidas na maioria das espécies, com exceção das hematófagas nas qual o grande número de vasos sanguíneos e linfáticos contribui para seu espessamento (Forman *et al.*, 1979).

Estudos sobre a distribuição da placa de Payer revelaram diferenças na quantidade, na distribuição e na morfologia destas estruturas em diferentes espécies de Phyllostomatídeos. As espécies que se alimentam de frutos apresentam maiores quantidades destas formações linfóides quando comparada com os animais de outros hábitos alimentares. Nos frugívoros encontramos uma maior distribuição da placa de Payer ao longo do intestino delgado, incluindo o duodeno, sendo as mesmas constituídas por nódulos linfáticos grandes dotados de centros germinativos bastante desenvolvidos. Nas demais espécies os nódulos se apresentam pequenos e com centros germinativos reduzidos, estando a placa de Payer restrita quase que exclusivamente ao íleo (Forman, 1974a; 1974b) (Fig. 7).

A mucosa do intestino grosso não apresenta diferenças marcantes quando comparada com as descritas para os demais mamíferos (Forman *et al.*, 1979).

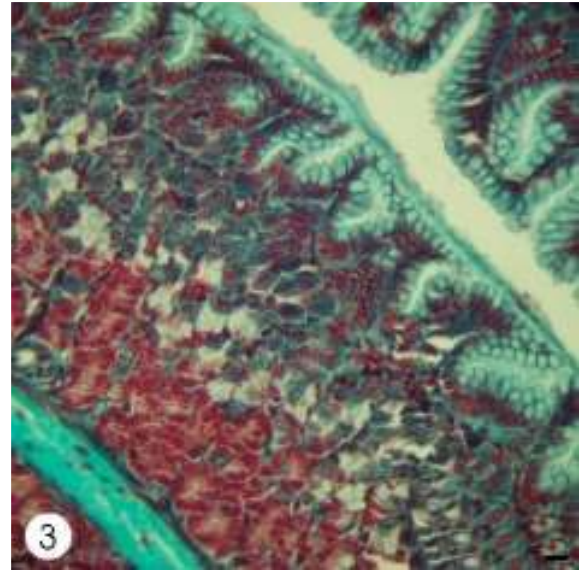


Fig. 2 e 3: Fotomicrografias do estômago de *Molossus molossus*. Fig. 2: Região pilórica, Hematoxilina- eosina (HE). Fig. 3: Região fúndica, Tricrômico de Gomori. Escala = 50 μ m.

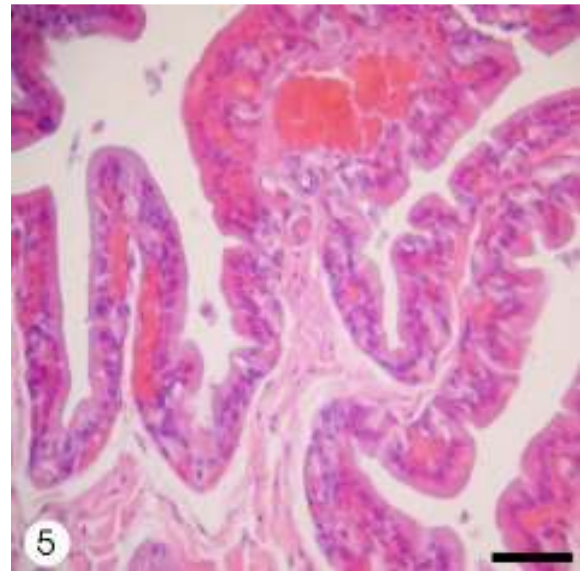
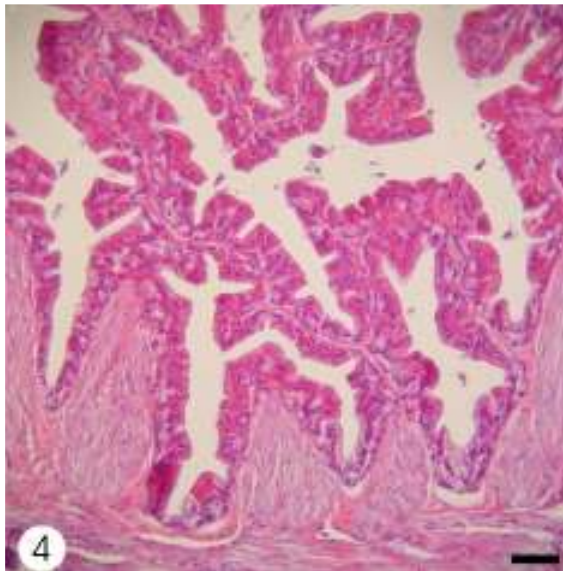


Fig. 4 e 5: Fotomicrografias do estômago, região fúndica de *Desmodus rotundus*, HE. Escala = 50 μ m.



Fig. 6: Fotomicrografia da região gastroduodenal de *S. lilium*, PAS. Escala = 50 μ m.

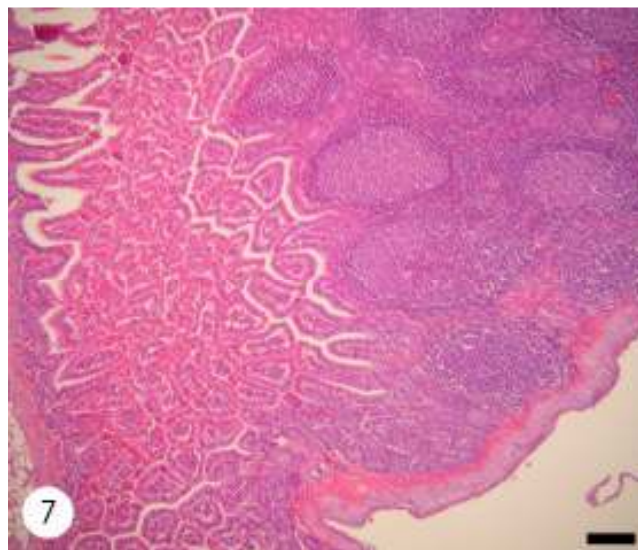


Fig. 7: Fotomicrografia do Intestino II de *D. rotundus*, HE. Escala = 50 μ m.

2.2. Células endócrinas do sistema neuroendócrino difuso.

As células endócrinas estão localizadas na mucosa ou na submucosa do estômago, intestino, assim como no pâncreas e secretam diversos hormônios (Bell, 1979). Alguns desses hormônios agem sobre as células secretoras localizadas na parede do tubo gastrointestinal, no pâncreas ou no fígado de forma a alterar a velocidade ou a composição de suas secreções, outros agem sobre as células musculares lisas em segmentos específicos do tubo gastrointestinal, sobre os esfíncteres ou sobre a musculatura da vesícula biliar (Berne & Levy, 2000). Todos os hormônios sintetizados por células glandulares endócrinas localizadas no tubo gastrointestinal, bem como os hormônios pancreáticos, são produzidos por células que possuem características citoquímicas e ultra-estruturais comuns (Carvalho *et al.*, 1968; Pearse, 1968).

Pearse (1968) desenvolveu o conceito de um sistema celular muito amplo, denominado sistema APUD (Amine Precursor Uptake and Decarboxylation) incluindo todas as células endócrinas do tubo digestório e outras células endócrinas de diferentes órgãos, como as células C e M hipofisárias, as C da tireóide, as células secretoras de adrenalina e noradrenalina da medula da adrenal e as A, B e D das ilhotas pancreáticas. Todas estas células apresentam uma série de características bioquímicas comuns, tais como: captação de precursores aminados (Dopa e 5-hidroxitriptofano); presença de aminas fluorogênicas (5-hidroxitriptamina); presença das enzimas aminoácido-descarboxilase e α -glicerídio-fosfato desidrogenase; metacromasia e riqueza em esterase não específica e ou colinesterase (Spreafico *et al.*, 1977).

Segundo diversos autores as células do sistema APUD se originam da crista neural (Johnston, 1966; Pearse & Polak, 1971; Pearse *et al.*, 1973). Desta forma, estas células devem ser consideradas como neurônios altamente modificados. Entretanto, Andrew *et al.* (1998) sugeriram que as células endócrinas pancreáticas e intestinais apareceram a partir do endoderma, porém, esta conclusão não é universalmente aceita.

As células endócrinas das ilhotas pancreáticas (de Langerhans), do tubo gastrointestinal e os mensageiros químicos sintetizados por elas estabelecem um complexo Sistema Endócrino Gastro-Entero-Pancreático (GEP) (Bloom *et al.*, 1982). O conceito deste sistema foi introduzido por Fujita (1973) apoiado nas semelhanças histoquímicas e ultra-estruturais entre as células endócrinas do pâncreas e do tubo gastrointestinal.

A descoberta posterior de numerosos peptídeos reguladores existentes comumente no Sistema Nervoso Central e Sistema Nervoso Periférico (SNC, SNP) e no Sistema GEP possibilitou o estabelecimento do Sistema Neuroendócrino Difuso (DNES) (Polak & Bloom, 1983), conceito este que vem sendo muito empregado atualmente para unificar estes tipos celulares.

Geralmente, um único tipo de célula endócrina secreta somente um hormônio, embora ocasionalmente alguns tipos celulares possam secretar dois hormônios diferentes. É interessante notar que as células do DNES têm sido localizadas não somente no sistema digestório, mas também no sistema respiratório e no pâncreas endócrino. Além disso, alguns dos hormônios produzidos por estas células endócrinas são idênticos às neurosecreções localizadas no SNC. Não se compreende até o momento, o significado da sua diversidade de localização e produção hormonal (Gartner & Hiatt, 1999).

As células do DNES podem ser localizadas por meio de técnicas imunohistoquímicas para a localização das aminas. Mais de 35 tipos diferentes de células do DNES, localizadas na mucosa do estômago, no intestino delgado, no intestino grosso, no sistema respiratório, na tireóide, na hipófise e na próstata foram descritas (Junqueira & Carneiro, 1999). Este foi um dos campos da pesquisa que mais rapidamente se desenvolveu, especialmente no que diz respeito aos hormônios gastrointestinais (Wu *et al.*, 1997; Zhang & Li, 1997; Zhu *et al.*, 1999).

As fotomicrografias de células endócrinas revelam que estas células se apóiam na lâmina basal e são de dois tipos: as que alcançam a luz do tubo, o tipo aberto, e as que não o fazem, o tipo fechado. O tipo aberto alcança a superfície através de longos prolongamentos apicais que podem atuar monitorando o conteúdo luminal. Os hormônios que estas células liberam atuam tanto em células-alvo na vizinhança imediata da célula sinalizadora (efeito parácrino), quanto através da circulação e alcançam a distância a sua célula-alvo (efeito endócrino) (Junqueira & Carneiro, 1999).

2.2. Estudo imuno-histoquímico

A imuno-histoquímica é uma técnica que usa anticorpos selecionados para a identificação de antígenos específicos. O método é extremamente sensível e pode comumente detectar quantidades muito pequenas de substâncias (Ex: nanogramas ou moléculas individuais). Existem dois métodos amplamente utilizados: Peroxidase-Antiperoxidase (PAP) e o Complexo Avidina-Biotina-Peroxidase (ABC) (Mills, 1992).

→ Antígenos e anticorpos

O antígeno é a substância que quando introduzida no organismo pode estimular a resposta imune (produção de anticorpo). Na imuno-histoquímica, o antígeno é a substância que tentamos identificar (Ex: gastrina, CCK, 5-HT e glucagon).

Os anticorpos são proteínas séricas (imunoglobulinas) que são produzidas em resposta a substâncias específicas (antígenos). No organismo seu propósito é conter ou neutralizar o efeito do antígeno. Nas empresas especializadas são produzidos anticorpos para estes antígenos pesquisados ligados a marcadores visuais (Mills, 1992).

→ Solução de anticorpo

As soluções de anticorpos são produzidas de diferentes formas, entre elas o anticorpo monoclonal. Estes anticorpos são soluções produzidas a partir de um único determinante antigênico (epítipo).

→ Método

Complexo avidina-biotina-peroxidase (ABC): Nesta técnica são usados três reagentes: O anticorpo primário, o anticorpo secundário que é produzido ligado a uma molécula da vitamina biotina (C), e o complexo de glicoproteínas (Avidina pronta a partir da biotina e peroxidase) (AB) (Fig.1).

→ Reações não específicas

O anticorpo primário ou secundário pode se unir a elementos teciduais altamente carregados como os existentes no tecido conjuntivo, resultando em uma reação positiva não específica. Estes cortes podem ser “preenchidos” antes do início da técnica com proteínas de soro não imunológico da mesma espécie animal que o anticorpo secundário foi produzido. Este preenchimento reduz grandemente as reações não específicas.

Um segundo tipo de reação não específica é chamada atividade da peroxidase endógena (EPA). Muitos tecidos contêm peroxidase, uma enzima que pode reagir com o substrato cromógeno. A EPA é geralmente localizada em áreas que contêm um grande número de células sanguíneas. A EPA pode ser inibida irreversivelmente por um tratamento prévio do tecido com 3% de peróxido de hidrogênio em solução de metanol por quinze minutos (Mills, 1992).

→ Reações cruzadas

É impossível isolar todos os peptídeos reguladores (antígenos) de todas as espécies, analisá-los, obter os anticorpos e testá-los. Deste modo, a reação cruzada apresenta a vantagem de que anticorpos anti-peptídeos reguladores de mamíferos podem ser utilizados para localização de peptídeos reguladores em vertebrados inferiores assim como em invertebrados (Van Noorden & Falkmer, 1980; Falkmer & Van Noorden, 1983; Van Noorden, 1984). Portanto, a reação cruzada se constitui num valoroso instrumento nos estudos comparativos, dos quais resultou a teoria atual de que os peptídeos reguladores são tão antigos filogeneticamente quanto às primeiras formas de vida animal (Roth *et al.*, 1982). Organização geral do Tubo Gastrintestinal de morcegos

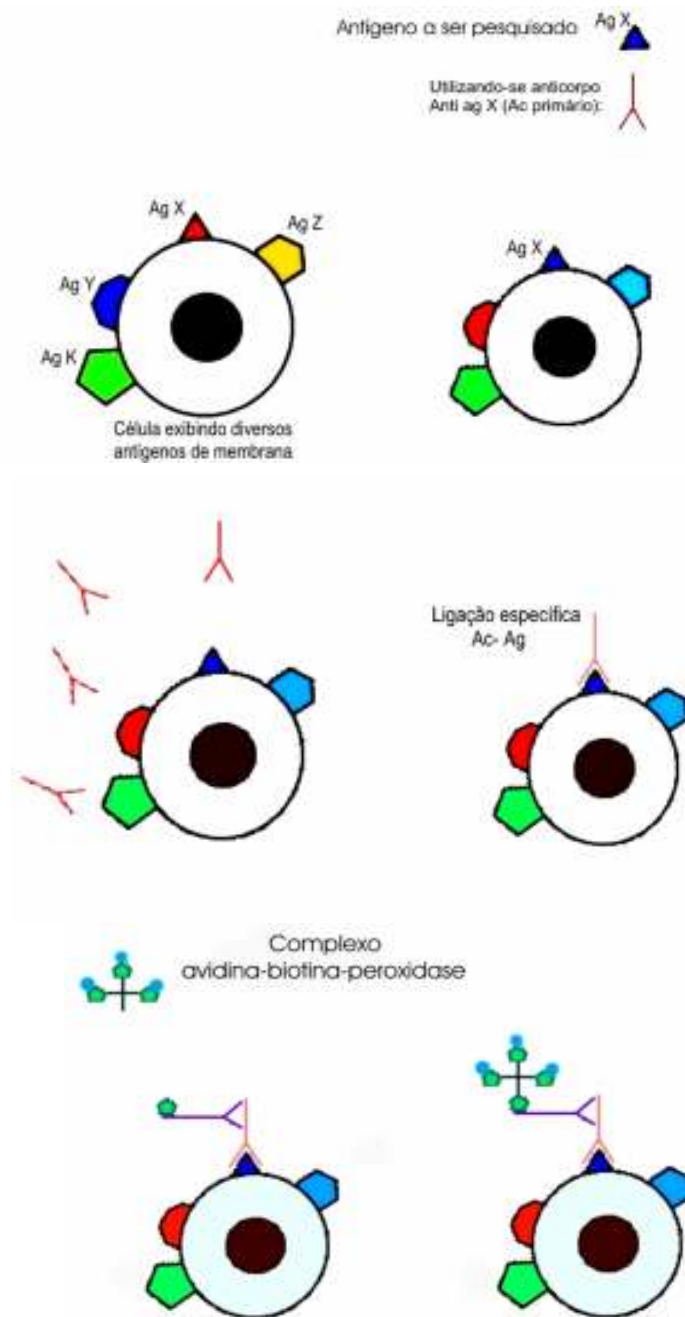


Figura 1 - Representação esquemática das etapas do método imunoenzimático ABC- **Complexo avidina-biotina-enzima** (Hsu *et al.*, 1981). O complexo é formado pela ligação de uma molécula de (strept) avidina com várias de biotina associadas a uma enzima (peroxidase), que tem como função a conversão de um **cromógeno** incolor em um produto final que pode conferir cor aos antígenos teciduais marcados.

2.4 Os Peptídeos Reguladores e Aminas Biogênicas Investigadas

2.4.1 Serotonina

A 5-hidroxitriptamina ou serotonina (5-HT) (Fig. 8) é um neurotransmissor sintetizado por neurônios serotoninérgicos do sistema nervoso central (SNC) e pelas células enterocromafins (EC) do tubo gastrointestinal. As células EC constituem uma ampla população de células no tubo gastrointestinal e produzem mais de 90% da serotonina sintetizada no corpo (Ahlman & Nilsson, 2001). Este tipo celular se caracteriza pela grande quantidade de 5-HT que armazena, o que lhe confere a capacidade de reduzir saís de prata – ARGENTAFINIDADE, e saís de cromo – CROMAFINIDADE.

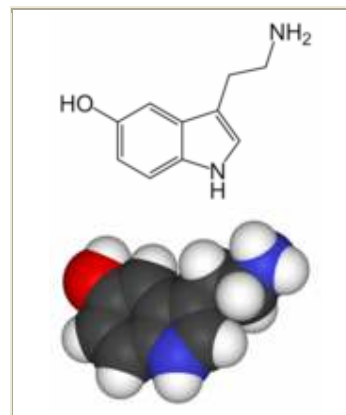


Fig.8: Representação esquemática da molécula de 5-HT.
(<http://en.wikipedia.org/wiki/Serotonin>)

Estrutura

Ultraestruturalmente, as células EC são subdivididas em três tipos principais com base no tipo, forma e elétrons-densidade de seus grânulos: EC1, EC2 e ECn (Dayal *et al.*, 1987; Bordi *et al.*, 2000). Todas as células EC contêm serotonina que é sintetizada no retículo endoplasmático e subsequentemente empacotada dentro dos grânulos secretores que passam pelo aparelho de Golgi (Ahlman & Nilsson, 2001).

Controle e funções da Serotonina

A Serotonina tem uma ação moduladora geral da conduta afetiva associada a ações sobre a cognição e comportamentos homeostáticos. Assim sendo, a 5-HT influi sobre quase todas as funções cerebrais, inibindo-a ou estimulando múltiplos sistemas de neurotransmissão.

É desta forma que a serotonina regula o humor, o sono, a atividade sexual, o apetite, o ritmo circadiano, as funções neuroendócrinas e autonômicas, a temperatura corporal, a sensibilidade à dor, a atividade motora e as funções cognitivas. Resnick *et al.* (1962) foi o primeiro a demonstrar seu papel inibitório na produção de ácido clorídrico em humanos. A serotonina também age aumentando a motilidade intestinal (Junqueira & Carneiro, 1999).

2.4.2 Gastrina

A gastrina é o maior regulador fisiológico da secreção de ácido gástrico e também possui importante papel na promoção do crescimento da mucosa gástrica. A gastrina é sintetizada pelas células G que estão localizadas nas fossetas gástricas, primariamente da região do antro do estômago e duodeno. Entretanto, também foi descrita no soro e no lúmen gástrico (Sankey *et al.*, 1990; Odum *et al.*, 1994; Rantala *et al.*, 1996).

Estrutura

A gastrina e a CCK são peptídeos altamente similares. A gastrina é um peptídeo linear sintetizado a partir de um pré-hormônio, que sofre uma clivagem proteolítica fazendo parte da família dos peptídeos que possuem uma carboxila terminal idêntica. A forma circulante predominante é a gastrina-34 (“grande gastrina”), mas a completa atividade biológica está presente em um peptídeo menor - a gastrina-14 ou minigastrina (Fig. 09). O receptor para gastrina conhecido como CCKb é um membro da família dos receptores acoplados a proteína G. A ligação da proteína G com a gastrina estimula o aumento de cálcio intracelular, ativando a proteína quinase C, produzindo o inositol tri-fosfato (Bundgaard *et al.*, 2004).

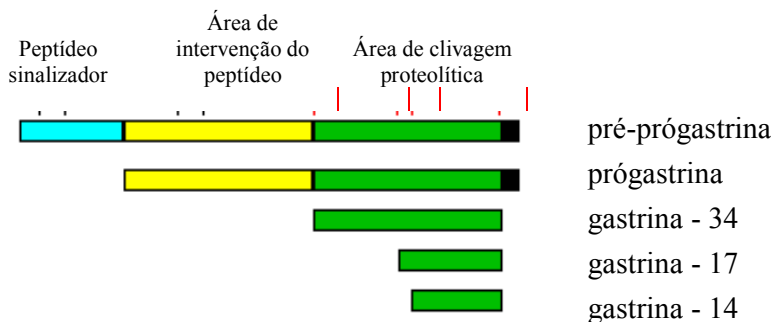


Fig. 9: Representação esquemática da formação da gastrina (<http://www.vivo.colostate.edu/hbooks/pathphys/endocrine/gi/gastrin.html>).

Controle e efeitos fisiológicos da gastrina

A gastrina é um hormônio cuja principal função é estimular a secreção de ácido clorídrico e de pepsinogênio pela mucosa gástrica. A gastrina também estimula a contração do músculo liso, aumenta a circulação sanguínea e secreção de água pelo estômago e intestino. A gastrina também foi demonstrada regulando o crescimento e diferenciação das células da mucosa gástrica (Johnson *et al.*, 1975). O estímulo primário para a secreção de gastrina é a presença de certos alimentos, principalmente peptídeos, certos aminoácidos e cálcio no lúmen gástrico. A secreção deste hormônio é inibida quando o pH do lúmen está baixo ($\pm 3,0$).

2.4.3. Colecistoquinina – CCK

A CCK é um hormônio produzido pelas células endócrinas localizadas na mucosa da porção proximal do intestino delgado e é liberada após uma refeição. A CCK é também produzida por neurônios do sistema nervoso entérico (SNE), sendo um neurotransmissor largamente distribuído no cérebro (Moran & Schwartz, 1994).

Estrutura

Como mencionado previamente, a CCK e a gastrina são peptídeos altamente similares. Como a gastrina, a CCK é um peptídeo linear sintetizado a partir de um pré-hormônio. A completa atividade biológica da CCK está retida no CCK-8 (oito aminoácidos), mas peptídeos com 33, 38 e 59 aminoácidos também são produzidos. Dois receptores de ligação para CCK já foram identificados. O receptor para CCKa é encontrado abundantemente nas células acinares pancreáticas. O receptor para CCKb, que também funciona como receptor de gastrina, é a forma predominante do cérebro e do estômago.

Controle e efeitos fisiológicos da CCK

Sabe-se que a CCK age inibindo a ingestão de alimentos em mamíferos. Pode contribuir para a transmissão excitatória, estimulando também a secreção de pepsinogênio pelas células principais. A CCK altera a ingestão de alimentos, promovendo a constrição do esfíncter pilórico e, desta forma, retarda o esvaziamento gástrico (Small & Bloom, 2004). O esvaziamento é retardado pela presença de produtos da ingestão de gordura no duodeno e jejuno e pela presença de aminoácidos e peptídeos no duodeno. A CCK é o principal estímulo para a liberação das enzimas pancreáticas e da bile no intestino delgado (Berne & Levy, 2000).

2.4.4. Enteroglucagon (Glucagon)

O glucagon é um hormônio polipeptídico produzido nas células alfa das ilhotas pancreáticas e também em células espalhadas pelo TGI. A maior parte destas células estão classicamente localizadas no intestino distal, predominantemente do íleo ao cólon.

Estrutura

O glucagon é um peptídeo de cadeia simples com 29 resíduos de aminoácidos, peso molecular de 3485 daltons e foi descoberto em 1923 por Kimball and Murlin (Bromer *et al.*, 1956). Unger *et al.* (1978) analisando extratos do TGI de diversas espécies de mamíferos por técnicas de radioimunoensaio, observaram uma imunorreatividade semelhante à do glucagon pancreático neste material. Tais substâncias encontradas no TGI foram denominadas enteroglucagons, sendo detectadas por imunocitoquímica nas células do TGI, principalmente ao nível do íleo (Larsson *et al.*, 1975). O glucagon possui ao longo de sua cadeia peptídica uma sequência homóloga ao do glucagon pancreático.

Numerosas evidências possibilitam afirmar que os enteroglucagons e o glucagon pancreático são produzidos pela clivagem enzimática diferencial da molécula de um precursor comum a ambos, presente nas células endócrinas do TGI e do pâncreas (Bell *et al.*, 1983; Vaillant & Lund, 1986).

Controle e efeitos fisiológicos do glucagon

O papel regulador que o glucagon exerce sobre a secreção de insulina encontra-se há muito estabelecido (Orci *et al.*, 1981). O aumento da secreção de glucagon é regulado por diversos fatores como: a diminuição da glicose no plasma, o aumento das catecolaminas-norepinefrina e epinefrina, o aumento dos aminoácidos no plasma, influência do sistema nervoso simpático (SNS), da acetilcolina e da CCK, enquanto sua diminuição é regulada pela somatostatina e pela insulina (Salmols *et al.*, 1986).

Uma das ações do glucagon mais conhecida é a de provocar a hiperglicemia através da glicogenólise hepática tendo outras ações biológicas, tais como a lipólise e a cetogênese (Foa *et al.*, 1957). Quando administrado por via exógena, o glucagon inibe a motilidade intestinal e a absorção de água e de eletrólitos pelo intestino (Whalen, 1974).

2.5 Sistemática dos quirópteros utilizados

Filo: Chordata

Subfilo: Vertebrata

Classe: Mammalia

Ordem: Chiroptera

Família: Phyllostomidae

Subfamília: Stenodermatinae (Neotropical Fruit Bat)

Espécie: *Artibeus cinerius* (Gervais, 1856)

Sturnira lilium (Torre, 1959)

Subfamília: Glossophaginae

Espécie: *Anoura geoffroyi* (Geoffroy, 1818)

Glossophaga soricina (Pallas, 1766)

Subfamília: Phyllostominae

Espécie: *Lonchorhina aurita* (Thomes, 1901)

Subfamília: Desmodontinae

Espécie: *Desmodus rotundus* (Geoffroy, 1810)

Família: Mormoopidae

Espécie: *Molossus molossus* (Wagner, 1843)

3.0 MATERIAL E MÉTODOS

No presente trabalho foram utilizados 24 exemplares de quirópteros das seguintes espécies e hábitos alimentares:

► *Lonchorhina aurita*- É encontrado do norte da América do sul ao Panamá. Podem ser encontrados em cavernas e túneis; são **insetívoros** (Walker, 1964).

► *Molossus molossus*- Sua distribuição geográfica inclui toda a América desde os Estados Unidos, México, América Central até o sudeste da América do Sul. Vivem em cavernas, túneis, árvores ocas e em folhagens; são **insetívoros** (Pine, 1969).

► *Artibeus cinerius* - Espécie comumente encontrada em áreas do sul e sudeste do Brasil. É um morcego **frugívoro** de grande porte. Sua dieta inclui figo, manga, abacate, banana, mas outros recursos alimentares como insetos, folhas e néctar também são consumidos (Zortéa & Mendes, 1993; Sazima *et al.*, 1994; Faria, 1995; Fischer & Fischer, 1995). Esta espécie é considerada um especialista em frutos de Cecropiaceae e Moraceae (Fleming, 1986; Passos *et al.*, 2003).

► *Sturnira lilium*- São encontrados desde o norte do México ao Paraguai. Sua dieta consiste basicamente em frutas, sendo, portanto uma espécie **frugívora** (Walker, 1964).

► *Anoura geoffroyi*- Sua distribuição vai do México ao sudeste do Brasil. É comumente encontrado em florestas tropicais. Habita cavernas e túneis. Frequentemente visita flores de árvores, arbustos e ocasionalmente come frutas. Costuma visitar mais de uma espécie de flor durante a procura por alimento. Muito eficiente na digestão de pólen e néctar; sendo portanto, **nectarívoro** (Walker, 1964).

► *Glossophaga soricina*- Sua língua está coberta por papilas que se assemelham a pêlos e seus dentes são finos e alongados. Sabe-se que possuem uma dieta principalmente a base néctar e pólen, sendo considerados **nectarívoros**, apesar de poderem utilizar frutos macios (Arata *et al.*, 1967).

► *Desmodus rotundus*- Animais obrigatoriamente **hematófagos**, chegando cada um a ingerir mais de 15 ml de sangue por dia (Wimsatt *et al.*, 1962). A dieta de sangue deste morcego representa uma relação extraordinariamente alta de proteína com relação a outros nutrientes e o consumo de água por peso corpóreo é maior do que de qualquer outro mamífero (Harlow & Braun, 1997).

- Captura dos morcegos e coleta do material.

Os animais foram coletados durante a noite, com auxílio de “redes japonesas” ou puçá e tarrafas em diversos pontos, na reserva do Tinguá em Nova Iguaçu, RJ pela aluna do curso de pós- graduação (Doutorado) em Biologia Animal, Daniela Dias, e caverna casa de Pedra (SE-01) Fazenda Santo Antonio, Itabaiana, Sergipe, pelo aluno do curso de pós-graduação (mestrado) Jefferson Mikalauskas. O número de exemplares cedidos de cada espécie e o local de coleta está especificado na tabela I.

Tabela 1 - Quirópteros utilizados, com respectivos hábitos alimentares e locais de coleta.

Espécies	Hábito alimentar	Número de exemplares			Local de coleta
		Machos	Fêmeas	Total	
<i>Lonchorhina aurita</i>	Insetívoro	3	2	5	Caverna casa de Pedra (SE-01)
<i>Molossus molossus</i>	Insetívoro	3	2	5	Reserva do Tinguá
<i>Artibeus cinerius</i>	Frugívoro	1	1	2	Reserva do Tinguá
<i>Sturnira lilium</i>	Frugívoro	1	2	3	Reserva do Tinguá
<i>Glossophaga soricina</i>	Nectarívoro	2	1	3	Reserva do Tinguá
<i>Anoura geoffroyi</i>	Nectarívoro	2	1	3	Reserva do Tinguá
<i>Desmodus rotundus</i>	Hematófago	1	2	3	Caverna casa de Pedra (SE-01)

- Preparação dos cortes histológicos.

Após a captura, os exemplares foram gentilmente cedidos, transportados para o laboratório de mastozoologia da UFRRJ e para o laboratório de zoologia da UFSE, onde foram sacrificados por eterização. Fragmentos do estômago região das regiões fúndica e pilórica, do duodeno (Intestino I), do jejuno/íleo (Intestino II) e do intestino grosso (Intestino III) (Fig. 10) foram removidos e imediatamente fixados em líquido de Bouin (Di Fiori, 1975) por 6 horas. Todos os animais após a fixação do TGI foram enviados ao laboratório de Histologia e Embriologia da UFRRJ para o processamento pela técnica histológica de rotina que inclui: desidratação (em uma série crescente de etanol - 70° GL a 100° GL), diafanização em xilol, impregnação e inclusão em parafina. Cortes de 5 µm de espessura foram colocados em lâminas previamente tratadas com poly-L-lysine (Tabela 2), afim de promover a maior adesão do corte a lâmina. Seções representativas de cada tecido foram coradas com Hematoxilina-Eosina (HE), tricrômico de Gomori e Ácido periódico + reativo de Schiff (PAS) para o exame da arquitetura normal do TGI pela microscopia de luz.

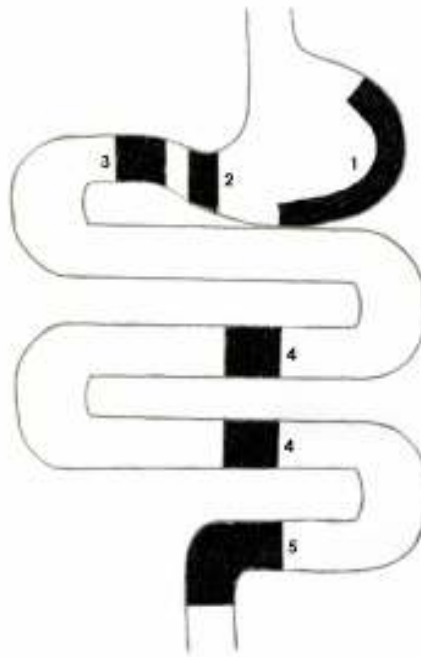


Fig. 10. Representação esquemática do tubo gastrintestinal de quirópteros com representação das regiões utilizadas: 1. Estômago, região fúndica, 2. Estômago, região pilórica, 3. Intestino I - duodeno, 4. Intestino II, jejuno/íleo, 5. Intestino III - Intestino grosso e reto.

Antiseros e reagentes

Os detalhes dos quatro tipos de anti-soros e reagentes utilizados neste trabalho estão listados na tabela 2. As células endócrinas imunoreativas para o anti-soro monoclonal glucagon (G2654) se referem às células imunoreativas ao enteroglucagon, pois o anti-soro mostra reação cruzada para o glucagon pancreático e o enteroglucagon.

Tabela 2 - Detalhes dos Anticorpos e principais reagentes utilizados.

ANTICORPO	CÓDIGO	DILUIÇÃO	ORIGEM
Anti-Serotonina, 5-HT	S 5545	1: 8.000	Sigma- Aldrich,inc.
Anti-Gastrina	G 0785	1: 1.000	Sigma- Aldrich,inc
Monoclonal Anti-Glucagon	G 2654	1: 2.000	Sigma- Aldrich,inc
Anti- Colecistoquinina CCK-8	C 2581	1: 8.000	Sigma- Aldrich,inc
ABC Kit	PK 6200	-	VECTOR
DAB	H-2200	5/ 110mL	VECTOR
Poly-L-Lysina	P-8920	10/ 90mL	Sigma- Aldrich,inc

Todos os anticorpos foram produzidos em coelho, exceto anti-glucagon que foi produzido em fluido ascítico de cobaio.

Etapas do procedimento Imuno-histoquímico

Para o estudo imuno-histoquímico foram seguidas as seguintes etapas de procedimentos do método ABC:

- 1-Desparafinização e hidratação até o TPS 0,01M pH-7,4 (Tampão Fosfato Sorensen);
- 2- Tripsinização dos cortes com tripsina 0,1% por 15 minutos;
- 3- Três lavagens em TPS, por 5 minutos cada;
- 4- Tratamento com peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a 0,3% em metanol para bloqueio da peroxidase endógena, durante 15 minutos;
- 5- Três lavagens em tampão TPS por 5 minutos cada;
- 6- Incubação com soro normal de cabra durante 30 minutos, com a finalidade de neutralizar antígenos inespecíficos presentes no tecido;
- 7- Incubação com Anti-soro primário (1^a camada) contendo anticorpos específicos anti o peptídeo regulador que se deseja investigar (Tabela 2) em câmara úmida, a 4 °C durante uma noite (overnight) ou durante duas horas, resultando na formação do complexo antígeno-anticorpo;
- 8- Três lavagens em tampão TPS por 10 minutos cada;
- 9- Incubação com anticorpo secundário biotilado em câmara úmida por 30 minutos a temperatura ambiente;
- 10- Três lavagens em tampão TPS por 10 minutos cada;
- 11- Adição do complexo Avidina-Biotina-Peroxidase em câmara úmida durante 30 minutos a temperatura ambiente;
- 12- Duas lavagens em tampão TPS por 5 minutos cada;
- 13- Incubar o material com uma solução de diaminobenzidina tetrahydroclorídrico (DAB) que atua como cromógeno promovendo a revelação da imunoreação (Anticorpo primário + Anticorpo secundário biotilado + complexo ABC-peroxidase), que será visualizada pela cor marrom;
- 14- Lavagem em tampão TPS por 10 minutos e em seguida com água destilada;
- 15- Desidratação, clarificação e montagem.

Observações e Fotomicrografias

Todas as lâminas foram observadas e fotomicrografias foram feitas com microscópio Olympus Dx, objetiva 20X e câmera digital Nikon Colpix 4300 nas dimensões: 2272 X 1704.

Contagem de células e análise estatística

As fotomicrografias foram analisadas e a frequência relativa das células endócrinas imunoreativas (IR) aferidas, através de um analisador de imagem computadorizado (Image-Pro Plus software) com o cálculo da média + SD (desvio padrão) por unidade de área ($0,25 \text{ mm}^2$) da mucosa. Cinco grupos baseados na média de células IR foram criados, sendo considerado (-), Não detectado; (f), células IR não detectadas em todas os animais observados; (+), de 0 a 5 células/ $0,25 \text{ mm}^2$; (++), de 5 a 25 células; (+++), de 25 a 70 células IR; (++++), mais de 70 células IR/ $0,25 \text{ mm}^2$.

4.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

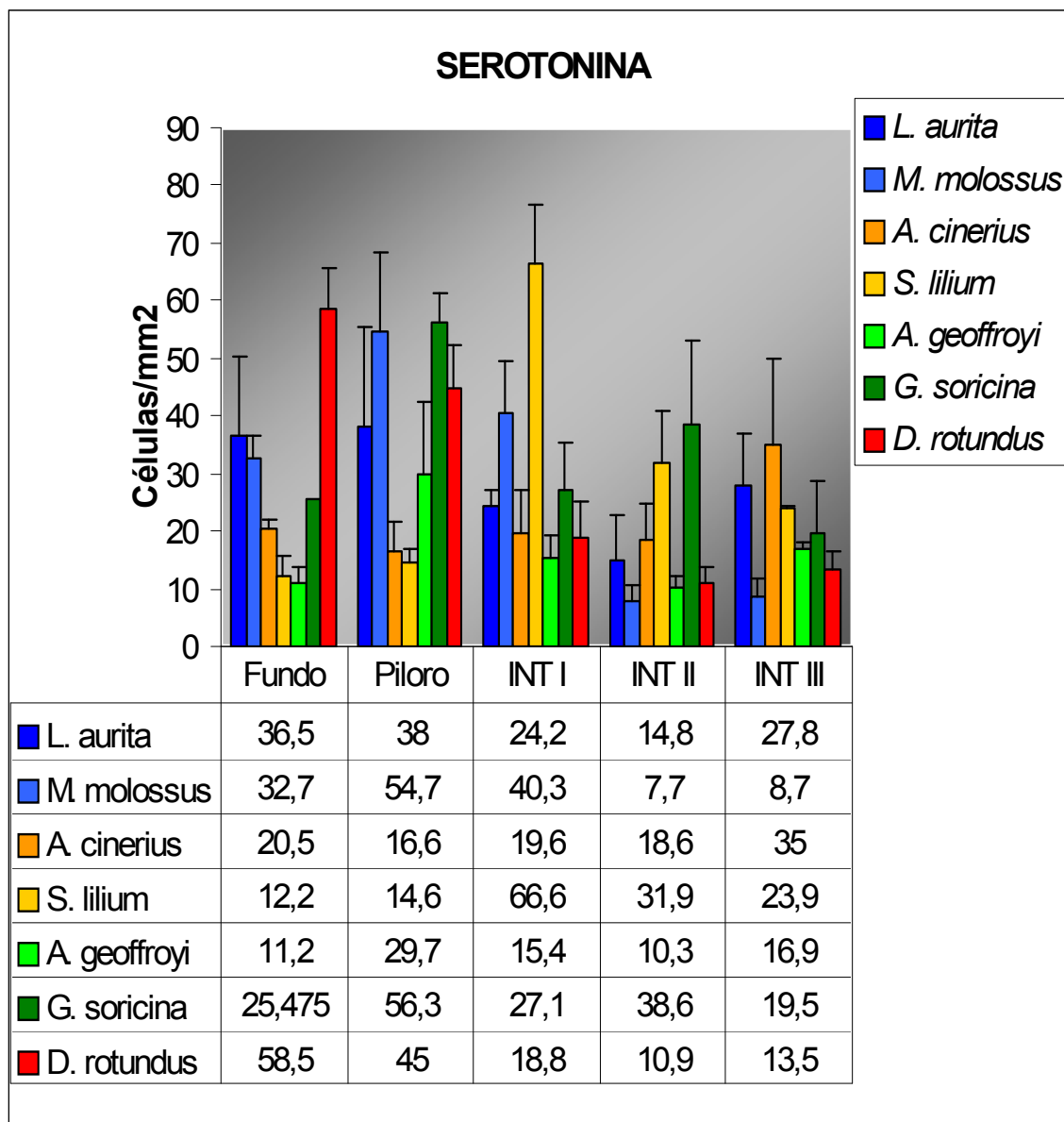
Quatro tipos de células imunoreativas para 5-HT, gastrina, colecistoquinina e enteroglucagon foram identificadas na mucosa gástrica e intestinal das espécies estudadas, sendo três células imunoreativas a 5-HT, GAS, GLUC identificadas no estômago e três células imunoreativas a 5-HT, CCK, GLUC identificadas no intestino. A distribuição regional e frequência relativa das células endócrinas estão listadas nas tabelas 3 e 4.

Células imunoreativas a Serotonina

Estas células foram encontradas ao longo de todo o TGI, sendo o tipo celular predominante (Gráfico. 1). Nas regiões fúndica e pilórica do estômago, as células IR à 5-HT apresentaram-se distribuídas do terço médio a base da glândula (Fig. 11, 12), com exceção do hematófago *D. Rotundus*, onde sua distribuição foi entre as células epiteliais de revestimento (Fig. 13). No estômago, sua forma variou de ovalada, triangular ou piriforme com a presença de um processo citoplasmático em sua porção apical (Fig. 14). As células IR à 5-HT também foram observadas entre os componentes do tecido conjuntivo da camada submucosa (Fig. 15). No intestino, estas células se localizaram entre as células epiteliais de revestimento e nas glândulas intestinais (Fig. 16). Estas células foram predominantemente piriformes ou ovaladas e frequentemente estabeleceram contato com o lúmen através de seu processos citoplasmáticos, tendo sido classificadas como do tipo aberto (Fig. 17). Em *M. molossus*, *S. lilium*, *D. rotundus*, estas células IR podem ser observadas em pequeno número nas glândulas duodenais (Fig. 18).

As células imunoreativas à serotonina foram identificadas ao longo de todo o tubo digestivo de diversas classes como: peixes (Ku *et al.*, 2004a), anfíbios (D'este *et al.*, 1994), répteis (Huang & Wu, 2005), aves (Yamanaka *et al.*, 1989) e mamíferos (Cardoso *et al.*, 1994, Agungpriyono *et al.*, 2000), sendo considerada a célula endócrina mais amplamente distribuída do TGI de vertebrados. Estudos prévios indicam que estas células surgiram cedo na evolução dos vertebrados (Solcia *et al.*, 1975, El-Salhy *et al.*, 1985). Em morcegos, as células IR a 5-HT também foram identificadas em insetívoros, *Pipistrelus abramus* e *Plecotus auritus sacrimontis* (Yamada *et al.*, 1988), frugi-nectarívoro *Carollia perspicillata* e nectarívoro *Anoura caudifer* (Ashihara *et al.*, 1999), obtendo-se marcação ao longo de todo o TGI, sendo rara, mas presente, na glândula duodenal de *P. abramus*, *Carollia perspicillata*. Assim como em outros estudos (Huang & Wu, 2005). Estas células IR apresentaram um processo citoplasmático voltado para o lúmen ou para as células adjacentes, indicando que estas células possam provavelmente lançar sua secreção também de forma parácrina.

Gráfico 1: Distribuição e frequência relativa das células secretoras de serotonina no tubo gastrintestinal de *L. aurita*, *M. molossus*, *A. cinerius*, *S. liliun*, *A. geoffroyi*, *G. soricina* e *D. rotundus*.



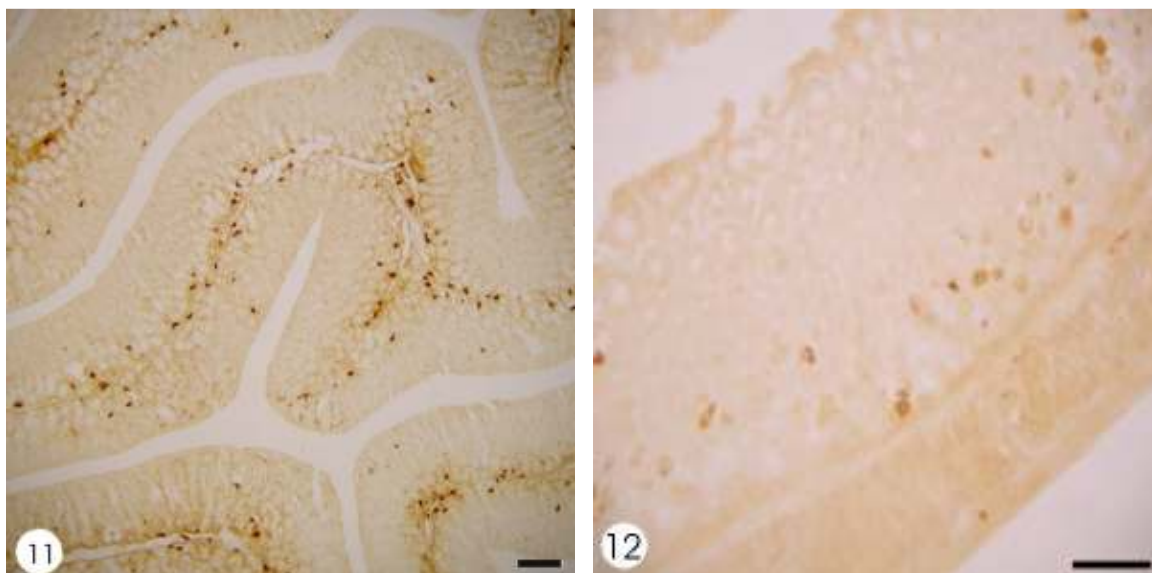


Fig. 11 e 12: Fotomicrografias do estômago região fúndica e pilórica, células IR à 5-HT de *A. cinerius* e *G. soricina*, respectivamente. Escala = 50 μ m

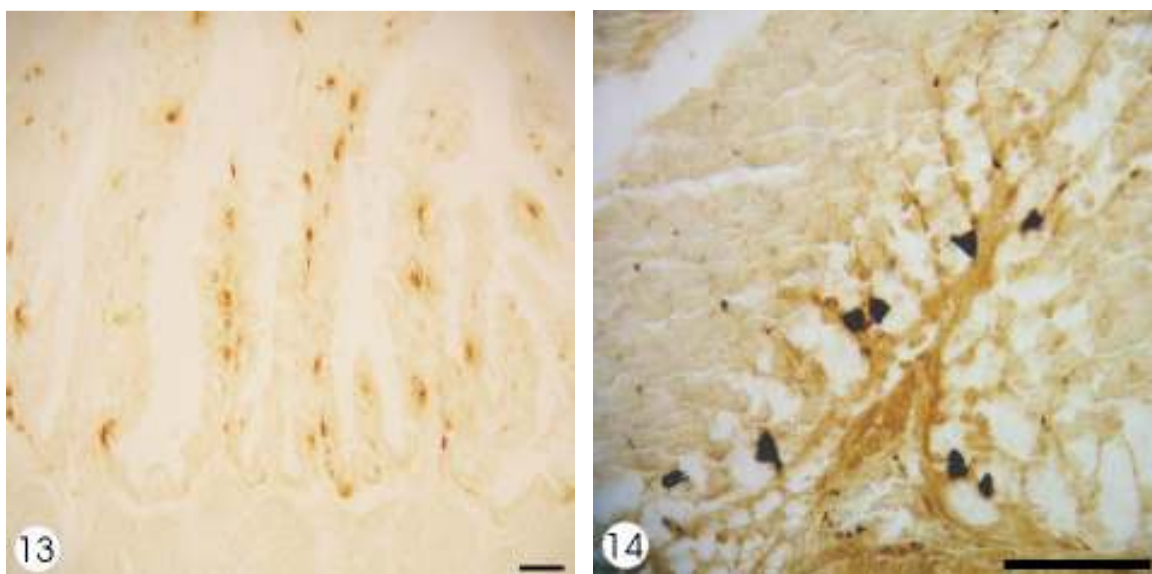


Fig. 13 e 14: Fotomicrografias de células IR à 5-HT do estômago região fúndica de *D. rotundus* e *A. cinerius*, respectivamente. Escala = 50 μ m.

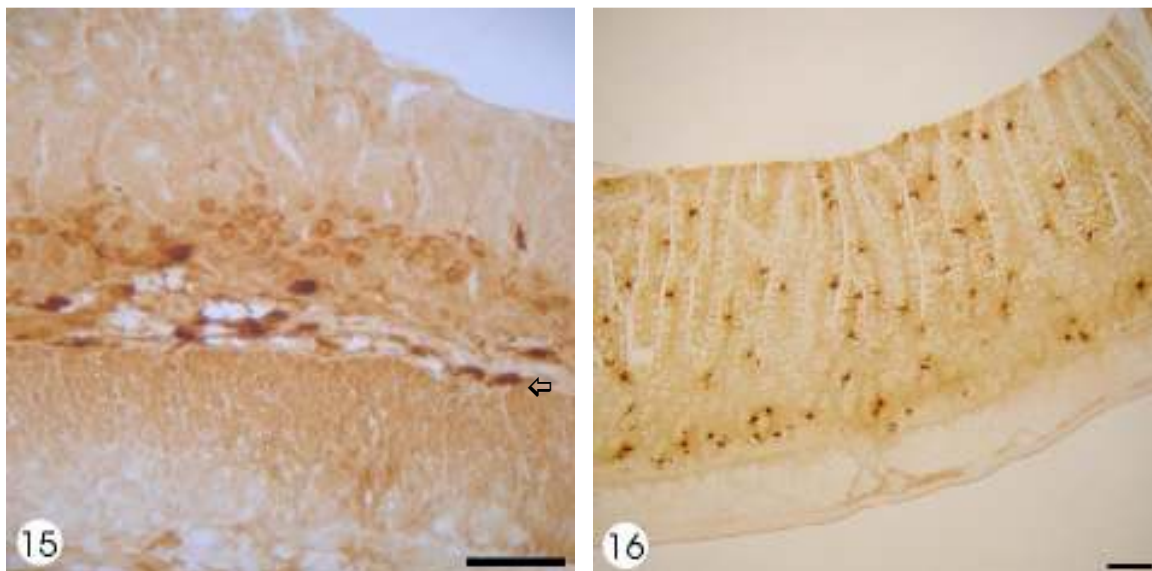


Fig. 15 e 16: Fotomicrografias de células IR à 5-HT. Fig. 15: Estômago região pilórica de *A. cinerius* com marcação no tecido conjuntivo (seta). Fig. 16: Intestino III de *L. aurita*, com marcação entre as células de revestimento e nas glândulas intestinais. Escala = 50 μ m.

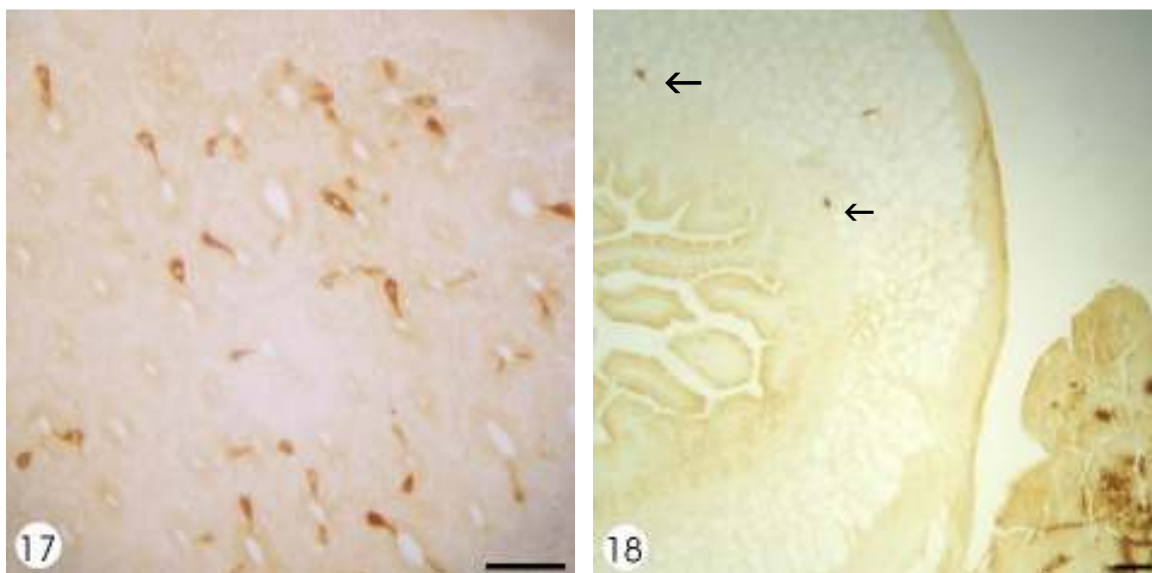


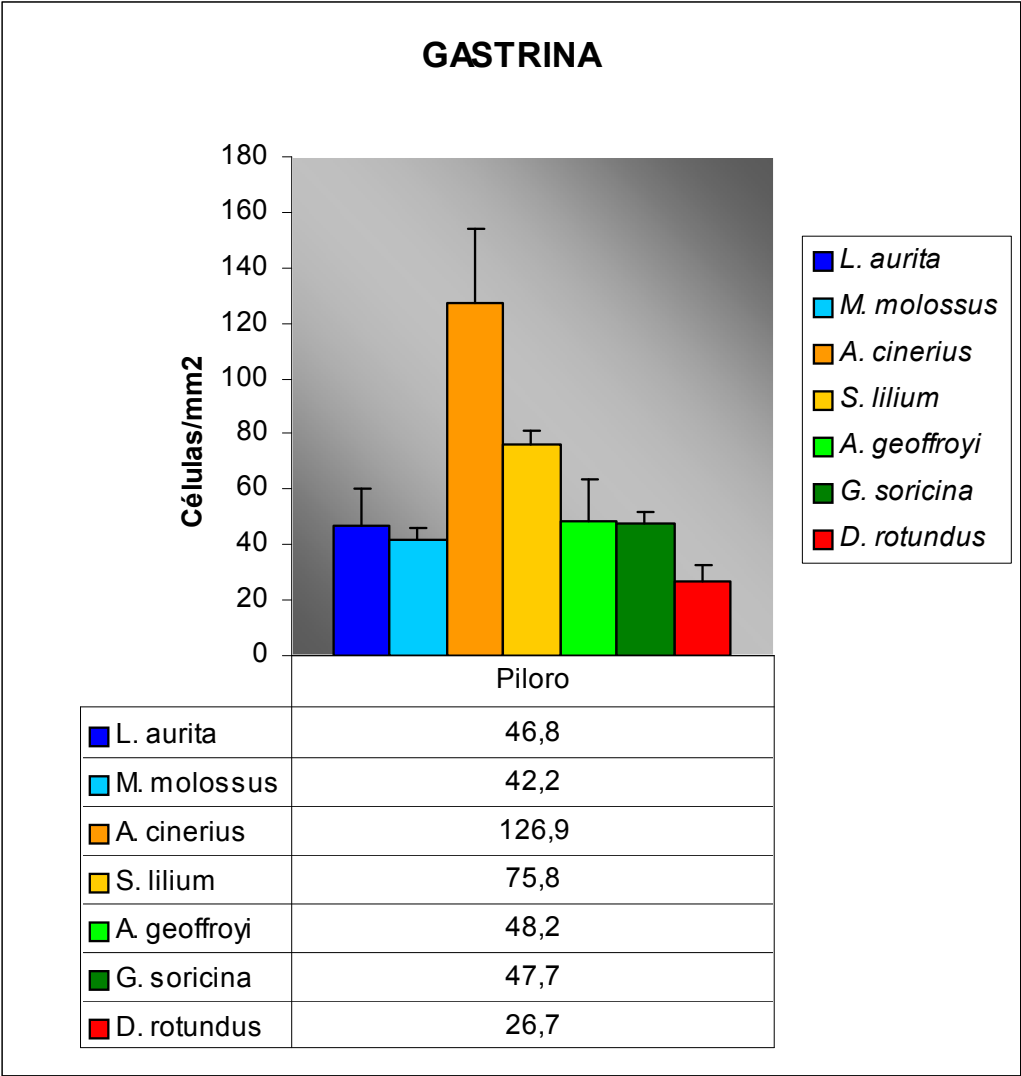
Fig. 17 e 18: Fotomicrografias de células IR à 5-HT. Fig. 17: Intestino I de *G. soricina*. Notar processo citoplasmático voltado para o lúmen das glândulas intestinais. Fig. 18: Intestino I de *M. molossus*, com marcação na glândula duodenal (setas). Escala = 50 μ m.

Células imunoreativas a gastrina

As células IR à gastrina foram abundantes e fortemente marcadas na região pilórica de todas as espécies estudadas. Sua frequência relativa foi maior nos morcegos frugívoros, seguidos pelos nectarívoros, insetívoros e hematófago (Gráfico. 2). Em *S. lilium* sua distribuição foi irregular, formando grupos localizados na região apical da glândula pilórica (Fig. 19, 20), o que não ocorreu com nenhuma outra espécie, onde a distribuição foi contínua ao longo do terço médio à base da glândula pilórica (Fig. 21, 22). Estas células IR à gastrina se apresentaram ovaladas ou em formato de carretel (Fig. 23). Na maioria das células foi observada a presença de um processo citoplasmático que se projetava para o lúmen. Em todas as espécies, a sua distribuição restringiu-se à região glandular gástrica, não tendo sido observada entre os componentes epiteliais, com exceção do hematófago *D. rotundus* onde sua localização foi entre as células epiteliais de revestimento (Fig. 24). Ao longo do intestino ocorreu apenas uma fraca marcação na região gastroduodenal das espécies insetívoras *L. aurita* e *M. molossus* e no frugívoro *S. lilium*.

As células IR a gastrina foram detectadas no esôfago de teleósteo (Pan *et al.*, 2000), no duodeno/ jejuno de répteis (Ku *et al.*, 2001), nos mamíferos (Kitamura *et al.*, 1984, Ku *et al.*, 2004 c, d) e no intestino grosso do suíno *Babryrousa babyrussa* (Agungpriyono *et al.*, 2000). Entretanto, sua maior frequência na maioria das espécies estudadas foi na região pilórica. Em quirópteros essas células IR foram muito numerosas na região pilórica de *C. perspicillata*, *A. caudifer* (Ashihara *et al.*, 2000) e *Noctilio leporinus* (Komori *et al.*, 2000). Em *A. caudifer*, as células IR a gastrina também foram encontradas em pequeno número na região fúndica (Ashihara *et al.*, 2000), sendo também relatadas ao longo de todo o intestino de *C. perspicillata*, *A. caudifer* e nas porções iniciais do intestino de *N. leporinus* (Ashihara *et al.*, 2000; Komori *et al.*, 2000). A grande frequência das células IR a gastrina nos morcegos frugívoros parece estar relacionada ao seu hábito alimentar. Estudos prévios, demonstraram maior atividade destas células, assim como das células parietais no estômago de morcegos frugívoros *Artibeus jamaicensis* e *Auriteus flavescens*. Neste mesmo estudo também demonstrou-se que comparações interespecíficas de hormônios intestinais podem revelar diferentes caminhos pelos quais os morcegos obtêm nutrientes e os subdividem como fontes de energia (Mennone *et al.*, 1986).

Gráfico 2: Distribuição e frequência relativa das células secretoras de gastrina no tubo gastrintestinal de *L. aurita*, *M. molossus*, *A. cinerius*, *S. liliu*m, *A. geoffroyi*, *G. soricina* e *D. rotundus*.



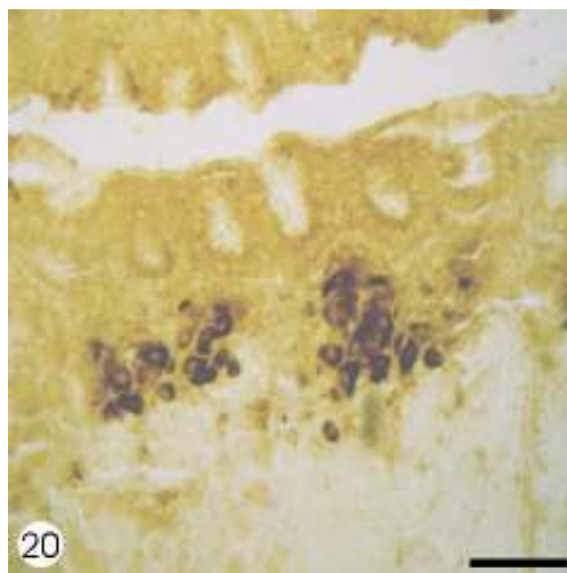
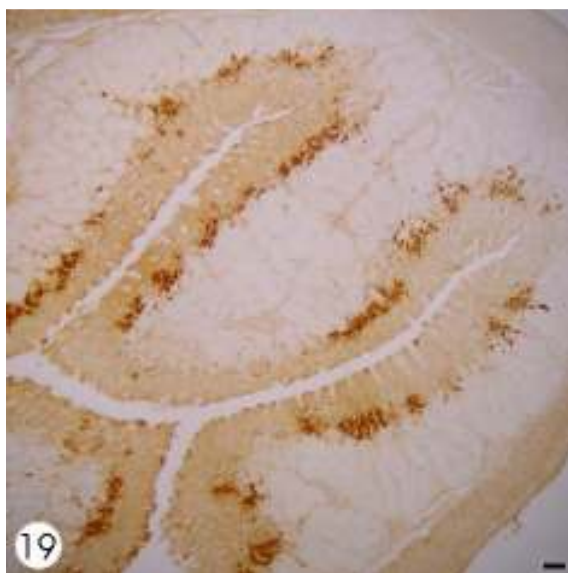


Fig. 19 e 20: Fotomicrografia de células IR à gastrina, estômago região pilórica de *S. lilium*, notar distribuição em grupos. Escala = 50 μ m

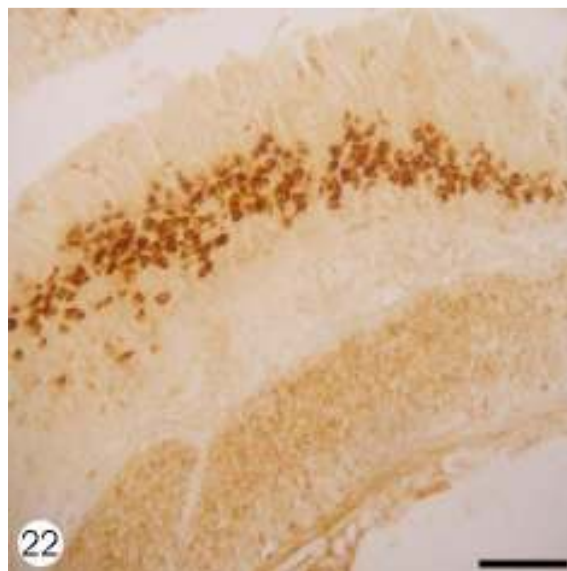
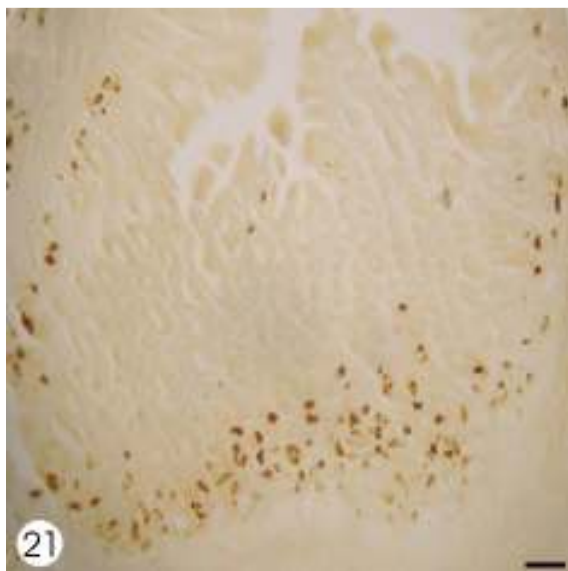


Fig. 21 e 22: Fotomicrografia de células IR à gastrina, estômago região pilórica. Fig. 21: *M. molossus*, com distribuição na porção basal da glândula pilórica. Fig. 22: *A. cinerius*, distribuição contínua na região medial e basal da glândula pilórica. Escala = 50 μ m.

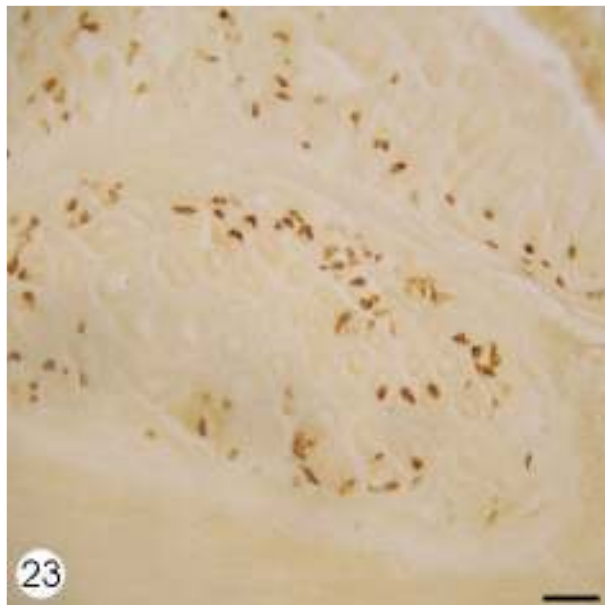


Fig. 23: Fotomicrografia de células IR à gastrina, estômago região pilórica *M. molossus*. Notar células com presença de processo citoplasmático. Escala = 50 μ m

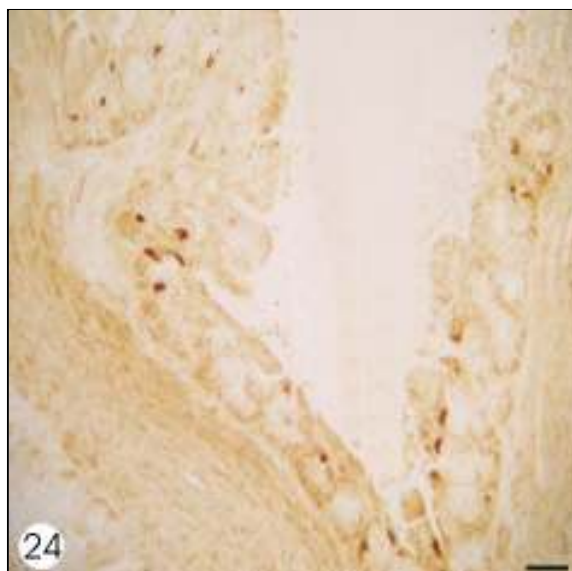


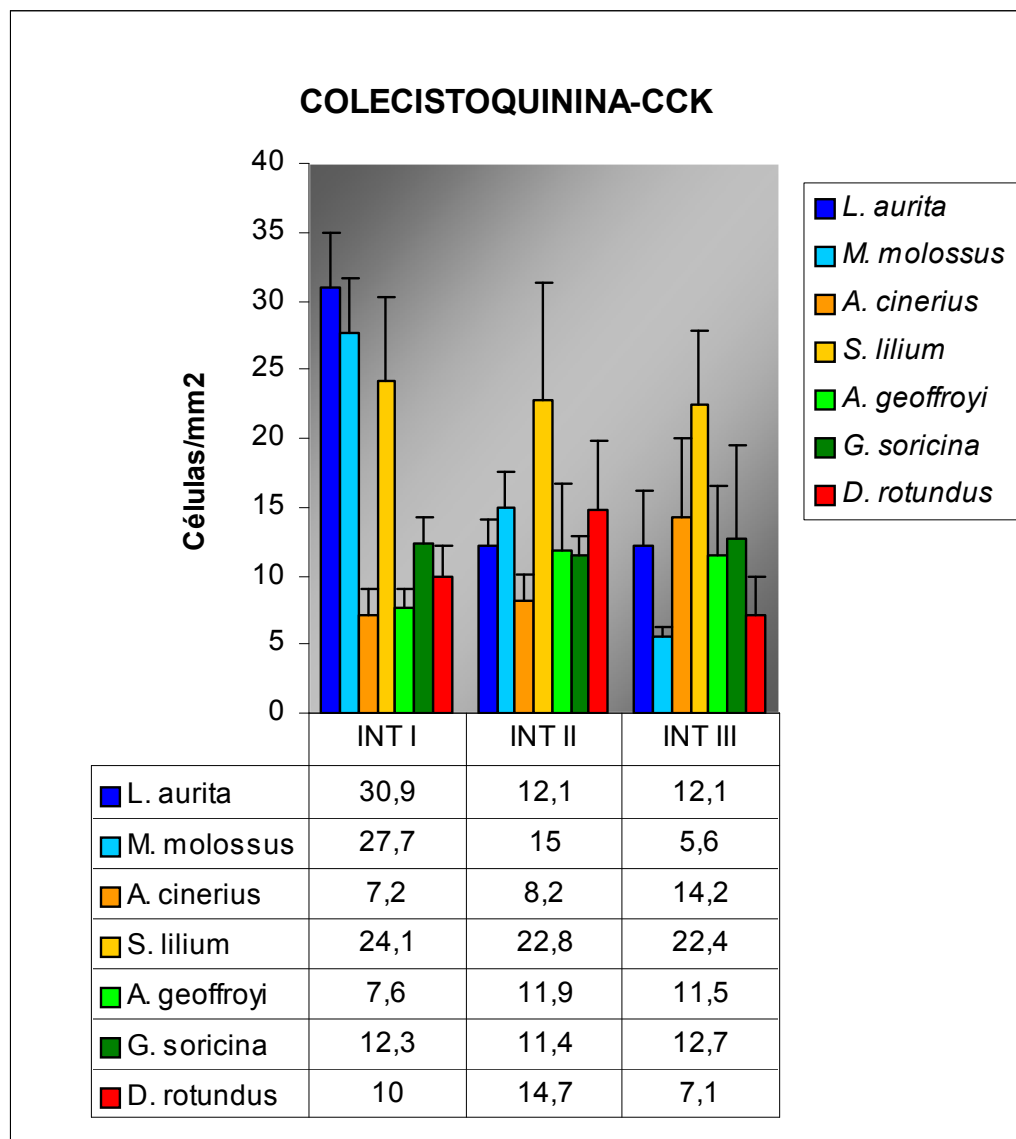
Fig. 24: Fotomicrografia de células IR à gastrina, estômago região pilórica de *D. rotundus*, com marcação entre as células do epitélio. Escala = 50 μ m

Células imunoreativas a CCK

As células IR à CCK foram observadas ao longo do intestino de todas as espécies estudadas, variando apenas a sua frequência relativa (Gráfico. 3). Sua distribuição pode ser observada tanto nas glândulas intestinais, como entre os componentes epiteliais (Fig. 25, 26, 27). Sua forma variou de ovalada ou piriforme, sendo do tipo aberto o mais frequente (Fig. 28, 29, 30). Estas células foram detectadas na glândula duodenal de *M. molossus*, porém em pequeno número.

Sua presença foi relatada em répteis (Lee & Ku, 2004), em peixes (Pan *et al.*, 2000), em aves (Rawdon & Andrew, 1981), e em mamíferos (Ku *et al.*, 2004 c; Ku *et al.*, 2004 d), tendo sido encontrada desde o estômago região do fundo até ao íleo. Nos morcegos insetívoros *P. abramus* e *P. auritus sacrimontis*, estas células IR a CCK foram relatadas na região proximal do intestino (Yamada *et al.*, 1988), assim como no hematófago *D. rotundus* (Yamada *et al.*, 1984). Em morcegos frugi-nectarívoros, nectarívoros (Ashihara *et al.*, 2000) e piscívoros (Komori *et al.*, 2000) estas células IR não foram detectadas em nenhuma das regiões intestinais. Esta ausência foi justificada pela diferença na dieta ou forma molecular desse hormônio, visto que as espécies em questão faziam parte de famílias diferentes. Porém, todos os morcegos utilizados neste estudo, com exceção do insetívoro *M. molossus* fazem parte da família dos Phyllostomidae, ou seja, mesma família do *Carollia perspicillata* e do *Anoura caudifer*. Assim, a ocorrência de diferenças moleculares tão significantes em animais de classificação taxonômica tão próxima e hábitos alimentares semelhantes são difíceis. Este estudo sugere que estas diferenças possam ser justificadas pela origem dos antígenos utilizados ou da metodologia aplicada.

Gráfico 3: Distribuição e frequência relativa das células secretoras de CCK no tubo gastrintestinal de *L. aurita*, *M. molossus*, *A. cinerius*, *S. liliun*, *A. geoffroyi*, *G. soricina* e *D. rotundus*.



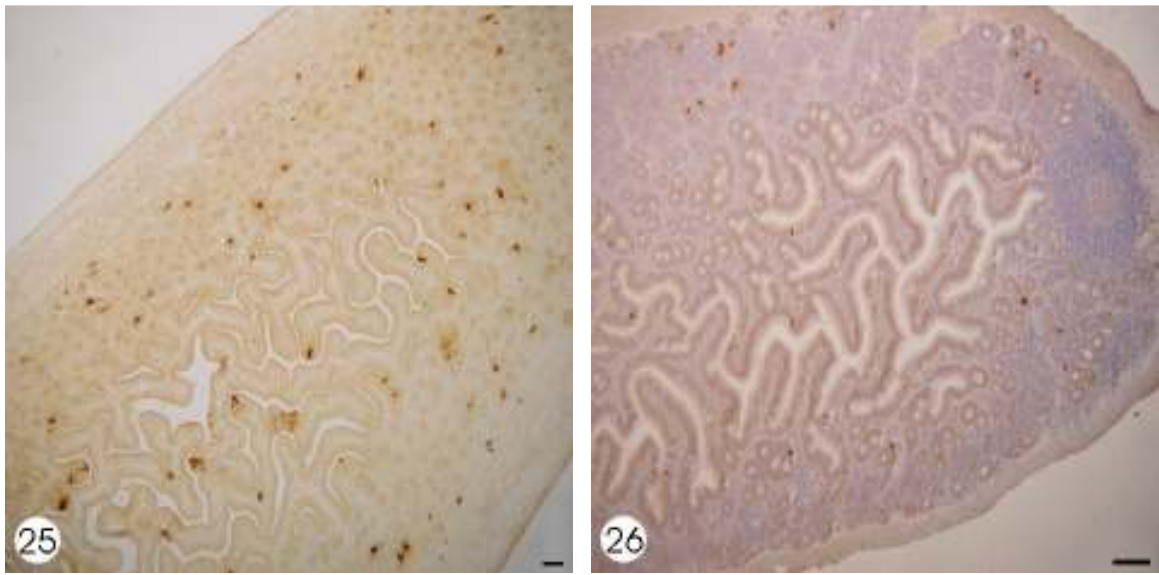
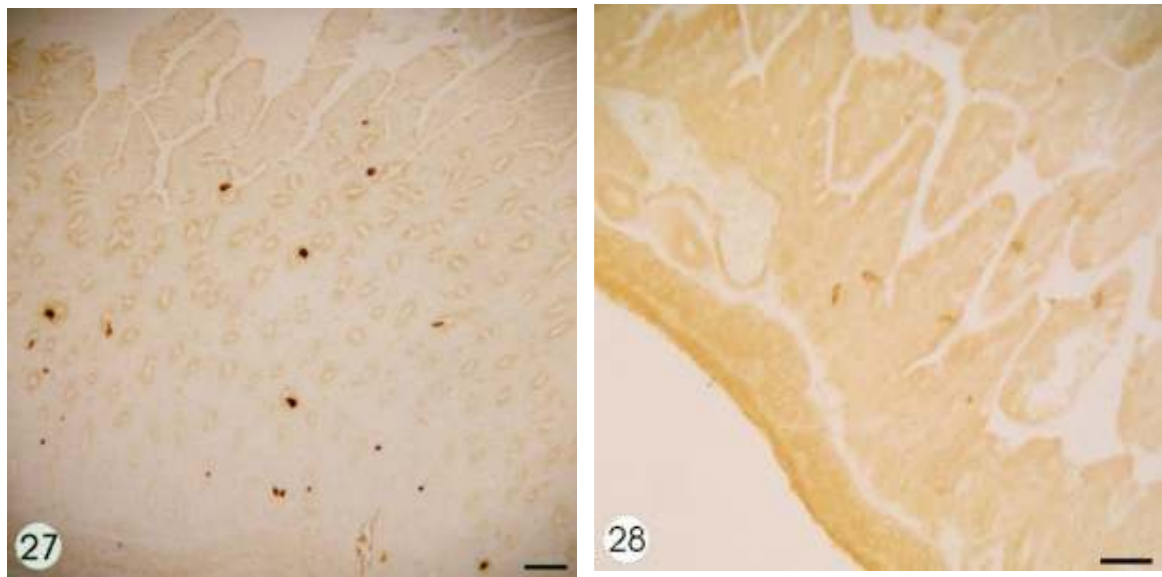


Fig. 25 e 26: Fotomicrografias de células IR à CCK. Fig. 25: Intestino I de *L. aurita*. Fig. 26: Intestino II de *S. lilium*. Escala = 50 μ m.



Figs. 27 e 28: Fotomicrografias de células IR à CCK. Fig. 27: Intestino II de *G. soricina*. Observar marcação entre os componentes epiteliais e glandulares. Fig. 28: Intestino II de *D. rotundus*. Notar presença de processo citoplasmático. Escala = 50 μ m.

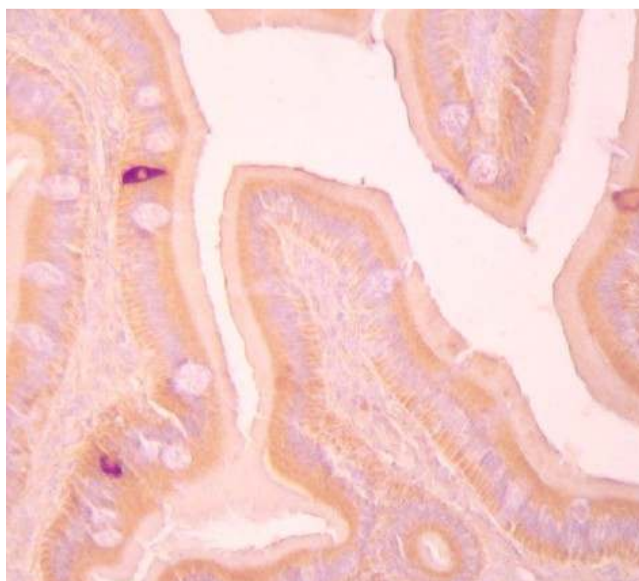


Fig. 29: Fotomicrografia de células IR à CCK, Intestino I de *S. lilium* com processo citoplasmático voltado para o lúmen. Escala = 50 μ m.

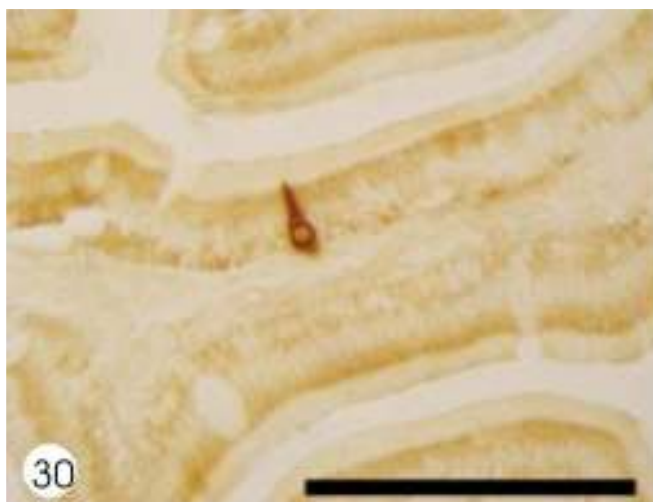


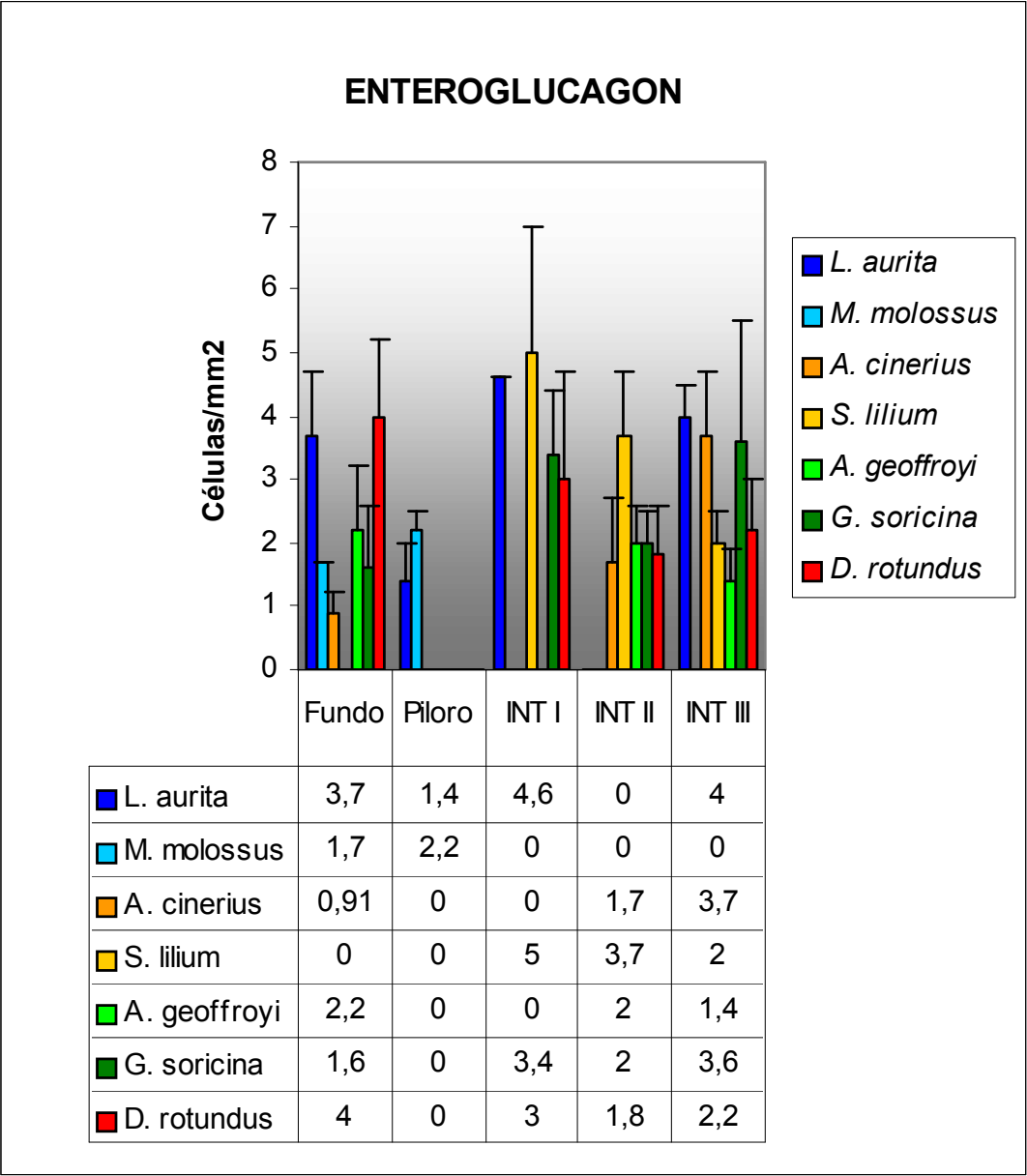
Fig. 30: Fotomicrografia de células IR à CCK, Intestino I de *A. geoffroyi*. Observar a presença de processo citoplasmático. Escala = 50 μ m.

Células imunoreativas ao glucagon (enteroglucagon)

As células IR ao enteroglucagon apresentaram menor frequência relativa quando comparadas aos outros hormônios estudados (Gráfico. 4). Estas células foram observadas na região fúndica de todas as espécies (Fig. 31, 32), com exceção do frugívoros *S. lilium*. Na região pilórica, sua frequência foi baixa e restrita aos insetívoros *L. aurita* e *M. molossus*. Estas células IR à CCK apresentam-se de forma irregular. No intestino, sua ocorrência foi rara e variou conforme a espécie e sua distribuição foi entre as células epiteliais de revestimento das vilosidades e nas glândulas intestinais (Fig. 33, 34). Algumas células IR foram observadas na glândula duodenal de *M. molossus*, assim como na abertura do colédoco (Fig. 35, 36).

O glucagon tem sido demonstrado em várias espécies de mamíferos. É considerado que a distribuição destas células é espécie-dependente (Huang & Wu, 2005). Em morcegos piscívoros, frugi-nectarívoros e nectarívoros, a sua presença foi restrita à porção fúndica do estômago e no intestino, o mesmo ocorrendo nos insetívoros *P. abramus* e *P. auritus sacrimontis* (Yamada *et al.*, 1988).

Gráfico 3: Distribuição e frequência relativa das células secretoras de enteroglucagon no tubo gastrintestinal de *L. aurita*, *M. molossus*, *A. cinerius*, *S. lilium*, *A. geoffroyi*, *G. soricina* e *D. rotundus*.



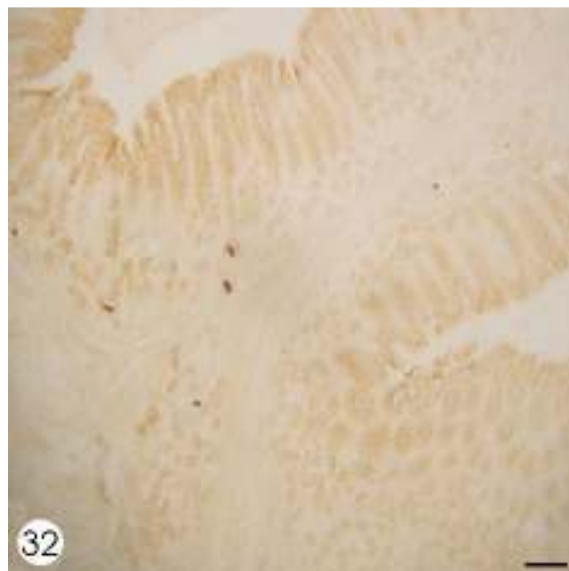
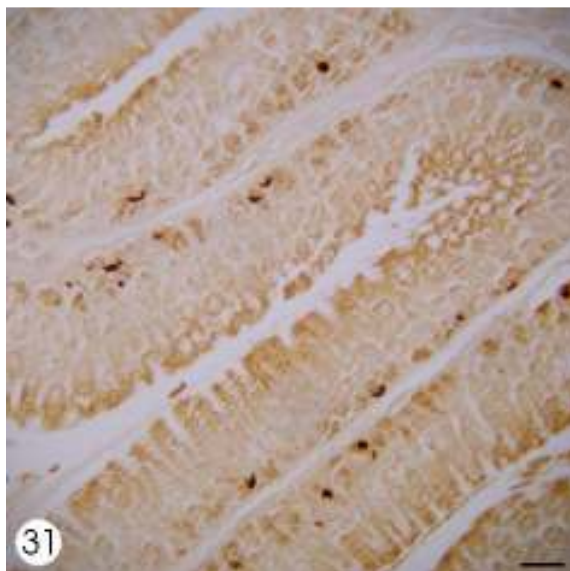


Fig. 31 e 32: Fotomicrografias de célula IR à enteroglucagon, estômago região fúndica. Fig. 31: *A. geoffroyi*, com marcação na base da glândula gástrica. Fig. 32: *L. aurita*. Escala = 50 μ m

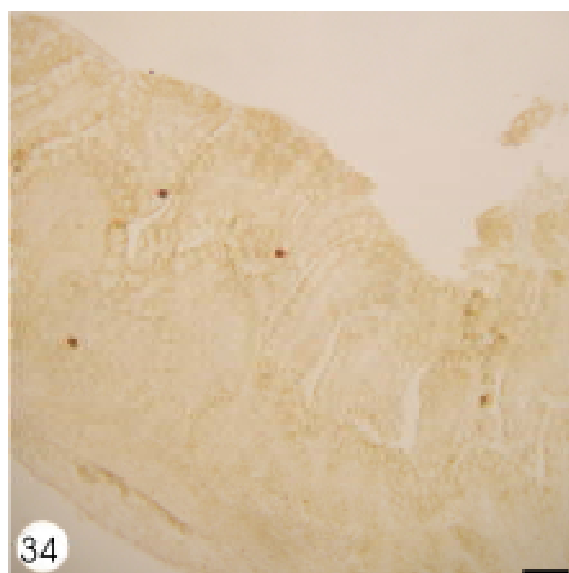
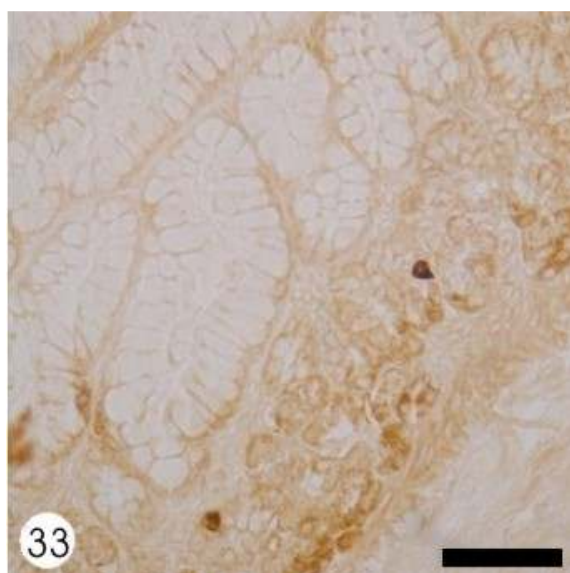


Fig. 33 e 34: Fotomicrografias de célula IR à enteroglucagon. Fig. 33: Estômago de *M. molossus*, região pilórica. Fig. 34: Intestino III de *L. aurita*. Escala = 50 μ m

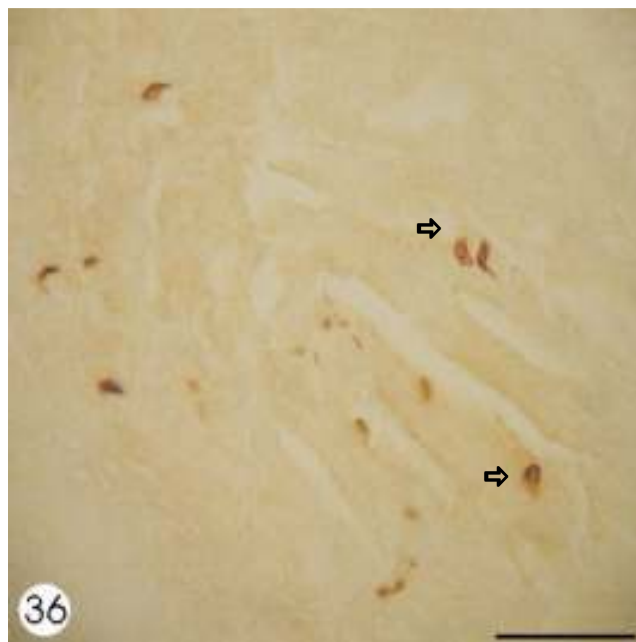
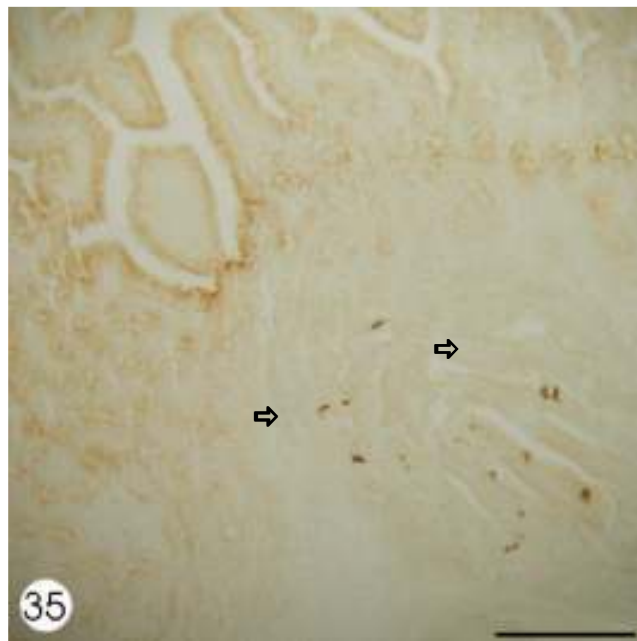


Fig. 35 e 36: Fotomicrografias de células IR à enteroglucagon, intestino I e colédoco de *M. molossus*. Notar marcação na abertura do canal do colédoco (setas). Escala = 50 μ m.

Tabela 3. Distribuição e frequência relativa das células endócrinas de *L. aurita*^{*} e *M. molossus* (A), *A. cinerius*^{*} e *S. lilium* (B), *A. geoffroyi*^{*} e *G. soricina* (C) e *D. rotundus* (D).

(A) Morcegos insetívoros. *L. aurita*^{*} e *M. molossus*.

Região	Serotonina	Gastrina	CCK	Enteroglucagon
Estômago	+++ [*] / +++	f / -	- / -	+ / +
Fundo				
Estômago	+++ / +++	+++ / +++	- / f	+ / +
Pilórica				
Intestino I	++ / +++	f / f	+++ / +++	+ / -
Intestino II	++ / ++	- / -	++ / ++	f / -
Intestino III	+++ / ++	- / -	++ / ++	+ / -

(B) Morcegos frugívoros. *A. cinerius*^{*} e *S. lilium*.

Região	Serotonina	Gastrina	CCK	Enteroglucagon
Estômago	++ [*] / ++	- / -	- / -	± / -
Fundo				
Estômago	++ / ++	++++ / ++++	- / -	- / f
Pilórica				
Intestino I	++ / +++	- / -	++ / ++	- / +
Intestino II	+++ / +++	- / -	++ / ++	+ / +
Intestino III	+++ / ++	- / -	++ / ++	+ / +

(C) Morcegos nectarívoros. *A. geoffroyi*^{*} e *G. soricina*.

Região	Serotonina	Gastrina	CCK	Enteroglucagon
Estômago	++ [*] / ++	f / -	- / -	+ / +
Fundo				
Estômago	+++ / +++	+++ / +++	- / -	- / -
Pilórica				
Intestino I	++ / +++	- / -	++ / ++	- / +
Intestino II	++ / +++	- / -	++ / ++	+ / +
Intestino III	++ / ++	- / -	++ / ++	+ / +

(D) Morcego hematófago. *D. rotundus*.

Região	Serotonina	Gastrina	CCK	Enteroglucagon
Estômago	+++	-	-	+
Fundo				
Estômago	+++	+++	-	-
Pilórica				
Intestino I	++	-	++	+
Intestino II	++	-	++	+
Intestino III	++	-	++	+

Tabela 4. Distribuição e frequência relativa numérica das células endócrinas de *L. aurita** e *M. molossus* (A), *A. cinerius** e *S. lilium* (B), *A. geoffroyi** e *G. soricina* (C) e *D. rotundus* (D).

(A) Morcegos insetívoros. *L. aurita** e *M. molossus*.

Região	Serotonina	Gastrina	CCK	Enteroglucagon
Estômago Fundo	36,5±13,9*/32,7± 3,7	f / 0	0 / 0	3,7±1 / 1,7± 0
Estômago Pilórica	38±17,6 / 54,7± 13,8	46,8±13,2 / 42,2±3,8	0 / f	1,4±0,6 / 2,2± 0,3
Intestino I	24,2±3,1 / 40,3± 9,3	f / f	30,9 ± 4 / 27,7± 3,9	4,6± 0,3 / 0
Intestino II	14,8±8,1 / 7,7± 2,9	0 / 0	12,1 ±2 / 15 ± 2,6	f / 0
Intestino III	27,8±9,3/ 8,7± 3,2	0 / 0	12,1 ±4 / 5,6± 0,7	4,0± 0,5/ 0

(B) Morcegos frugívoros. *A. cinerius** e *S. lilium*.

Região	Serotonina	Gastrina	CCK	Enteroglucagon
Estômago Fundo	20,5±1,7* / 12,2± 3,4	0 / 0	0 / 0	0,91± 0,3/ -
Estômago Pilórica	16,6± 5 / 14,6 ± 2,4	126,9±27 / 75,8± 5,7	0 / 0	0 / f
Intestino I	19,6±7,5 / 66,6 ± 9,9	0 / 0	7,2±1,8 / 24,1± 6,1	0 / 5,0±2
Intestino II	18,6±6,3 / 31,9 ± 9	0 / 0	8,2± 1,9 / 22,8± 8,5	1,7±1 / 3,7± 1
Intestino III	35±15 / 23,9 ± 0,6	0 / 0	14,2± 5,8 / 22,4± 5,5	3,7±1/ 2,0± 0,5

(C) Morcegos nectarívoros. *A. geoffroyi** e *G. soricina*.

Região	Serotonina	Gastrina	CCK	Enteroglucagon
Estômago Fundo	11,2 ±2,6* / 24,3±4,9	f / 0	0 / 0	2,2 ± 1,0 / 1,6 ± 1,0
Estômago Pilórica	29,7± 12,9/ 56,3±8,1	48,2± 15,7/ 47,7±4,3	0 / 0	0 / 0
Intestino I	15,4± 3,7/ 27,1±14,3	0 / 0	7,6 ± 1,5 / 12,3 ± 2,0	0 / 3,4 ± 1,0
Intestino II	10,3±2,0 / 28,6± 9,0	0 / 0	11,9±4,8 / 11,4 ± 1,4	2,0± 0,6 / 2,0 ± 0,5
Intestino III	16,9±1,1 / 19,5± 6,5	0 / 0	11,5±5,1 / 12,7 ± 6,7	1,4±0,5 / 3,6 ± 1,9

(D) Morcego hematófago. *D. rotundus*.

Região	Serotonina	Gastrina	CCK	Enteroglucagon
Estômago Fundo	58,5 ± 7,2	0	0	0
Estômago Pilórica	45 ± 5,0	26,7 ± 6,0	0	4,0 ± 1,2
Intestino I	18,8 ± 6,4	0	10 ± 2,2	3,0 ± 1,7
Intestino II	10,9 ± 3,0	0	14,7 ± 5,2	1,8 ± 0,8
Intestino III	13,5 ± 3,0	0	7,1 ± 2,8	2,2 ± 0,8

5.0. CONCLUSÕES

- ▶ A célula endócrina secretora de serotonina foi a mais abundante. Encontrada em todas as espécies e em todas as regiões analisadas.
- ▶ A célula endócrina secretora de gastrina foi predominantemente detectada na região pilórica de todas as espécies. Entretanto, a frequência relativa destas células foi maior nas espécies de hábito alimentar frugívoro.
- ▶ A célula endócrina secretora de colecistoquinina foi encontrada no intestino de todas as espécies, predominantemente no intestino I das espécies de hábito alimentar insetívoro.
- ▶ A célula endócrina secretora de enteroglucagon foi a menos freqüente, apesar de ter sido detectada no estômago e intestino de todas as espécies.
- ▶ Houve diferenças na distribuição e na frequência relativa das células endócrinas do tubo gastrointestinal dos animais de mesmo hábito alimentar. Estas diferenças foram menores quando comparadas com os animais de hábitos alimentares diferentes.

6.0. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR, L. M. S., MACHADO, R. B., ZORTÉA, M., MENDES, S. L. & RYLANDS, A. B. Working with the IUCN red list categories: The experience of the workshop on the conservation of Brazilian bats. **Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão (Nova Série)**, v. 9, p. 3-11, 1998.
- AGUNGPRIYONO, S., MACDONALD, A. A., LEUS, K. Y. G., KITAMURA, N., ADNYANE, I. K. M., GOODALL, G. P., HONDO, E. & YAMADA, J. Immunohistochemical Study on the Distribution of Endocrine Cells in the Gastrointestinal Tract of the Babirusa, *Babyrusa babyrussa* (Suidae) **Anatomia, Histologia, Embryologia: Journal of Veterinary Medicine Series C**, v. 29, n. 3, p. 173-178, 2000.
- AHLMAN, H. & NILSSON, O. The gut as the largest endocrine organ in the body. *Ann. Oncol.*, v. 12 n. 2, p. S63-S68, 2001.
- ANDREW, A., KRAMER, B. & RAWDON, B. The origin of gut and pancreatic neuroendocrine (APUD) cells - the last word? **The Journal of Pathology**, v. 186 n.2, p. 117-118, 1998.
- ARATA, A. A., VAUGHN, J. B. & THOMAS, M. E. Food habits of certain Colombian bats. **Journal of Mammalogy**, v. 48, p. 653-655, 1967.
- ASHIHARA, N., TADDEI, V. A., HONDO, E., KITAMURA, N., PAI, V. D., CAMPOS, J., CHOLIQ, N. & YAMADA, J. An immunohistochemical study of gut endocrine cells in Nectarivorous and Frugi- nectarivorous Phyllostomid Bat (Chiroptera: Anoura caudifer and Carollia perspicillata). **Japanese Journal of Zoology**, v. 4, n.2, p. 125-133, 1999.
- BAYLISS, W. M. & STARLING, E. H. The mechanism of pancreatic secretion. **The Journal of Physiology**, v. 28, p. 325-53, 1902.
- BELL, F. R. The relevance of the new knowledge os gastrointestinal hormones to veterinary science. **Veterinary Science Communications**, v. 2, p. 305-314, 1979.
- BELL, G. I., SANTERRE, R. F. & MULLENBACH, G. T. Hamster preproglucagon contains the sequence of glucagon and two related peptides. **Nature**, v. 302, p. 716 - 8, 1983.
- BERNE, R. M. & LEVY, M. N. **Fisiologia**. Guanabara koogan. Rio de Janeiro. RJ, 4 edição, 1034p., 2000.
- BLOOM, S. R., POLAK, J. M., LINDENLAUB, E. **Systemic role of regulatory peptides**. New York, Schattaver, p. 93-119, 1982.
- BORDI, C., D'ADDA, T., AZZONI, C. & FERRARO, G. Classification of gastric endocrine cells at the light and electron microscopical levels. **Microscopy Research and Technique**, v. 48, p. 258-271, 2000.
- BREDT, A., UIEDA, W. & PINTO, P.P. Visitas de morcegos fitófagos a *Muntingia calabura* L. (muntingiaceae) em Brasília, Centro-Oeste do Brasil. **Revista Brasileira de Zoociências**, v. 4, n. 1, p. 111-122, 2002.
- BROMER, W. W., SINN, L. G., STAUB, A. & BEHRENS, O. K. The amino acid sequence of glucagon. **Journal of the American Chemical Society**, v. 78, p. 3858-60, 1956.
- BUNDGAARD, J. R., BIRKEDAL, H. & REHFELD, J. F. Progastrin is directed to the regulated secretory pathway by synergistically acting basic and acidic motifs. **the Journal of Biological Chemistry**, v. 279, p. 5488-5493, 2004.
- CARDOSO, T. R. D., PINHEIRO, N. L., & SALES, A. Imunocitoquímica para detecção de células endócrinas produtoras de gastrina e serotonina na mucosa gástrica do tatu (MAMMALIA: EDENTATA). **Revista Universidade Rural, Serie Ciências da Vida**, v. 16, p. 85-89, 1994.

- CARVALHEIRA, A. F., WELSCH, H. & PEARSE, A. G. E. Cytochemical and ultrastructural observations on the argentaffin and argyrophil cells of the gastro-intestinal tract in mammals, and their place in the APUD series of polypeptide-secreting cells. **Histochemistry**, v. 14, p. 33-46, 1968.
- DAYAL, Y., DELELLIS, R. A. & WOLFE, H. J. Hyperplastic lesions of the gastrointestinal endocrine cells. **The American Journal of Surgical Pathology**, v. 11, n.1, p. 87-101, 1987.
- D'ESTE, L., BUFFA, R., PELAGI, M., SICCARDI, A. G. & RENDA, T. Immunohistochemical localization of chromogranin A and B in the endocrine cells of the alimentary tract of the green frog, *Rana esculenta*. **Cell and Tissue Research**, v. 277, p. 341-349, 1994.
- DEVENEY, C. W. & WAY, L. W. Regulatory peptides of gut. In: **Basic and Clinical Endocrinology** (F. S. Greenspan and P. H. Forsham, eds), *Asian edn. Singapore: Maruzen.*, p. 479- 499, 1983.
- DIAS, D., PERACCHI, A. L. & SILVA, S. S. P. Quirópteros do Parque Estadual da Pedra Branca, Rio de Janeiro, Brasil (Mammalia, Chiroptera). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 19, n. 2, p. 113-140, 2002.
- DI FIORI, M. S. H. **Diagnostico Histologico**. Tomo I. 7 ed. Argentina, Buenos Aires; Libreria "El Ateneo". Editorial, 591p., 1975.
- EISENTRAUT, M. Die ernahrung de fledermausen (Microchiroptera). **Zoologische Jahrbuecher Systematik**, v. 79, p. 14-117, 1950.
- EL – SALHY M., WINDER, E., LUNDQVIST, M. Comparative studies of serotonin-like immunoreactive cells in the digestive tract of vertebrates. **Biomedical Research**, v. 6, p. 371-375, 1985.
- FÁBIAN, M. E. & MARQUES R. V. Contribuição ao conhecimento da biologia reprodutiva de *Molossus molossus* Pallas 1766 (Chiroptera, Molossidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 6, n.4, p. 603-610, 1989.
- FALKMER, S. & VAN NOORDEN, S. Ontogeny and phylogeny of the glucagon cell. **Handbook of experimental pharmacology**, v. 66, p. 81-199, 1983.
- FARIA, D. M. Os morcegos da Santa Genébra, p.100-106. In: P.L.C. MORELLATO & H.F. LEITÃO-FILHO (Eds). **Ecologia e Preservação de uma floresta tropical urbana**. Campinas, Universidade Estadual de Campinas, 136p, 1995.
- FENTON, M. B., WHITAKER JR, J. O., VONHOF, M. J., WATERMAN, J. M, PEDRO, W. A., AGUIAR, L. M. S; BAUNGARTEN, J. E., BOUCHARD, S., FARIA, D. M., PORTFORS, C. V., RAUTENBACH, N. I. L., SCULLY, W. & ZORTÉA, M. The diet of bats from Southeastern Brazil: the relation to echolocation and foraging behaviour. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 16, n.4, p. 1081-1085, 1999.
- FISCHER, W. A. & FISCHER, E. A. Comportamento social e reprodutivo do morcego-cara-branca, *Artibeus lituratus*, p. 106-110. In: P.L.C. MORELLATO & H.F. LEITÃO-FILHO (Eds). **Ecologia e Preservação de uma floresta tropical urbana**. Campinas, Universidade Estadual de Campinas, 136p, 1995.
- FLEMING, T. H. Opportunism versus specialization: evolution of feeding strategies in frugivorous bats, p. 105-118. In: A. ESTRADA & T. H. FLEMING (Ed.). **Frugivores and seed dispersal**. Dordrecht, W. Junk Publisher, XIII+392p., 1986.
- FOA, P. P., GALANSINO, G. & POZZA, G. Glucagon, a second pancreatic hormone. **Recent progress in hormone research**, v. 13, p. 473-503, 1957.
- FORMAN, G. L. Comparative morphological and histochemical studies of stomach of selected americal bats. **University of Kansas law review. University of Kansas.**, v. 49, p. 591-729, 1972.

- FORMAN, G. L. Comparative studies of organized gut-associated lymphoid tissue in mammals with diverse food habits. Distribution, size and organization of Payer's patches in new world bats. *Transactions of the Kansas Academy of Science*. **Kansas Academy of Science**, v. 67, p. 152-156, 1974 a.
- FORMAN, G. L. The structure of Peyer's patches and their associated nodules in New world bats in relation to food habits. **Journal of Mammalogy**, v. 55, p. 738-746, 1974 b.
- FORMAN, G. L., PHILLIPS, C. J. & ROUK, C. S. Alimentary tract. In: BAKER, R.J.; JONES JR., J. K. & CARTER, D. C., eds., **Biology of bats of new world family phyllostomatidae**, Part III. Spec. Publ. Texas Tech Univ., v. 16, p. 205-227, 1979.
- FUJITA, T. Gastro-entero-pancreatic endocrine system. **A cell - biological approach**. Tokio, Igaku - shoin, 1973.
- FUJITA, T. The gastro-enteric endocrine cell and its paraneuronic nature. In: **Chromaffin enterochromaffin and related cell**. Ed. R. E. Coupland & T. Fujita. Amsterdam, Elsevier, pp. 191-208, 1976.
- GARTNER, L. P. & HIATT, J. L. **Tratado de Histologia**. Ed. Guanabara Koogan, 425p., 1999.
- GROSSMAN, M. I. Physiological effects of gastrointestinal hormones. **Federation proceedings**, v. 36, p. 1930-32, 1977.
- HARLOW, H. J. & BRAUN, E. J. Gastric Na K ATPase activity and intestinal urea hydrolysis of the common vampire bat, *Desmodus rotundus*. **Comparative biochemistry and physiology**, v. 118, n.3, p. 665-669, 1997.
- HSU, S. M., RAINE, L. & FANGER, H. Use of Avidin-Biotin-Peroxidase Complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: A comparison between abc and unlabeled antibody (PAP) procedures. **The Journal of Histochemical and Cytochemical**, v. 29, p. 577-80, 1981.
- HUANG, X. & WU, X. Immunohistochemical study on gastrointestinal endocrine cells of four reptiles. **World Journal Gastroenterology**, v. 11, n.35, p. 5498-5505, 2005.
- ITO, S. & WINCHESTER, R. J. The fine structure of the gastric mucosa in the bat. **The Journal of Cell Biology**, v. 16, p. 541-577, 1963.
- JOHNSTON, M. C. A. radioautographic study of migration and fate of cranial neural crest cells in the chick embryo. **The Anatomical record**, v. 156, p. 143-155, 1966.
- JUNQUEIRA, L. C. & CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 8ª ed., 433 p., 1999.
- KAMIYA, T. & PIRLOT, P. Comparative gastric morphology of Old-world bats. 1. In light microscopy. **Journal of Mammalogy**, v. 6, p. 145-154, 1975.
- KITAMURA, N., YAMADA, J., CALINGASAN, Y. N., YAMASHITA, T. immunohistochemical study of the endocrine cells in the gastro-intestinal tract of the horse. **Equine veterinary Journal**, v. 16, p. 103-107, 1984.
- KOH, T. J. & WANG, T. C. Molecular cloning and sequence of murine gastrin gene. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 216, p. 34-41, 1995.
- KOMORI, M., TADDEI, A., HONDO, E., KITAMURA, N., PAI, V. D., CHOLIQ, C. N. & YAMADA, J. An immunohistochemical study of gut endocrine cells in Piscivorous Bat (Chiroptera: *Noctilio leporinus*). **Japanese Journal of Zoology**, v. 5, n.1, p. 45-54, 2000.
- KOOPMAN, K. F. Order Chiroptera. Pp. 137-241. In: **Mammal species of the world: a Taxonomic and geographic reference**. D. E. Wilson & D.M. Reeder (eds.), Smithsonian Institution Press, Washington & London., 2 ed., 539 p., 1993.
- KU, S. K., LEE, H. S., LEE, J. H. & PARK, K. D. An immunohistochemical study of the endocrine cells in the alimentary tract of Red-Eared Slider (*Trachemys scripta elegans*). **Anatomia, Histologia, Embryologia: Journal of Veterinary Medicine Series C**, v. 30, p. 33-39, 2001.

- KU, S. K. & LEE, H. S. The distribution and frequency of endocrine cells in the splenic lobe of grass lizard (*Takydromus wolteri*). An immunohistochemical study. **European journal of histochemistry**, v. 48, n.4, p. 429-436, 2004.
- KU, S. K., LEE, H. S. & LEE, J. H. Immunohistochemical study of gastrointestinal Endocrine Cells in the BALB/c mouse. **Anatomia, Histologia, Embryologia: Journal of Veterinary Medicine Series C**, v. 33, p. 42-48, 2004^a.
- KU, S. K., LEE, H. S. & LEE, J. H. Immunohistochemical study of gastrointestinal Endocrine Cells in the ddY mice. **Journal Veterinary Science**, v. 5, n.2, p. 87-95, 2004b.
- LARSSON, L. I., HOLST, J. J., HAKANSON, R. & SUNDLER, F. Distribution and properties of glucagon immunoreactivity in the digestive tract of various mammals: an immunohistochemical and immunochemical study. **Histochemistry**, v. 44, p. 281-90, 1975.
- LEE, H. S. & KU, S. K. An immunohistochemical study of endocrine cells in the alimentary tract of the grass lizard, *Takydromus wolteri* Fischer (Laceridae). **Acta Histochemica**, v. 106, p. 171- 178, 2004.
- MADKOUR, G. A. A comparative study of certain features of the alimentary canal and disposition of the viscera in Egyptian bats. **American zoologist**, v. 13, p. 63-81, 1977.
- MARINHO-FILHO, J. Distribution of bat diversity in the southern and southeastern Brazilian Atlantic Forest. **Chiroptera Neotropical**, v. 2, n.2, p. 51-54, 1996.
- MARINHO FILHO, J. Notes on the reproduction of six phyllostomid bat species in southeastern Brazil. **Chiroptera Neotropical**, v. 9, p. 173-175, 2004.
- MENNONE, A., CARLETON, J. P. & DOROTHY E. P. Evolutionary significance of interspecific differences in Gastrin-Like immunoreactivity in the pylorus of phyllostomid bats. **Journal of Mammalogy**, v. 67, n.2, p. 373-384, 1986.
- MICHELMORE, A. J., KEEGAN, D. J. & BEVERLEY, K. Immunocytochemical identification of endocrine cells in the pancreas of the fruit bat, *Rousettus aegyptiacus*. **General and comparative endocrinology**, v. 110, p. 319-325, 1998.
- MIKALAUSKAS, J. S. **Morcegos**. In: "Parque Nacional Serra de Itabaiana - Levantamento da Biota". C. M. Carvalho & J. C. Villar, Coord. Aracaju, Ibama, Biologia Geral e Experimental – UFS, 93-103p, 2005.
- MIKALAUSKAS, J. S., MORATELLI, R. & PERACCHI, A. L. Ocorrência de *Chiroderma doriae* Thomas (Chiroptera, Phyllostomidae) no Estado de Sergipe, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 23, n.3, p. 877-878, 2006.
- MIKICH, S. B. A dieta dos morcegos frugívoros (Mammalia, Chiroptera, Phyllostomidae) de um pequeno remanescente de Floresta Estacional Semidecidual do sul do Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 19, n.1, p. 239-249, 2002.
- MILLS, B. **Immunohistochemistry**. In: Prophet, E.D. *et al.* (eds.) Laboratory methods in histotechnology. Washington: Armed Forces Institute of Pathology, p. 247-55, 1992.
- MORAN, T. H. & SCHWARTZ, G. I. Neurobiology of cholecystokinin. **Critical reviews in neurobiology**, v. 9, p. 1- 28, 1994.
- MULLER, M. F. & REIS, N. R. Partição de recursos alimentares entre quatro espécies de morcegos frugívoros (Chiroptera, Phyllostomidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 9, n. 3/4, p. 345-355, 1992.
- NOWAR, R. M. **Walker's mammals of the world**. Johns Hopkins University Press, Baltimore. 5th ed., Vol 1. 642p., 1991.
- ODUM, L., PETERSEN, H. D., ANDERSEN, I. B., HANSEN, B. F. & REHFELD, J. F. Gastrin and somatostatin in helicobacter pylori infected antral mucosa. **Gut**, v. 35, p. 615-618, 1994.

- ORCI, L., STEFAN, Y., BONNER-WEIR, S., PERRELET, A. & UNGER, R. H. Obligatory association between A and D cells demonstrated by bipolar islets in neonatal pancreas. **Diabetologia**, v. 21, p. 73-4, 1981.
- OWEN, R. **On the anatomy of vertebrates**. Mammals. Longman, Green and Co., 1868, London. IN FORMAN, 1972.
- PAN, Q. S., FANG, Z. P. & HUANG, F. J. Identification, localization and morphology of APUD cells in gastroenteropancreatic system of stomach- containing teleosts. **World Journal Gastroenterology**, v. 6, p. 842-847, 2000.
- PASSOS, F. C., SILVA, W. R., PEDRO, W. A. & BONIN, M. R. Frugivoria em Morcegos (Chiroptera, Phyllostomidae) no Parque Estadual Intervales, sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 20, n.3, p. 511-517, 2003.
- PASSOS, F. C. & GRACIOLLI, G. Observações sobre a dieta de *Artibeus lituratus* (Chiroptera, Phyllostomidae) em duas áreas do sul do Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 21, n. 3, p. 487-489, 2004.
- PEARSE, A. G. E. Common cytochemical and ultrastructural characteristics of cells producing polipeptide hormones (the APUD series) and their relevance to thyroid and ultimobranchial C and calcitonin. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B**, v. 170, p. 71-80, 1968.
- PEARSE, A. G. E. The cytochemistry and ultrastructure of polypeptide hormone producing cells (the APUD series) and the embryology, physiology and pathologic implications of the concept. **The Journal of Histochemical and Cytochemical**, v. 17, p. 303-13, 1969.
- PEARSE, A. G. E. & POLAK, J. M. Cytochemical evidence for the neural crest origin of mammalian C cells. **Histochemistry**, v. 27, p. 96-102, 1971.
- PEARSE, A. G. E., POLAK, J. M. & HEATH, C. M. Development, differentiation and derivation of the endocrine polypeptide cells of the mouse pancreas. (Immunofluorescence, cytochemical and ultrastructural studies). **Diabetologia**, v. 9, p. 120-129, 1973.
- PERACCHI, A. L. & ALBUQUERQUE, S. T. Sobre os Hábitos Alimentares de *Chiropterus Auritus australis* Thomas, 1905 (Mammalia, Chiroptera, Phyllostomidae). **Revista Brasileira de Biologia**, v. 36, n.1, p. 179-184, 1976.
- PERACCHI, A. L. & SILVA, S. S. P. Observação da visita de morcegos às flores de *Pseudobombax grandiflorum* (Cav.) A. Robyns. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 12, n. 4, p. 859-865, 1995.
- PERACCHI, A. L., REIS, N. R., SEKIAMA, M. L. & LIMA, I. P. Diversidade de morcegos (Chiroptera, Mammalia) em fragmentos florestais no Estado do Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 18, n.1, p. 697-704, 2000.
- PINE, R. H. Stomach contents of a free-tailed bats, *Molossus ater*. **Journal of Mammalogy**, v. 50, p. 162, 1969.
- POLAK, J. M. & BLOOM, S. R. Distribution of newly discovered regulatory peptides. **Biomedical Research**, v. 4, p. 7-23, 1983.
- RANTALA, I., PARONEN, I., KAINULAINEN, H. & ALA-KAILA, K. Enterocromaffin cell density in the gastric mucosa of patients with chronic renal failure. **Acta Pathologica, Microbiologica, Et Immunologica Scandinavica**, v. 104, p. 362-366, 1996.
- RAWDON, B. B. & ANDREW, A. An immunocytochemical survey of endocrine cells in the gastrointestinal tract of chicks at hatching. **Cell Tissue Research**, v. 220, p. 279-292, 1981.
- REIS, N. R., PERACCHI, A. L. & LIMA, I. P. Riqueza de espécies de morcegos (Mammalia, Chiroptera) em dois diferentes habitats, na região centro-sul do Paraná, sul do Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 23, p. 813-816, 2006.
- RESNICK, R. H., ADELARDI, C. F. & GRAY, S. J. Stimulation of gastric secretion in may by serotonin antagonist. **Gastroenterology**, v. 42, p. 22-25, 1962.

- ROBIN, H. A. Recherches anatomique sur les mamifères de l'ordre des chiropteres. **Annales Des Sciences Naturelles comprenant la zoologie**, v. 12, p.1-180, 1881.
- ROTH, J., LE ROITH, D., SHILOAC, J., ROSENWEIG, J. L., LESNIAK, M. A. & HAVRANKOVA, J. The evolutionary origins of hormones, neurotransmitters and other extracellular chemical messengers. Implications for mammalian biology. **The New England journal of medicine**, v. 306, p. 150-152, 1982.
- ROUK, C. S. & GLASS, B. P. Comparative gastric histology of American bats. **Journal of Mammalogy**, v. 51, p. 455-472, 1970.
- ROUK, C. S. & LANE, W. L. Comparative histology of selected American bats. Abstracts of paper presented at the **50th Annual Meeting, American Society of Mammalogists**, college Station, Texas, June, 1970.
- SMALL, C. J. & BLOOM, S. R. Gut hormones and the control of appetite. **Trends in endocrinology and metabolism**, v. 15, n. 6, p. 259-253, 2004.
- SAMOLS, E., BONNER-WEIR, S. & WEIR, G. I. Intraislet insulin-glucagon- somatostatin relationship. **Clinics in endocrinology and metabolism**, v. 15, p. 33-58, 1986.
- SANKEY, E. A., HELLIWELL, P. A. & DHILLON, A. P. Immunostaining of antral gastrin cells is quantitatively increased in helicobacter pylori gastritis. **Histopathology**, v. 16, p. 151-155, 1990.
- SAZIMA, I., FISCHER, W. A., SAZIMA, M. & FISCHER, E. A. The fruit bat *Artibeus lituratus* as a forest and city dweller. **Ciência e Cultura**, v. 46, n.3, p. 164-168, 1994.
- SIPINSKI, E. A. B. & REIS, N. R. Dados ecológicos dos quirópteros da Reserva Volta Velha, Itapoá, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 12, n.3, p. 519-528, 1995.
- SOLCIA, E., CAPELLA, C., VASSALLO, G. & BUFFA, R. Endocrine cells of the gastric mucosa. **International review of cytology**, v. 42, p. 223-286, 1975.
- SPREAFICO, J. M., DIAZ FLORES, L., GAYOSO, M. J., VARELA, J. & AGUIAR, D. Celulas endócrinas del tubo digestivo. **Morfologic Patology**, v. 1, p. 99-124, 1977.
- STUDHOLME, K. M., PHILLIPS C. J. & FORMAN, G. L. Results of the Alcoa Foundation Suriname Expeditions. X. Patterns of cellular divergence and evolution in the gastric mucosa of two genera of philostomid bats. **Natural History**, v. 55, p. 207-235, 1986.
- SUNDLER, F., HAKANSON, R., LOREN, I. & LUNDQUIST, I. Amine storage and function in peptide hormone-producing cells. **Investigative & cell pathology**, v. 3, p. 87-103,
- TADDEI, V. A. Biologia reprodutiva de Chiroptera: perspectivas e problemas. **Interfacies**, v. 6, p. 1-18, 1980.
- TEDMAN, R. A. & HALL, L. S. The morphology of the gastrointestinal tract and food transit time in the fruit bats *Pteropus aleco* and *P. Poliocephalus* (Megachiroptera). **Australian Journal of Zoology**, v. 33, n. 5, p. 625 – 640, 1985.
- TRAJANO, E. Ecologia de populações de morcegos cavernícolas em uma região cárstica do sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 2, p. 255-320, 1985.
- UIEDA, W. & VASCONCELLOS-NETO, J. Dispersão de *Solanum* spp (Solanaceae) por morcegos, na região de Manaus, Amazonas, **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 2, n. 7, p. 449-458, 1985.
- UNGER, R. H., DOBBS, R. E. & ORCI, I. Insulin, glucagon and somatostatin in the regulation of metabolism. **Annual review of physiology**, v. 40, p. 307-43, 1978.
- VAILLANT, C. R. & LUND, P. K. Distribution of glucagon - like peptide 1 in canine and feline pancreas and gastrointestinal tract. **The Journal of Histochemical and Cytochemical**, v. 34, p. 1117-21, 1986.
- VAN NOORDEN, S. & FALKMER, S. Gut islet endocrinology some evolutionary aspects. **Investigative & cell pathology**, v. 3, p. 21-35, 1980.

- VAN NOORDEN, S. The neuroendocrine system in protostomian and deuterostomian invertebrates and lower vertebrates. In: **Evolution and tumour pathology of the neuroendocrine system**. Eds. S. Falkmer, R. Hakanson, F. Sundler. New York, Elsevier. Pp. 7-38, 1984.
- VIEIRA, C. O. C. Ensaio monográfico sobre os quirópteros do Brasil. **Arquivos de Zoologia**, v. 3, n. 8, p. 471, 1942.
- WHALEN, G.E. Glucagon and the small gut. **Gastroenterology**, v. 67, n. 6, p. 1284-6, 1974.
- WALKER, E. P. **Mammals of the world**. Vol.I. The Johns Hopkins press, baltimore, 1964p.
- WILSON, D. E. Neotropical bats: a checklist with conservation status. Pp: 167- 177. In: **Neotropical Biodiversity and conservation**. A.C.Gilbson (ed.). University of california, Lops Angeles, CA. 1996.
- WILSON, D. E. & REEDER, D. M. **Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference**. Washington, Smithsonian Institution Press, 2nd ed., 1027 p., 1993.
- WIMSATT, W. A. & GUERRIERE, A. Observations on the feeding capacities and excretory functions of captive vampire bats. **Journal of Mammalogy**, v. 43, p. 17-27, 1962.
- WU, Z. J., XU, C. F. & HUANG, Y. X. An immunohistochemical study on morphology and distribution of somatostatin-like immunoreactive cells in mamalian gastrointestinal tract. **Zhonghua xin xue guan bing za zhi**. v. 5, p. 654-655, 1997.
- YAMADA, J., CAMPOS, V. J. M., KITAMURA, N., PACHECO, A. C., YAMASHITA, T. & CARAMASCHI, V. Immunohistochemical study of gastro-entero-pancreatic (GEP) endocrinal cells in the vampire bat (*Desmodus rotundus*). **Gergebaurs morphologisches Jahrbuch**, v. 130, p. 845-856, 1984.
- YAMADA, J., BAOREN, L., DENG, Z., KITAMURA, N., YAMASHITA, T. & PHILLIPS, J. An immunohistochemical study of gut endocrinal cells in two species of insetivorous vespertilinid Bat (chiroptera: *Pipistrellus abramus* and *Plecotus auritus sacrimontis*). **Gergebaurs morphologisches Jahrbuch**, v. 134, p. 79-91, 1988.
- YAMANAKA, Y., YAMADA, J., KITAMURA, N. & YAMASHITA, T. An immunohistochemical study on the distribution of endocrine cells in the chicken gastrointestinal tract. **Zeitschrift fur Mikroskopisch Anatomische Forschung**, v. 103, p. 3, 437-446, 1989.
- YANAIHARA, N., YANAIHARA, C., MOCHIZUKI, T., HOSHITO, M., ZHANG, T. & IGUCHI, K. New gastrointestinal hormones. **Progress in endocrinology**, 1545-1550, 1988.
- ZHANG, C. & LI, D. G. 5-HT and the regulation of gastrointestinal tract motility. **Zhonghua xin xue guan bing za zhi** v. 5, p. 730-731, 1997.
- ZHU, J. Z., CHEN, D. F. & LENG, E. R. The action of a gastrointestinal hormones on regulation of gastrointestinal motion. **Shi Jie Hua Ren Xiao Hua Za Zhi**, v. 7, p. 687-688, 1999.
- ZORTEÁ, M. Reproductive patterns and feeding habits of three nectarivorous bats (Phyllostomidae: Glossophaginae) from the Brazilian cerrado. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 63, p. 159-168, 2003.
- ZORTEÁ, M. & MENDES, S. L. Folivory in the big fruit eating bat, *Artibeus lituratus* (Chiroptera: Phyllostomidae) in eastern Brazil. **Journal of Tropical Ecology**, v. 9, p. 117-120, 1993.