# Universidade Federal de Pernambuco – UFPE Centro Acadêmico de Vitória – CAV Curso de Graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas

CARACTERIZAÇÃO HISTOMORFOLÓGICA E HISTOMORFOMÉTRICA DO TECIDO ÓSSEO MADURO DE Glossophaga soricina (PHTLLOSTOMIDAE: CHIROPTERA)

# Universidade Federal de Pernambuco – UFPE Centro Acadêmico de Vitória – CAV Curso de Graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas

CARACTERIZAÇÃO HISTOMORFOLÓGICA E HISTOMORFOMÉTRICA DO TECIDO ÓSSEO MADURO DE Glossophaga soricina (PHTLLOSTOMIDAE: CHIROPTERA)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas como requisito para incremento da Disciplina Eletiva do Curso de Licenciatura em Ciências Biológica

Aluna: Cibele Leandro Da Costa

Orientador: Francisco Carlos Amanajás De Aguiar Júnior Co- Orientadora: Katharine Raquel Pereira Dos Santos

# CARACTERIZAÇÃO HISTOMORFOLÓGICA E HISTOMORFOMÉTRICA DO TECIDO ÓSSEO MADURO DE G*lossophaga soricina* (PHTLLOSTOMIDAE: CHIROPTERA)

#### CIBELE LEANDRO DA COSTA

ORIENTADOR	:			
	Prof <sup>a</sup> Dr. Francisco (Docente Centro	-	-	nior
CO-ORIENTAD(	OR:			
-	Prof <sup>a</sup> Dra. Kathari (Docente Centro A			
EXAMINADORE	S:			
	Prof <sup>a</sup> Dra. Noemia (Docente Centro			ar
	Prof <sup>o</sup> Dr. Luiz Augu (Docente Centro			ar
	Prof <sup>a</sup> Dra. Angelica (Docente Centro			te
Vitória	de Santo Antão.	de		de 2011

Dedico este trabalho a todos que contribuíram para construção dos meus valores e conhecimentos, aqueles que fizeram parte da minha história acadêmica e acreditaram em minhas capacidades e sonhos.

#### Agradecimento

Agradeço a Deus por ter me acompanhado, sempre, nessa luta e por me proporcionar a tamanha felicidade que sinto em poder realizar este, tão desejado, sonho.

Ao meu orientador, Dr. Francisco Carlos Amanajás de Aguiar Júnior, pela excelente orientação, paciência e valiosa contribuição na elaboração e execução deste trabalho.

À minha co-orientadora, Dra. Katharine Raquel Pereira dos Santos, pelo apoio na orientação e incentivo que tornaram possível a realização deste trabalho de conclusão de curso.

Aos companheiros de laboratório de Biotecnologia e Fármacos, pela ajuda e boas risadas que demos juntos durante as manhãs e tardes de trabalho.

Aos meus pais, Edimilson Costa e Maria da Penha Leandro, por minha vida e valores.

Ao meu namorado, Alex Filipy Cirino, pelo incentivo, força e pelas chamadas de atenção.

Aos meus verdadeiros amigos, pelos sinceros votos de sucesso e pela contribuição indireta para a realização deste.

# SUMÁRIO

DEDICATÓRIA	IV
AGRADECIMENTOS	V
LISTA DE FIGURAS	7
LISTA DE TABELAS	9
INTRODUÇÃO GERAL	10
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	13
ARTIGO CIENTÍFICO: CARACTERIZAÇÃO HISTOMORFOLÓGICA E HISTOMORFOMÉTRICA DO TECIDO ÓSSEO MADURO DE Glossophaga soricina (PHYLLOSTOMIDAE: CHIROPTERA)	17
Resumo	18
Abstract	18
Introdução	20
Material e Métodos	22
Resultados e Discussão	23
Conclusões	32
Referências Bibliográficas	32
ANEXO	
Normas para submissão de trabalhos na revista Ciência Animal Brasileira.	

#### Lista de Figuras

Figura 1

Fotomicrografia do corte transversal do úmero de *Glossophaga soricina*. Osteoblastos ativos basófilos e poligonais (setas) dispostos próximos à matriz calcificada (asterisco), em seguida, diferenciando-se em osteócitos, localizados nas lacunas (cabeça da seta). Hematoxilina e Eosina. Aumento de 400 x.

Figura 2

Fotomicrografia do corte transversal do úmero de Glossophaga soricina. Osteóide (asteriscos). Hematoxilina e Eosina. Aumento de 400 x.

Figura 3

Fotomicrografia do corte transversal do úmero de *G. soricina*. Distribuição das fibras no sentido transversal (asterisco) e longitudianl (setas). Picrosírius Red. Aumento de 400 x.

Figura 4

Fotomicrografia do corte transversal do úmero de Glossophaga soricina. Lacunas elípticas com alta concentração de fibrilas em torno destas (setas). Picrosírius Red. Aumento de 400 x.

Figura 5

Fotomicrografia do corte transversal do úmero de *Glossophaga soricina*. Lacunas elípticas (setas) e canalículos no sentido transversal (cabeça da seta). Nitrato de prata. Aumento de 400 x.

Figura 6

Fotomicrografia do corte transversal do úmero de Glossophaga soricina. Lacunas elípticas (setas) e canalículos no sentido do corte (cabeças da seta) e longitudinal (asterisco). Nitrato de prata. Aumento de 400 x.

Figura 7

Fotomicrografia do corte longitudinal do úmero de *Glossophaga soricina*. Canal de Haver elíptico (asterisco) entre lamelas de espessura irregular (setas). Nitrato de prata. Aumento de 400 x.

Figura 8

Fotomicrografia do corte longitudinal do úmero de *Glossophaga soricina*. Canal de Haver arredondado (asterisco) circundado por lamelas de disposição irregular (setas). Nitrato de prata. Aumento de 400 x.

Figura 9

Figura 9. Fotomicrografia do corte transversal do úmero de *Glossophaga soricina*. Visualização do periósteo (set) e suas camadas: Externa (seta) e Interna (asterisco). Hematoxilina e Eosina. Aumento de 400 x.

#### Lista de Tabelas

Tabela 1 Análise histomorfométrica das estruturas microscópicas

presentes na matriz óssea do úmero de Glossophaga

soricina.

Tabela 2 Caracterização e análise de variáveis anatômicas dos

espécimes de Glossophaga soricina analisados.

### Introdução Geral

Os morcegos reúnem particularidades ímpares entre os animais. São os únicos mamíferos que voam, podem hibernar, longíveros, vivem em todos os continentes, com exceção dos pólos. Pode atravessar barreiras geográficas, pela migração natural para busca de alimento ou para fugir do frio (DEUS, 2003). Chiroptera é a segunda maior ordem em número de espécies dentro da classe Mammalia (WILSON & REEDER, 2005), representando no neotrópico quase 40% dos mamíferos, e além da alta riqueza também apresenta espécies endêmicas (VELAZCO & PATTERSON, 2008). Esta ordem tem sido dividida em duas subordens: Megachiroptera e Microchiroptera. A primeira é encontrada exclusivamente no Velho Mundo e compreende uma única família (Pteropodidae) com 42 gêneros e 150 espécies, enquanto a segunda está amplamente distribuída por todo globo, envolvendo 17 famílias, 157 gêneros e 930 espécies (SIMMONS, 2005). De acordo com Reis et al., 2011, os morcegos no Brasil compreendem 64 gêneros e 172 espécies, amplamente distribuídas pelos diferentes biomas terrestres, havendo registro de 70 espécies para o Estado de Pernambuco (GUERRA, 2007; SILVA & MARINHO FILHO, 2009/2010; LIRA et al., 2009).

Dentre a diversidade ecológica dos morcegos pode-se ressaltar o modo de locomoção, único entre os mamíferos, a grande variedade de hábitat e os diversificados locais utilizados como abrigo diurno. A família Phyllostomidae é uma das maiores em número de espécies e em diversidade ecológica dentre os morcegos da subordem Microchiroptera (REID, 1997; ALTRIGHAM, 1998; NEUWEILWER, 2000). Esta inclui as principais guildas alimentares definidas para comunidades de morcegos da região Neotropical: insetívoros de voo rápido, insetívoros de voo lento; frugívoros de dossel, fugívoros de sub-bosque, nectarívoros (onívoros), hematófagos, piscívoros e carnívoros (MACNAB, 1971).

A variedade de hábito alimentar associado ao modo de locomoção e ao habitat, exigiu dos morcegos o estabelecimento de diferentes estilos de voo que permitiram tornar mais eficiente às estratégias de forrageio (LAWLOR,

1973). Desta forma, o membro torácico sofreu algumas adaptações esqueléticas como: redução na fossa supraespinal e alargamento da fossa infraespinal da escápula, processo acrômio fortemente arqueado e clavícula longa e de curvatura acentuada (VAUGHAN, 1970). De uma forma geral, essas adaptações proporcionam superfícies para fixação adequada à musculatura e facilita a execução dos diferentes tipos de voo.

A dieta da subfamília Glossophaginae, nectarívora, inclui pólen, néctar e, casionalmente, partes de flores, além de frutas e insetos (GARDNER, 1977). Para execução do voo pairado e as manobras em áreas de florestas densas, *Glossophaga soricina* necessita de modificações anatômicas e histológicas dos ossos do braço a antebraço (FINDLEY, STUDIER, WILSON, 1972; SIMMONS, 2005).

O tecido ósseo é considerado como a mais importante aquisição na evolução dos tecidos de suporte em vertebrados. Está presente na maioria de suas classes e de suas linhagens, apresentando características estáveis.

É constituído de células e matriz extracelular calcificada. As células constituintes do tecido ósseo são: osteoblastos, osteócitos e osteoclastos. Os osteoblastos são células responsáveis pela síntese da parte orgânica (colágeno tipo I, proteoglicanas e glicoproteínas) da matriz óssea. São capazes de concentrar fosfato de cálcio, participando da mineralização da matriz e dispõem-se sempre nas superfícies ósseas, lado a lado, num arranjo que lembra um epitélio simples. Possuem prolongamentos unindo-se entre si, estes prolongamentos são evidentes quando a célula é envolvida pela matriz, pois são responsáveis pela formação dos canalículos que se irradiam das lacunas. A matriz óssea, recém formada, adjacente aos osteoblastos ativos, ainda não calcificada recebe o nome de osteóide (STEVENS & LOWE, 2002; GARTNER & HIATT, 2008; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2008).

Uma vez aprisionados pela matriz recém sintetizada, o osteoblasto passa a ser chamado de Osteócito. Estas células são situadas em lacunas no interior da matriz (osteoplastos), os osteócitos se comunicam por prolongamentos, estabelecendo contatos que permitem o fluxo intercelular que servirá para nutrição, crescimento е desenvolvimento dos ossos. Morfologicamente, se caracterizam por serem células achatadas, exibindo pouca quantidade de retículo endoplasmático granular, aparelho de golgi pequeno e núcleo com cromatina condensada. São células essenciais para a manutenção da matriz óssea. Os osteoclastos são células móveis, gigantes, extensamente ramificada e multinucleadas. Estas células provocam a reabsorção óssea (STEVENS & LOWE, 2002; GARTNER & HIATT, 2008).

A matriz extracelular do tecido ósseo consiste de cerca de 65% de material inorgânico e de 35% de material orgânico. O material inorgânico é constituído quase exclusivamente por cálcio e ortofosfato inorgânico na forma de cristais de hidroxiapatita. O material orgânico é, primariamente, colágeno do tipo I, numa substância amorfa constituída por glicoproteínas e proteoglicanas. Os cristais de hidroxiapatita se depositam tanto sobre e por entre as moléculas de colágeno (que formam as fibrilas colágenas) como no material orgânico nãocolágeno que constitui a substância amorfa. A estrutura interna do osso está adaptada para suportar esforços mecânicos. Essa estrutura se modifica continuamente durante o crescimento e alteração dos esforços mecânicos funcionais (GARTNER & HIATT, 2008; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2008).

Histologicamente, o tecido ósseo pode ser classificado em primário (imaturo) e secundário (maduro). O tecido ósseo imaturo é o primeiro a ser formado na peça óssea, sendo gradativamente substituído por tecido secundário. Possui grande quantidade de osteócitos e suas fibras colágenas são organizadas irregularmente. O tecido ósseo secundário é mais encontrado em adultos. Sua principal característica é possuir fibras colágenas organizadas em lamelas de 3 à 7mm de espessura que ficam paralelas umas as outras ou se dispõem em camadas concêntricas em torno de canais com vasos formando os sistemas de Havers (ósteons). Cada ósteon é constituído por um cilindro longo, paralelo à diáfise, e formado por 4 à 20 lamelas ósseas concêntricas. No centro desse cilindro existe um canal revestido pelo endósteo, o Canal de Havers, estes comunicam entre si, com a cavidade medular e com a superfície externa do osso por meio de canais transversais, os canais de Volkmann. Estes não apresentam lamelas ósseas concêntricas. Os sistemas circunferenciais interno e externo são constituídos por lamelas ósseas paralelas entre si, formando duas faixas interna do osso (em volta do canal medular) e outra próxima ao periósteo. Este último é mais desenvolvido. Os sistemas intermediários separam os vários sistemas de Havers (GEORGE,

ALVES, CASTRO, 1998; STEVENS & LOWE, 2002; GARTNER & HIATT, 2008; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2008).

Os mamíferos apresentam características ósseas histológicas diferentes (HALL, 1991; AMARAL, MENDONÇA, LAURINO, 1994; RAMALHO & DARUGE, 2000). No entanto apresentam em comum tecido lamelar com ósteons longitudinais, substituídos por uma intensa reconstrução haversiana. Dentre eles, pequenas espécies de marsupiais apresentam osso compacto com numerosos ósteons longitudinais primários, grande quantidade de periósteo e pouca vascularização. Nas grandes espécies, os ósteons primários têm pequeno diâmetro, sendo posteriormente substituídos por sistemas harversiano. Já nos primatas, o osso compacto é pouco vascularizado, visto que o osso primário é quase totalmente substituído pelo modelo haversiano nas espécies maiores, que geralmente mostram linhas de crescimento no osso primário bem evidenciadas. Os carnívoros adultos apresentam na periferia do seu osso uma fina capa de tecido lamelar, pouco vascularizado e bem desenvolvido, que é separado do osso por uma lamela circunferencial externa. Os ostéons desse tecido são geralmente extensos, vascularizados e bem organizados microscopicamente (AMARAL, MENDONÇA, LAURINO, 1994; GEORGE, ALVES, CASTRO, 1998; RAMALHO & DARUGE, 2000). Este trabalho objetivou-se em caracterizar a estrutura histomorfológica e analisar histomorfometricamente o tecido ósseo maduro de Glossophaga soricina (Phyllostomidae: Chiroptera).

# Referências Bibliográficas

ALTRINGHAM, J. D. Bats: Biology and Behaviour. New York: Oxford University Press, p. 262, 1998.

AMARAL, D. M.; MENDONÇA, O. V.; LAURINO, L. B. **Patologia óssea: Fundamentos**. São Paulo: BYK, 1994.

DEUS, G.T.; BECER, M.; NAVARRO, I.T. Diagnóstico de raiva em morcego não-hematófago na cidade de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Centro-oeste do Brasil: descrição de casos. **Ciências Agrárias**. Londrina, v. 24, n. 17, p. 171-176, 2003.

FINDLEY, J. S.; STUDIER, E. H.; WILSON, D. E. Morphologic properties of bat wings. **Journal of Mammalogy**, v. 53, n. 3, p. 429-444, 1972.

GARDNER, A. L. Feeding habits. In: BAKER, R. J.; JONES-JUNIOR, K. J.; CARTER, D. C. (Ed.). Biology of Bats of the New World Family Phyllostomatidae. Part II. Texas: *Special Publications the Museum Texas Tech University*, 1977. p. 293-350.

GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. **Tratado de histologia**. 3ª. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

GEORGE, L.L.; ALVES, C.E.R.; CASTRO, R.R.L. **Histologia Comparada**. 2<sup>a</sup>. Ed. São Paulo: Editora Roca, 1998.

GUERRA, D. Q. Chiroptera de Pernambuco: Distribuição e Aspectos Biológicos. 2007. 103f. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2007.

HALL, B.K. Bone Matrix and Bone Specific Products. Boca Raton: **CRC Press**, 1991.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**, 11<sup>a</sup>. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

LAWLOR, T. E. Aerodynamic characteristics of some neotropical bats. **Journal** of Mammalogy, v. 54, n. 1, p. 71-78, 1973.

LIRA, T. C.; PONTES, A. R. M.; SANTOS, K. R. P. Ocurrence of the chestnut long-tongued bat *Lionycteris spurrelli* Thomas, 1913 (Chiroptera, Phyllostomidae) in the Northeastern Atlantic Forest, Brazil. **Biota Neotropical**, v. 9, n. 1, p. 253-255, 2009.

MACNAB, B.K. The estructure of tropical bat faunas. **Ecology**, v. 52, n. 2, p. 351-358, 1971.

NEUWEILWER, G. **The Biology of Bats**. New York: Oxford University Press, p. 310, 2000.

RAMALHO, S.A.; DARUGE, E. Importância Pericial do estudo comparativo histomorfológico do osso humano e de outros gêneros. 2000. Tese (Doutorado em Odontologia Legal e Deontologia) – Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba, 2000.

REID, F. A. Bats - Order Chiroptera. In: A Field Guide to the Mammals of Central America and Southeast Mexico. New York: Oxford University Press, p.71-172, 1997.

SILVA, L. A.M.; MARINHO-FILHO, J. Novos registros de morcegos (Mammalia: Chiroptera) na Caatinga de Pernambuco, Nordeste do Brasil. **Revista Nordestina de Zoologia**, v. 4, n. 2, p. 76-84, 2009-2010.

SIMMONS, N. B. Order Chiroptera. In: WILSON, D. E.; REEDER, D. M. (Eds.). **Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference**. 3a. ed. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 2005. v. 1, p. 312-529.

STEVENS, A.; LOWE, J. **Histologia Humana**. 2<sup>a</sup>. ed. São Paulo: Manole, 2002.

VAUGHAN, T. A. The skeletal system. In: WINSATT, W. A. **Biology of bats**. New York: Academic Press, 1970. v. 1, p.105-138.

VELAZCO, P.M.; PATTERSON, B.D. Phylogenetics and biogeography of the broad-nosed bats, genus *Platyrrhinus* (Chiroptera: Phyllostomidae). Chicago: **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 49, n. 151, p. 749-759, 2008.

WILSON, D. E; REEDER, D.M. Mammal species of the world taxonomic and geografic reference. Baltimore: **Johns Hopkins University Press**, p. 2181, 2005.

CARACTERIZAÇÃO HISTOMORFOLÓGICA E HISTOMORFOMÉTRICA DO TECIDO ÓSSEO MADURO DE *Glossophaga soricina* PHYLLOSTOMIDAE: CHIROPTERA).

HISTOMORPHOLOGIC AND HISTOMORPHOMETRIC ANALYSIS OF MATURE BONE TISSUE OF *Glossophaga soricina* (PHYLLOSTOMIDAE: CHIROPTERA).

Cibele Leandro da **COSTA** \*

Katharine Raquel Pereira dos **SANTOS** \*\*

Francisco Carlos Amanajás de **AGUIAR JÚNIOR** \*\*

<sup>\*</sup> Graduanda em Ciências Biológicas - Licenciatura, Centro Acadêmico de Vitória - Universidade Federal de Pernambuco.

<sup>\*\*</sup> Professores Doutores do Núcleo de Biologia do Centro Acadêmico de Vitória – Universidade Federal de Pernambuco.

#### Resumo

O tecido ósseo apresenta diferentes modelos de vascularização, distribuição celular, mineralização e remodelação entre os mamíferos. A variedade de hábito alimentar associado ao modo de locomoção e ao habitat, exigiu dos morcegos estabelecerem diferentes estilos de voo e algumas adaptações esqueléticas. Este trabalho objetivou analisar as características microscópicas do tecido ósseo maduro de Glossophaga soricina (Phyllostomidae: Chiroptera). Foram utilizados 14 animais de ambos os gêneros, os quais os úmeros direitos foram dissecados, pesados, descalcificados e submetidos ao processamento histológico de rotina. Cortes semi-seriados de 5 micrômetros foram corados pela técnica de Hematoxilina e Eosina (H.E.), Picrosírius Red e Nitrato de Prata a 50%. Os preparados histológicos foram submetidos à análise histológica descritiva e histomorfométrica. A média da densidade lacunar foi significantemente maior nas amostras de úmero, em corte longitudinal, de fêmeas quando comparado as de machos (33,96 x 28,57, p=0,03). A análise microscópica indicou a presença de fibras colágenas distribuídas paralelamente na matriz óssea. As apresentavam formatos variados e canalículos bem distribuídos e lacunas individualizados. Poucos sistemas e canais de havers foram observados. O tecido ósseo maduro úmero de Glossophaga soricina compartilha de características microscópicas com outros mamíferos, embora, diferenças na organização estrutural deste são peculiares à espécie.

PALAVRAS-CHAVE: Glossophaga soricina; histomorfometria; osso.

#### Abstract

Bone tissue has different models of vascularization, cellular distribution, mineralization and remodeling among mammals. A variety of dietary habits associated with the mode of locomotion and habitat, required to establish different styles of bats flying and some skeletal adaptations. This study aimed at examining the microscopic characteristics of mature bone tissue of *Glossophaga soricina* (Phyllostomidae, Chiroptera). 14 animals of both genders were used, in which the right humerus were dissected, weighed, decalcified and submitted to routine histological processing. Semi-serial cuts of 5 micrometers were stained with hematoxylin and eosin (HE), Picrosirius Red and Silver

Nitrate 50%. The histological preparations were subjected to histological analysis and histomorphometric description. Lacunae density was significantly higher in humerus longitudinal sections of females when compared to males (33.96 x28.57, p = 0.03). Microscopic analysis indicated the presence of parallel collagen fibers distributed in the bone matrix. Lacunes presented various shapes and canaliculi are well distributed and individualized. Few systems and Havers canals were observed. The mature bone tissue of the humerus *Glossophaga soricina* share microscopic features with other mammals, however, differences in the structural organization are peculiar to that species.

KEY WORDS: Glossophaga soricina; histomorphometry, bone.

#### Introdução

A família Phyllostomidae é uma das maiores em número de espécies e em diversidade ecológica dentre os morcegos da subordem Microchiroptera (ALTRINGHAM, 1998; GARDNER, 2008). Suas subfamílias apresentam uma ampla variedade de preferências alimentares com poucas espécies restritas a um regime de dieta específico. Existem espécies nectarívoras, frugívoras, insetívoras, carnívoras, onívoras e até hematófagas (GARDNER, 1977; GIMENEZ, 1993; FERRAREZZI & GIMENEZ, 1996; NEUWEILER, 2000).

Glossophaga soricina está incluída na subfamília Glossophaginae, a qual apresenta dieta nectarívora, incluindo pólen, néctar e, ocasionalmente, partes de flores, frugívora, além de fazer uso de insetos (GARDNER, 1977).

Essa espécie possui ampla distribuição por toda região neotropical. No Brasil já foi registrada em diversos estados e possui tamanho intermediário, com comprimento do corpo variando entre 45 e 61 mm, cauda entre 5 e 10 mm, antebraço entre 31,8 e 39,8 mm e peso entre 7 e 17g. (NOGUEIRA *et al*, 2007).

Alguns autores observaram que em quirópteros existe uma correlação da forma da asa sobre o estilo do voo e o hábito alimentar. BOCCHIGLIERI (2000) ressalta a importância da morfologia externa da asa na determinação do tipo de vôo em morcegos da família Phyllostomidae, afirmando ainda, que esses fatores podem determinar preferências de guildas alimentares.

LAWLOR (1973) afirma que características da estrutura das asas como: comprimento, largura, peso e posição da inserção muscular, por exemplo, influenciam no estilo de vôo e refletem o tipo de forrageio (SWARTZ & NORBERG, 1998).

Para execução do vôo pairado e as manobras em áreas de florestas densas, os morcegos nectarívoros, necessitam de modificações das estruturas esqueléticas da asa (SIMMONS, 2005). De uma forma geral, essas adaptações proporcionam superfícies para fixação adequada à musculatura, a qual também sofre grandes modificações para otimizar a locomoção aérea.

Estudos se concentram nas modificações esqueléticas da asa em morcegos. No úmero, por exemplo, a crista peitoral é bastante desenvolvida e atua como local de inserção dos músculos deltóide e peitoral, ambos envolvidos no vôo (VAUGHAN, 1970; BAKER *et al*, 1991). No entanto, poucos estudos caracterizam as estruturas microanatômicas do osso do braço e antebraço de morcegos.

O tecido ósseo é considerado como a mais importante aquisição na evolução dos tecidos de suporte em vertebrados. Permite locomoção, estoque de cálcio e outros íons, serve como reservatório de fatores de crescimento e citocinas e aloja células-tronco hematopoéticas (CLARKE, 2008).

Embora este tecido pareça metabolicamente inerte, é extremamente dinâmico e sofre controle ativo de diversos tipos celulares e hormônios (NAKASHIMA & TAKAYANAGI, 2009). É constituído de células; osteoblastos, osteócitos e osteoclastos, e de matriz extracelular calcificada. Os osteoblastos são células responsáveis pela síntese da parte orgânica da matriz óssea. Possuem prolongamentos unindo-se entre si, estes são evidentes quando a célula é envolvida pela matriz, pois são responsáveis pela formação dos canalículos que se irradiam das lacunas. A matriz óssea, adjacente aos osteoblastos ativos, ainda não calcificada recebe o nome de osteóide (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2008).

Quando aprisionados pela matriz recém sintetizada, o osteoblasto passa a ser chamado de osteócito. Estas células são pequenas, estreladas, extremamente numerosas, com longos prolongamentos citoplasmáticos e se situam em lacunas no interior da matriz. Destas lacunas partes diversos canalículos que atravessam a matriz óssea mineralizada e abrigam seus prolongamentos celulares. Há um amplo e característico sistema lacunocanalicular que permite a comunicação e contato desta célula com os outros elementos celulares presentes no tecido ósseo (QING & BONEWALD, 2009). Estes canalículos são estreitos quando comparados com o espaço lacunar que circunda o corpo celular dos osteócitos. A presença de um fluido que circula entre o sistema lacunocanalicular é considerada a principal forma de estimulação mecânica experimentada por estas células. (BURRA, NICOLELLA, JIANG, 2011). Os osteoclastos são as únicas células capazes de promover a reabsorção óssea. São células multinucleadas derivadas de precursores da linhagem mononuclear fagocitária (BOYLE, SIMONET, LACEY, 2003).

A matriz óssea é constituída por 65% de material inorgânico, constituído por cálcio e ortofosfato inorgânico na forma de hidroxiapatita, e de 35% de material orgânico (GARTNER & HIATT, 2008). A matriz orgânica é formada de cerca de 90% de colágeno, sendo majoritariamente de colágeno do tipo I, havendo ainda pequenas quantidades de colágeno do tipo III e V. Proteínas diversas como albumina sérica, glicoproteinas, proteoglicanas, fatores de crescimento perfazem cerca de 10% do total da matriz orgânica (BRODSKY & PERSIKOV, 2005; CLARKE, 2008). A estrutura

interna do osso está adaptada para suportar esforços mecânicos e modifica continuamente durante o crescimento e alteração dos esforços mecânicos funcionais. Histologicamente, o tecido ósseo pode ser classificado em primário (imaturo) e secundário (maduro). O imaturo é substituído gradativamente pelo secundário e suas fibras colágenas são organizadas irregularmente. O secundário possui lamelas que se dispõem em camadas concêntricas em torno de canais, longitudinais ou de Havers, e com a superfície externa do osso por meio de canais transversais, os canais de Volkmann, com vasos formando os sistemas de Havers (ósteons) (STEVENS & LOWE, 2002).

Os mamíferos apresentam características ósseas histológicas diferentes. No entanto apresentam em comum tecido lamelar com ósteons longitudinais, substituídos por uma intensa reconstrução haversiana (RAMALHO & DARUGE, 2000). O objetivo desse trabalho foi caracterizar a estrutura histomorfológica e realizar análise histomorfométrica do tecido ósseo maduro de *Glossophaga soricina* (Phyllostomidae: Chiroptera).

#### Material e Métodos

Foi utilizado o úmero direito de 14 espécimes de *Glossophaga soricina* previamente capturados, sacrificados (Licença- IBAMA 16070-1), classificados, pesados e fixados em formol. Os animais foram categorizados em gênero (macho e fêmea) e idade (jovem e adulto), sendo que a estimativa da idade deu-se pela verificação da ossificação entre a segunda e terceira falanges do terceiro dedo (DIETZ *et al*, 2006). O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CCB/UFPE), Processo n° 23076.020047/2009-58, de acordo com legislação e os princípios éticos vigentes.

Os úmeros dos animais selecionados foram dissecados. Os mesmos foram lavados em água corrente e imersos em solução de hipoclorito de sódio 0,5% por 24 h e após isso, novamente lavados em água corrente. O tecido ósseo obtido foi fixado em formalina neutra a 10% tamponada por 24 horas, descalcificado com ácido fórmico a 10% tamponado com citrato de sódio pH 4,5 por 14 dias, clivado, desidratado em soluções crescentes de etanol, diafanizados em xilol e incluído em parafina para posterior microtomia.

Cortes semi-seriados de 5 µm foram corados pela técnica de Hematoxilina e Eosina (H.E.), Picrosírius Red e Nitrato de Prata a 50%. Estes foram montados com balsámo do Canadá e lamínula e em seguida, ficaram em estufa à 37° por 24h totalizando 126 preparados histológicos.

Para análise histológica descritiva e morfométrica foi utilizado um microscópio óptico (Nikon E-200) acoplado a um sistema digital de captura (Moticam 2300) e o software ImageJ (NHI Program) foi utilizado na análise de 140 fotomicrografias obtidas no aumento total de 400x. As estruturas histológicas foram avaliadas e descritas levando-se em consideração o sentido do corte (longitudinal que incluía; diáfise e epífise e transversal na diáfise) para cada fragmento ósseo.

Na análise histomorfométrica foram quantificados o número e área de lacunas (osteoplastos) e número de sistemas de Havers. Após a obtenção das mensurações os valores obtidos foram analisados pelo teste t de student através do programa SPSS 15.0 considerando estatisticamente significativos os valores de p <0,05.

#### Resultados e Discussão

Dentre os 14 espécimes de *Glossophaga soricina* utilizados 7 (50%) eram machos e 7 (50%) eram fêmeas, 12 (83,72%) eram adultos e 2 (14,28%) eram jovens, sendo estes exclusivamente machos. O peso e comprimento corporal, assim como o comprimento do antebraço dos animais avaliados encontraram-se dentro dos parâmetros descritos previamente para esta espécie (NOGUEIRA *et al*, 2007).

Tipicamente, um osso consiste em tecido ósseo e outros tecidos conjuntivos. O primeiro é constituído de células e matriz calcificada. As células associadas a esse tecido são: osteoblastos, osteócitos e osteoclastos. Os osteoblastos são células que segregam tanto o colágeno tipo I quanto as proteínas da matriz óssea (parte orgânica da matriz). São responsáveis, também, pela calcificação da matriz óssea, pois são capazes de concentrar fosfato de cálcio. Estas foram reconhecidas pela sua basofilia e forma poligonal, além da sua disposição em uma camada de células situada em aposição ao periósteo e ao osso em formação (Figura 1). A matriz recém depositada não é imediatamente calcificada, esta recebe o nome de osteóide e à medida que ocorre sua deposição os osteoblastos são circundados e, em seguida, transforma-se em osteócitos. Frequentemente, aquelas células não são evidenciadas ou mostram-se distorcidas, pois

resultam do processo de descalcificação da matriz (Figura 2) (ROSS & WOJCIECH, 2008).

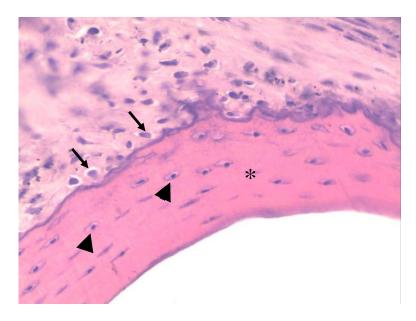


Figura 1. Fotomicrografia do corte transversal do úmero de *Glossophaga soricina*. Osteoblastos ativos basófilos e poligonais (setas) dispostos próximos à matriz calcificada (asterisco), em seguida, diferenciando-se em osteócitos, localizados nas lacunas (cabeça da seta). Hematoxilina e Eosina. Aumento de 400 x.

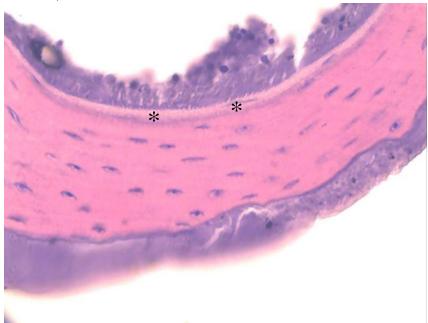


Figura 2. Fotomicrografia do corte transversal do úmero de *Glossophaga soricina*. Osteóide (asteriscos) .Hematoxilina e Eosina. Aumento de 400 x.

Quando totalmente circundados por osteóide, os osteoblastos são referidos como osteócitos. Estas são as células responsáveis por manter a matriz óssea e pela mecanotransdução, na qual o osteócito responde as forças mecânicas aplicadas ao osso. Estão situados em lacunas, espaço que se adapta ao formato da célula, no interior da matriz e exibem prolongamentos unindo-se entre si, estes permitem a comunicação entre as células vizinhas do tecido ósseo e são evidentes quando a célula é envolvida pela matriz, pois são responsáveis pela formação dos canalículos que se irradiam das lacunas. Morfologicamente, se caracterizam por serem células achatadas, exibindo pouca quantidade de retículo endoplasmático granular, menos basofilia citoplasmática que os osteoblastos, aparelho de Golgi pequeno e núcleo com cromatina condensada. A morte dos osteócitos resulta em absorção da matriz óssea por atividade dos osteoclastos, células móveis, gigantes, extensamente ramificadas e multinucleadas e que não foram observadas nas lâminas analisadas. (GARTNER & HIATT, 2008; ROSS & WOJCIECH. 2008).

Evidenciaram-se fibras colágenas ricamente distribuídas no osteóide. Na matriz mineralizada, estas fibras mostraram-se dispostas paralelamente entre si nos cortes transversais e longitudinais (Figuras 3). Este arranjo organizado das fibras permite um incremento na força de resistência óssea e é característico no tecido ósseo lamelar em mamíferos (GARTNER & HIATT, 2008). Houve uma maior concentração de fibrilas em torno das lacunas, particularmente naquelas que se situavam muito próximas entre si (Figuras 4).

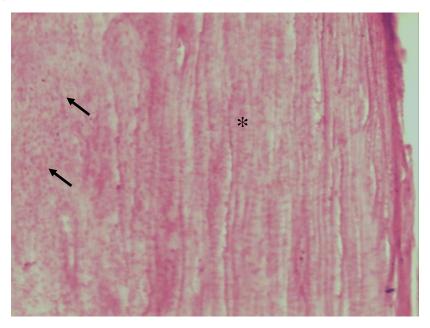


Figura 3. Fotomicrografia do corte transversal do úmero de *Glossophaga. soricina*. Distribuição das fibras no sentido transversal (asterisco) e longitudinal (setas). Picrosírius Red. Aumento de 400 x.

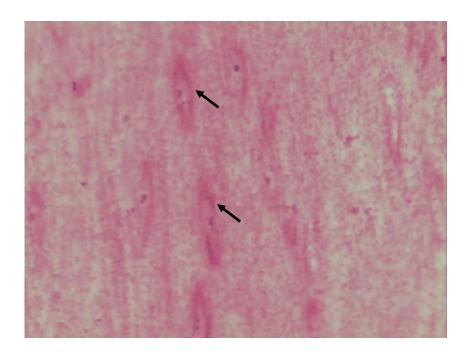


Figura 4. Fotomicrografia do corte transversal do úmero de *Glossophaga soricina*. Lacunas elípticas com alta concentração de fibrilas em torno destas (setas). Picrosírius Red. Aumento de 400 x.

A técnica histoquímica com nitrato de prata para tecido ósseo descalcificado, descrita por OCARINO *et al* (2006) permitiu melhor visualização e delimitação das lacunas cujas bordas foram fortemente impregnadas, assim como os canalículos que visualmente apresentaram-se escurecidos. Os preparados histológicos a partir desta técnica foram os utilizados neste estudo para a mensuração das estruturas microscópicas da matriz óssea mineralizada.

As lacunas apresentaram-se com formatos variados, tendo predominância o elíptico, e diversos canalículos irradiando destes (Figura 5). Tanto nos cortes transversais como nos cortes longitudinais, os canalículos mostraram-se longos, numerosos e altamente conectados, apresentando trajetos distintos pela matriz óssea (Figura 6).

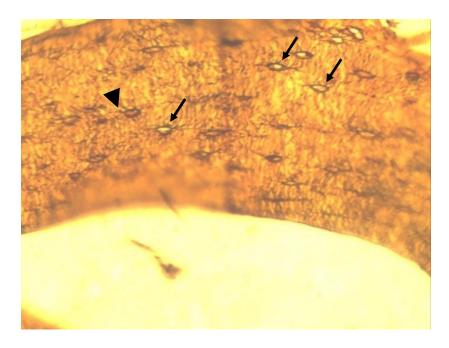


Figura 5. Fotomicrografia do corte transversal do úmero de Glossophaga soricina. Lacunas elípticas (setas) e canalículos no sentido transversal (cabeça da seta). Nitrato de prata. Aumento de  $400 \, \mathrm{x}$ .

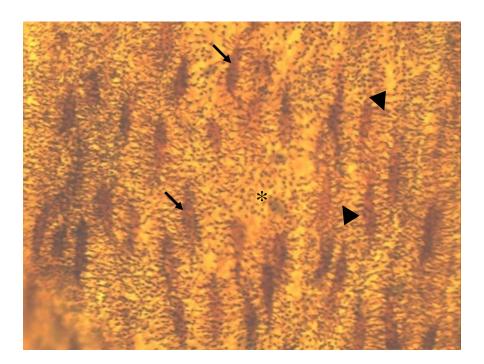


Figura 6. Fotomicrografia do corte transversal do úmero de *Glossophaga soricina*. Lacunas elípticas (setas) e canalículos no sentido do corte (cabeças da seta) e longitudinal (asterisco). Nitrato de prata. Aumento de 400 x.

Escassos sistemas e canais de Havers foram visualizados nos tecidos analisados. Isso pode ser justificado pela disposição organizada das fibras colágenas que confere uma maior resistência óssea. Quando identificados, as lacunas se organizavam concentricamente em torno de um canal central que variava de elíptico a arredondado, organizados entre lamelas irregulares que variavam de espessura, de delgada a espessa (Figura 7 e 8). Encontrou-se um padrão característico dessas lamelas dispostas subjacentes ao endósteo e periósteo. O periósteo apresentou-se caracteristicamente composto de duas camadas; camada fibrilar ou externa, composta de tecido conjuntivo não-modelado e camada celular ou interna, formada por células osteoprogenitoras (Figura 9). Uma diminuta espessura microscópica das tábuas ósseas compactas nos úmeros avaliados foi observada, no entanto, proporcional ao tamanho e peso destes. Visto que G. soricina apresenta hábito alimentar nectarívoro e estilo de vôo pairado com alto gasto energético, exigindo uma simplificação da musculatura da asa (FINDLEY, 1972). Neste contexto, os ossos destes animais estão expostos a diferentes forças mecânicas e aquisições minerais, constituindo importantes fatores na organização, tamanho, peso e metabolismo ósseo.

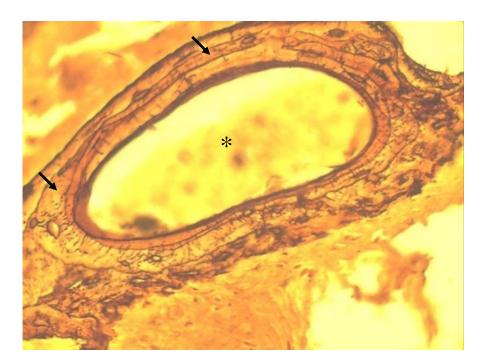


Figura 7. Fotomicrografia do corte longitudinal do úmero de *Glossophaga soricina*. Canal de Haver elíptico (asterisco) entre lamelas de espessura irregular (setas). Nitrato de prata. Aumento de 400 x.

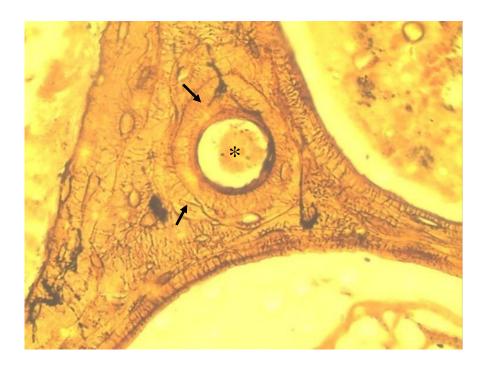


Figura 8. Fotomicrografia do corte longitudinal do úmero de *Glossophaga soricina*. Canal de Haver arredondado (asterisco) circundado por lamelas de disposição irregular (setas). Nitrato de prata. Aumento de 400 x.

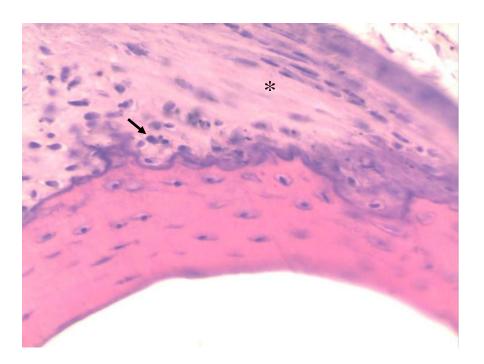


Figura 9. Fotomicrografia do corte transversal do úmero de *Glossophaga soricina*. Visualização do periósteo (seta) e suas camadas: Externa (seta) e Interna (asterisco). Hematoxilina e Eosina. Aumento de 400 x.

Os sistemas de Havers, comumente encontrados na diáfise dos ossos longos, são construídos ao redor de vasos e sua formação depende dos avanços da organização vascular intracortical (PAZZAGLIA *et al*, 2010). A nutrição dos ossos avaliados deve depender do complexo vascular contido no periósteo e endósteo do que da presença direta de vasos intracorticais. Além disso, dada as características adaptativas funcionais de vôo peculiares à espécie, a formação de ósteons na diáfise dos úmeros de *Glossophaga soricina* pode não constituir uma característica microscópica estrutural importante.

Observamos diferenças entre os gêneros nas diversas variáveis histomorfométricas analisadas (Tabela 1). No entanto, estas diferenças foram somente estatisticamente significativas na quantificação de lacunas nos cortes histológicos realizados longitudinalmente ao longo eixo do osso. A incidência do corte na contagem de lacunas é um fator que deve ser considerado em análises histomorfométricas bidimensionais. Lacunas grandes ou orientadas no eixo do corte têm sido relatadas com maior probabilidade de serem incluídas na secção (QUIU *et al*, 2005; TONAR *et al*, 2011).

Tabela 1. Análise histomorfométrica das estruturas microscópicas presentes na matriz óssea do úmero de *Glossophaga soricina*.

Variáveis	Geral Média (desvio- padrão)	Fêmeas Média (desvio- padrão)	Machos Média (desvio- padrão)	Valor de p*
Lacunas (Área) Lacunas (Número)	35,04 ( <b>19,62</b> )	34,4 (20,75)	35,6 (18,43)	0,86
Longitudinal	31,2 ( <b>11,44</b> )	33,96 ( <b>12,4</b> )	28,57 ( <b>9,93</b> )	0,03
Transversal	44,89 <b>(22,11)</b>	48,57 ( <b>26,57</b> )	40,6 ( <b>14,71</b> )	0,14
Canais de Havers	0,45 (0,82)	0,57 ( <b>0,88</b> )	0,34 ( <b>0,78</b> )	0,25

A densidade lacunar constitui indicador útil do metabolismo ósseo, visto que reflete o índice de proliferação dos osteoblastos, transformação e incorporação destes na matriz como osteócitos durante o crescimento. Desta forma, uma maior densidade lacunar é encontrada em animais com alto metabolismo e que apresentam menor massa corporal (BROMAGE *et al*, 2009). De forma geral, observamos uma maior densidade lacunar nos cortes histológicos dos úmeros de *Glossophaga soricina* fêmeas. Além disso, estes

apresentavam, em média, massa corporal superior aos dos machos (Tabela 2). Este fato pode indicar uma maior atividade metabólica óssea das fêmeas avaliadas (RALLS, 1976). O maior peso corpóreo pode indicar uma maior carga funcional do tecido, assim, justificando um maior número de lacunas. Visto que em morcegos, as fêmeas costumam carregar os filhotes, logo após o nascimento, em vôos de atividade noturna, enquanto os machos usualmente não participam do cuidado parental (ALTRINGHAM, 1998; NEUWEILER, 2000).

Tabela 2. Caracterização e análise de variáveis anatômicas dos espécimes de *Glossophaga soricina* analisados.

Variáveis	Geral Média (desvio- padrão)	Fêmeas Média (desvio- padrão)	Machos Média (desvio- padrão)	Valor de p*
Peso Corporal (g)	8,8 ( <b>0,83</b> )	9,27 ( <b>0,78</b> )	8,31 ( <b>0,59</b> )	0,02
Comprimento Total (mm)	55,02 ( <b>3,59</b> )	54,5 ( <b>3,9</b> )	55,4 ( <b>3,49</b> )	0,65
Comprimento do Antebraço (mm)	34,9 <b>(1,57)</b>	35,77 ( <b>0,72</b> )	34,03 <b>(1,75)</b>	0,03

Além disso, em humanos, o número de osteócitos aferido pela contagem de suas lacunas é aumentado em mulheres quando comparado com homens de mesma faixa etária. No entanto, a deposição de matriz extracelular é inversamente proporcional ao aumento destas (MULLENDER, 2005). Uma maior densidade lacunar reduz o volume de matriz extraterritorial associado a cada osteócito (VASHISHTH, GIBSON, FYHRIE, 2005). Observou-se, também, que há variabilidade entre machos e fêmeas na área lacunar, onde a dos machos mostrou-se significativamente maior que a das fêmeas. Receptores de membrana para estrógeno foram identificados em osteócitos e em osteoblastos, e diferenças na expressão destes receptores foram encontradas entre os gêneros (BATRA *et al*, 2003). Em morcegos, assim como em humanos, a diferença observada na densidade lacunar pode indicar uma regulação gênero-dependente do metabolismo, nutrição, e manutenção da matriz extracelular.

Estudos futuros na organização e principalmente na organização do tecido ósseo nas diversas espécies de morcegos irão contribuir no entendimento das diferenças morfológicas e funcionais adaptativas destes mamíferos.

#### Conclusões

O tecido ósseo maduro do úmero de *Glossophaga sorcina* apresentou características histológicas similares ao relatado em outros mamíferos. No entanto, poucos sistemas e canais de Havers foram encontrados nos espécimes avaliados. Diferenças significativas no número de lacunas foram observadas entre os gêneros (machos e fêmeas), as mesmas não foram observadas nas áreas das lacunas.

#### Referências Bibliográficas

ALTRINGHAM, J. D. *Bats: Biology and Behaviour*. New York: Oxford University Press, p. 262, 1998.

BAKER, R. J.; NOVACEK, M. J.; SIMMONS, N. B. On the monophyly of bats. *Systematic zoology*, v. 40, n. 2, p. 216-231, 1991.

BATRA, G. S.; HAINEY, L.; FREEMONT, A. J.; ANDREW, G.; SAUNDERS, P. T.; HOYLAND, J. A.; BRAIDMAN, I. P. Evidence for cellspecific changes with age in expression of oestrogen receptor (ER) alpha and beta in bone fractures from men and women. *The Journal of Pathology*, v. 200, p. 65-73, 2003.

BOCCHIGLIERI, A. Caracterização do vôo e ecomorfologia alar de uma comunidade de morcegos (Mammalia: Chiroptera) do Jardim Botânico de Brasília, D.F. 2000. 49 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia) – Universidade de Brasília, Brasília, 2000.

BOYLE, W. J.; SIMONET, W. S.; LACEY, D.L. Osteoclast differentiation and activation. *Nature*, v. 423, p. 337-342, 2003.

BRODSKY, B.; PERSIKOV, A.V. Molecular structure of the collagen triple helix. *Advances in protein chemistry*, v. 70, p. 301-339, 2005.

BROMAGE, T. G.; LACRUZ, R. S.; HOGG, R.; GOLDMAN, H. M.; MCFARLIN, S. C.; WARSHAW, J.; DIRKS, W.; PEREZ-OCHOA, A.; SMOLYAR, I.; ENLOW, D.

H.; BOYDE, A. Lamellar Bone is an Incremental Tissue Reconciling Enamel Rhythms, Body Size, and Organismal Life History. *Calcified Tissue International*, v. 84, p. 388-404, 2009.

BURRA, S.; NICOLELLA, D. P.; JIANG, J. X. Dark horse in osteocyte biology: Glycocalyx around the dendrites is critical for osteocyte mechanosensing. *Communicate & Integrative Biology*, v. 4, n. 1, p. 48-50, 2011.

CLARKE, B. Normal Bone Anatomy and Physiology. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, v. 3, n. supplement 3. Nov. 2008.

DIETZ, C.; C. DIETZ, I.; SIEMER, B. M. Growth of horseshoe bats (Chiroptera: Rhinolophidae) in temperate continental conditions and the influence of climate. *Mammalian Biology*, v. 72, n. 3, p. 129-144. Jun. 2006.

FERREREZZI, H.; GIMENEZ, E. A. (1996). Systematic patterns and evolution of feeding habits in Chiroptera (Archonta: Mammalia). *Journal of Comparative Biology*, v. 1, n. 3/4, p. 75-94, 1996.

FINDLEY, J. S.; STUDIER, E. H.; WILSON, D. E. Morphologic properties of bat wings. *Journal of Mammalogy*, v. 53, n. 3, p. 429-444, 1972.

GARDNER, A. L. Feeding habits. In: BAKER, R. J.; JONES-JUNIOR, K. J.; CARTER, D. C. (Ed.). Biology of Bats of the New World Family Phyllostomatidae. Part II. Texas: *Special Publications the Museum Texas Tech University*, 1977. p. 293-350.

GARDNER, A. L. Order Chiroptera. *In:* GARDNER, A. L. (Ed.). Mammals of South America. Volume 1: Marsupials, Xenarthrans, Shrews, and Bats. Chicago and London: *The University of Chicago Press*, 2008. p. 669.

GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. *Tratado de histologia*. 3<sup>a</sup>. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

GIMENEZ, E. A. Morfologia lingual comparada, filogenia e evolução dos hábitos alimentares na superfamília Phyllostomoidea (Mammalia: Chiroptera). 1993. 150 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas - Zoologia) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 1993.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. *Histologia Básica*, 11<sup>a</sup>. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

LAWLOR, T. E. Aerodynamic characteristics of some neotropical bats. *Journal of Mammalogy*, v. 54, n. 1, p. 71-78, 1973.

MULLENDER, M. G.; TAN, S. D.; VICO, L.; ALEXANDRE, C.; KLEIN-NULEND, J. Differences in osteocyte density and bone histomorphometry between men and women and between healthy and osteoporotic subjects. *Calcified Tissue International*, v. 77, n. 5, p. 291-296. Nov. 2005.

NAKASHIMA, T.; TAKAYANAGI, H. Osteoclasts and the immune system. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, v. 27, p. 519–529, 2009.

NEUWEILER, G. Echolocation. In: *The Biology of Bats*. New York: Oxford University Press, 2000. p. 140-209.

OCARINO, N. M; GOMES, M. G.; MELO, E. G.; SERAKIDES, R. Técnica histoquímica aplicada ao tecido ósseo desmineralizado e parafinado para o estudo do osteócito e suas conexões. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 42, n. 1, p. 37-39, 2006.

PAZZAGLIA, U. E.; ZARATTINI, G.; GIACOMINI, D.; RODELLA, L.; MENTI, A. M.; FELTRIN, G. Morphometric analysis of the canal system of cortical bone: An experimental studyin the rabbit femur carried out with standard histology and micro-CT. *Anatomia, Histologia, Embryologia*, v. 39, n. 1, p. 17-26, 2010.

QING, H.; BONEWALD, L. F. Osteocyte remodeling of the perilacunar and pericanalicular matrix. *International Journal of Oral Science*, v. 1, n. 2, p. 59-65, 2009.

QIU, S.; RAO, D. S.; FYHRIE, D. P.; PALNITKAR, S.; PARFITT, A. M. The morphological association between microcracks and osteocyte lacunae in human cortical bone, *Metabolic Bone Disease & Related Research*, v. 37, p. 10-15, 2005.

RALLS, K. Mammals in which females are larger than males. *Quarterly Review of Biology*, v. 51, p. 245-276. Jun. 1976.

RAMALHO, S.A.; DARUGE, E. *Importância Pericial do estudo comparativo histomorfológico do osso humano e de outros gêneros*. 2000. Tese (Doutorado em Odontologia Legal e Deontologia) — Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba, 2000.

ROSS, M. H.; WOJCIECH, P. *Histologia: Texto e atlas*. Em correlação com a biologia celular e molecular. 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

NOGUEIRA, M. R.; DIAS, D.; PERACCHI, A. L. Subfamília Glossophaginae. In: REIS, N. R (Ed). *Morcegos do Brasil*. Londrina, 2007. p. 45.

SIMMONS, N. B. Order Chiroptera. In: WILSON, D. E.; REEDER, D. M. (Eds.). *Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference*. 3<sup>a</sup>. ed. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 2005. v. 1, p. 312-529.

STEVENS, A.; LOWE, J. Histologia Humana. 2ª. ed. São Paulo: Manole, 2002.

SWARTZ, S. M.; NORBERG, U. M. Part Two: Functional morphology. In: KUNZ, T. H.; RACEY, P. A. *Bat biology and conservation*, Washington and London: Smithsonian Institution Press, 1998. v. 1, p. 91-92.

TONAR, Z.; KHADANG, I.; FIALA, P.; NEDOROST, L.; KOCHOVÁ, P. Quantification of compact bone microporosities in the basal and alveolar portions of the

human mandible using osteocyte lacunar density and area fraction ofvascular canals. *Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger*, v. 193, n. 3, p. 211-219, 2011.

VASHISHTH, D.; GIBSON, G. J.; FYHRIE, D. P. Sexual dimorphism and age dependence of osteocyte lacunar density for human vertebral cancellous bone. *The anatomical record. Part A, Discoveries in molecular, cellular, and evolutionary biology*, v. 282, n. 2, p. 157-62. Feb. 2005.

VAUGHAN, T. A. The skeletal system. In: WINSATT, W. A. *Biology of bats*. New York: Academic Press, 1970. v. 1, p.105-138.

## **ANEXO**

Normas para submissão de trabalhos na revista Ciência Animal Brasileira.

#### Normas da revista:

Os trabalhos podem ser redigidos em português, inglês ou espanhol. Os textos devem ser organizados da seguinte forma:

- 1- **Título**;
- 2- nomes dos autores (por extenso);
- 3- filiação científica (informar departamento, instituto ou faculdade, universidade, CEP,cidade, estado país e e-mail) Atenção: os nomes de todos os autores do trabalho devem ser cadastrados nos campos apropriados na hora da submissão, e retirados do arquivo para preservar o sigilo editorial;
- 4- **Resumo** (na língua principal do texto e **Abstract** (em inglês), com um máximo de 200 palavras);
- 5- **Palavras-chave** (máximo de cinco, apresentadas na língua do texto e em inglês **Keywords**);
- 6- Introdução;
- 7- Material e Métodos;
- 8- Resultados e Discussão (separados se necessário);
- 9- Conclusões:
- 10- Agradecimentos (se necessário);
- 11- **Referências**, em ordem alfabética pelo sobrenome do primeiro autor, seguindo a NBR 6023, da ABNT.

A revista Ciência Animal Brasileira sugere que o número máximo de autores por artigo seja de 6 (seis). Artigos com número superior a 6 (seis) serão considerados exceções e avaliados pelo Conselho Editorial e, se necessário, solicitada a correção. O não-atendimento de tal proposta pode implicar em recusa de sua publicação.

Artigos do tipo Nota Científica, Relato de Caso e similares não estão sendo aceitos para submissão. Artigos de Revisão de Literatura somente serão publicados quando solicitados por convite do Conselho Editorial.

A utilização de referências a partir de resumos simples ou expandidos e trabalhos completos em anais de eventos é, em muitas ocasiões, de difícil recuperação. Solicitamos que os autores reduzam ao máximo o número desse tipo de citação e,

quando o fizer, obrigatoriamente, citem as páginas eletrônicas para recuperação desses documentos.

Com relação às teses, dissertações, monografias e documentos semelhantes também deve ser seguido o mesmo procedimento, pois existe o cadastro nacional de teses da CAPES e os bancos locais das universidades que publicam esses documentos no formato .pdf. Documentos dessa natureza com mais de cinco anos de conclusão costumam ser de dificil resgate. Além do mais, costumam gerar artigos em revistas científicas e técnicas, cujo acesso, normalmente, é mais fácil.

Solicita-se, também, priorizar referências de periódicos, e não de livros-texto.

O editor científico pode solicitar essas informações no momento de sua editoração. Seu atendimento agilizará a sua publicação. O processo de resgate fácil das informações é o ponto principal de uma referenciação bibliográfica, técnica ou eletrônica.

### Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

- A contribuição é original, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista.
- 2. Os arquivos para submissão estão em formato Microsoft Word, OpenOffice ou RTF (desde que não ultrapasse os 2MB). No arquivo da submissão, excluir apenas os nomes e identificação dos autores, todos os outros elementos (título em português e em inglês, resumo, palavras chave, abstract e key words) devem permanecer no arquivo. O preenchimento do cadastro inclui todos os autores envolvidos (máximo de 6 autores), selecionando o contato principal. Atentar para o item 6 destas normas.
- 3. Todos os endereços de URLs no texto (Ex.: <a href="http://www.ibict.br">http://www.ibict.br</a>) estão ativos e prontos para clicar.

- 4. O texto está em espaço 1,5 com linhas numeradas; usa uma fonte de 12-pontos Times New Roman; emprega itálico ao invés de sublinhar (exceto em endereços URL); com figuras e tabelas inseridas no texto, e não em seu final.
- 5. O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos descritos em **Diretrizes para Autores**, na seção Sobre a Revista.
- 6. A identificação de autoria deste trabalho foi removida do arquivo e da opção Propriedades no Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista, caso submetido para avaliação por pares (ex.: artigos). Os nomes de TODOS os autores, com sua respectiva identificação institucional, foi cadastrada nos metadados da submissão, usando a opção incluir autor. Em caso de citação de autores, "Autor" e ano são usados na bibliografia, ao invés de Nome do autor, título do documento, etc.

#### Catalogação na fonte Sistema de Bibliotecas da UFPE - Biblioteca Setorial do CAV

#### C837c Costa, Cibele Leandro da.

Caracterização histomorfológica e histomorfométrica do tecido ósseo maduro de Glossophaga soricina (Phtllostomidae: Chiroptera) / Cibele Leandro da Costa. Vitória de Santo Antão: O autor, 2011.

vi, 40 folhas: il; tab.; fig.

Orientador: Francisco Carlos Amanajás de Aguiar Júnior. Co-orientador: Katharine Raquel Pereira Santos.

TCC (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, CAV. Licenciatura em Ciências Biológicas, 2011.

Inclui bibliografia e Anexos.

1. Histologia. 2. Morcegos - Caracterização histomorfológica. 3. Morcegos - Caracterização histomorfométrica. 4. Glossophaga soricina (Phtllostomidae: Chiroptera). II. Aguiar Júnior, Francisco Carlos Amanajás de. III. Santos, Katharine Raquel Pereira. III. Título.

611.01 CDD (21.ed.)

**BIBCAV/UFPE-031/2011** 

CRB-4/1148