

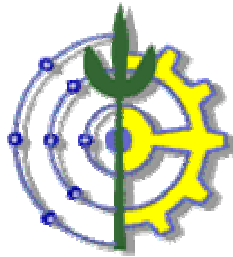
UFRRJ
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA
ANIMAL

TESE

ESTUDO HISTOLÓGICO, MORFOMÉTRICO E
ESTEREOLÓGICO DO PÂNCREAS ENDÓCRINO EM
MORCEGOS COM DIFERENTES HÁBITOS
ALIMENTARES

CLARICE MACHADO DOS SANTOS

2011



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

**Estudo histológico, morfométrico e estereológico do
pâncreas endócrino em morcegos com diferentes hábitos
alimentares.**

CLARICE MACHADO DOS SANTOS

Sob a orientação do professor
Armando Sales

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

Seropédica, RJ
Maio, 2011

599.4
S237e
T

Santos, Clarice Machado dos, 1980-
Estudo histológico, morfométrico e
estereológico do pâncreas endócrino em
morcegos com diferentes hábitos alimentares
/ Clarice Machado dos Santos - 2011.
44 f.: il.

Orientador: Armando Sales.

Tese(doutorado) - Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós-
Graduação em Biologia Animal.

Bibliografia: f. 37-44.

1. Morcego - Morfologia - Teses. 2.
Morcego - Alimentos - Teses. 3. Morcego -
Histologia - Teses. I. Sales, Armando, 1945-
. II. Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro. Programa de Pós-Graduação em
Biologia Animal. III. Título.

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

CLARICE MACHADO DOS SANTOS

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em de Biologia Animal, área de Concentração em Histologia.

TESE APROVADA EM 04/05/2011

Prof. Dr. Armando Sales
UFRRJ

Prof. Dra. Nadja Lima Pinheiro
UFRRJ

Prof. Dra. Simone Florim da Silva.
UFF

Prof. Dra. [Lycia de Brito Gitirana](#)
UFRJ

Prof. Dra. Rosa Maria Marcos Mendes
UFRRJ

"Se você tem a coragem de deixar para trás tudo que lhe é familiar e confortável e embarcar numa jornada em busca da verdade (para dentro e para fora), e se você tem a vontade de considerar o que acontece nessa jornada como uma dádiva, e se você aceitar cada um que encontre em seu caminho como professor, e se estiver preparada, acima de tudo, para encarar (e perdoar) algumas realidades bem difíceis para você... então a verdade não lhe será negada"

AGRADECIMENTOS TÉCNICOS

A Jefferson Simanas Mikalauskas e Patrício Adriano da Rocha pela coleta dos quirópteros aqui estudados.

A Júlio César Fraulob Aquino do Laboratório de Morfometria e Morfologia Cardiovascular- UERJ, pela colaboração nas análises estereológicas.

A técnica Ilza Lucas Coelho Meirelles pelo auxílio na microtomia e nas técnicas histológicas.

A CAPES pela bolsa de doutorado concedida.

BIOGRAFIA

Clarice Machado dos Santos, filha de Valdério 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 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 o mesmo em 2004, sob orientação do Prof. Dr. Armando Sales. Ingressou no curso de Pós-graduação em Biologia Animal (nível mestrado) em março 2005 e teve sua dissertação defendida em março de 2007. De maio de 2007 a agosto de 2008, exerceu o cargo de professor Assistente da Área de Histologia e Embriologia na UFRRJ. Ingressou no Doutorado no curso de Pós-graduação em Biologia Animal em Julho de 2008. Durante este período, tem submetido trabalhos e resumos para publicação em revistas científicas, anais de congressos e conferências. Em Abril de 2010 foi aprovada em concurso público no departamento de morfologia da Universidade Federal Fluminense onde leciona as disciplinas de histologia e embriologia para diversos cursos de graduação. Em fevereiro de 2011, prestou Concurso Público para o Magistério Superior da Universidade Federal da Bahia para a disciplina Histologia, com ênfase em Embriologia Veterinária, tendo sido aprovada em primeira colocação e aguarda convocação para início das atividades.

RESUMO

SANTOS, Clarice Machado dos. Estudo histológico, morfométrico e estereológico do pâncreas endócrino em morcegos com diferentes hábitos alimentares. 2011. 50 p. Tese. (Doutorado em Biologia Animal). Instituto de Biologia, Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2011.

Este trabalho visou estudar o pâncreas endócrino de morcegos com diferentes hábitos alimentares (hematófago *D. ecaudata*, nectarívoro *A. geoffroyi* e insetívoro *P. personatus*), através de análise histológica, morfométrica e estereológica. Foram utilizados ao todo seis animais de cada grupo, coletados na caverna casa de Pedra (Sergipe). O pâncreas foi processado através das técnicas histológicas de rotina para inclusão em parafina. Histologicamente, foram identificados os componentes exócrinos (ácinos secretores e seus ductos associados) e endócrinos (ilhotas pancreáticas) do pâncreas. Foram observadas células imunoreativas (IR) à insulina, glucagon e somatostatina espalhadas isoladamente no pâncreas exócrino e, na região de tecido conjuntivo próximo aos ductos pancreáticos, foram identificadas células IR à insulina, glucagon e somatostatina. Células com a presença de processos citoplasmáticos foram visualizadas nas ilhotas. A massa de tecido pancreático total sobre a massa corporal não ultrapassa a relação de 0,6%, sendo esta relação maior nos morcegos insetívoros (0,6%) e menor nos morcegos nectarívoros (0,3%). O diâmetro das ilhotas variou entre as espécies sendo de 88,16 μm no morcego nectarívoro, de 56,94 μm no morcego hematófago e de 40,47 μm no morcego insetívoro. A análise estereológica mostrou uma densidade de volume (V_v) do pâncreas endócrino de 3,4% no morcego insetívoro, 6,1% no morcego nectarívoro e de 4,1% no morcego hematófago. A massa das ilhotas foi de 0,15 no morcego insetívoro, 0,24 no morcego nectarívoro e 0,48 no morcego hematófago. A densidade de volume das células α foi de (25,8%, 14,7, 16,2%), células β (35,5%, 8,7%, 54,8%) e células δ (3,9%, 6,2%, 14,3%) nos morcegos *P. personatus*, *A. geoffroyi* e *D. ecaudata*, respectivamente. As diferenças observadas entre espécies nos diversos parâmetros analisados podem refletir diferenças inter-específicas, assim como adaptações morfológicas das espécies aos seus hábitos alimentares.

Palavras chave: Morcegos, ilhotas pancreáticas, estereologia.

ABSTRACT

SANTOS, Clarice Machado dos. Histological, morphometric and stereologic study of the endocrine pancreas in bats with different feeding habits. 2011. 50 p. Tese. (Doutorado em Biologia Animal). Instituto de Biologia, Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2011.

The aim of this work was study endocrine pancreas of bats with different feeding habits (hemataphagous *D. ecaudata*, nectarivorous *A. Geoffroyi* and insetivorous *P. personatus*) by histological, morphometric and stereological methods. Six animals was used in each group and they were collected in the caverna casa de Pedra (Sergipe). The pancreas was processed through routine histological techniques for paraffin embedding. Histologically, components of the exocrine pancreas (acini and their secretory ducts associated) and endocrine pancreas (pancreatic islet) were identified. Immunoreactive cells (IR) to insulin, glucagon and somatostatin were found isolated scattered in the exocrine pancreas and, in the tissue near the pancreatic ducts. It was also identified IR cells to insulin, glucagon and somatostatin. In the pancreatic islets, it was to indentifided cells with cytoplasmic processes. The total mass of pancreatic tissue in body weight does not exceed 0.6% and this relationship was higher in the insectivorous bats (0.6%) and lowest in nectarivorous bats (0.3%). The pancreatic islets diameter varied between species, being 88.16 μm in the nectararivorous bat, in the vampire bat at 56.94 μm and 40.47 μm in the insectivorous bat. The stereological analysis showed a volume density (Vv) of the endocrine pancreas of 3.4% in the insectivorous bat, 6.1% in the nectarivorous bat and 4.1%. in the vampire bat. The islet mass was 0.15 in the insectivorous bat, 0.24 in the nectarivorous bat and 0.48 in the vampire bat. The volume density of α cells was (25.8%, 14.7, 16.2%), β cells (35.5%, 8.7%, 54.8%) and δ cells (3.9 %, 6.2%, 14.3%) in the *P. personatus*, *A. geoffroyi* and *D. ecaudata* bats, respectively. The differences observed between species in the various parameters analyzed may reflect inter-specific differences, as well as morphological adaptations of species to their eating habits.

Key words: Bats, pancreatic islets, stereology

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	01
OBJETIVOS	03
Objetivos gerais	
Objetivos específicos	
REVISÃO DE LITERATURA	04
1 Os Quirópteros	04
2 O Pâncreas	08
2.2. O pâncreas endócrino	09
3 Hormônios produzidos pelas células endócrinas das ilhotas pancreáticas	
3.1 Glucagon	10
3.2 Somatostatina	11
3.3 Insulina	11
MATERIAIS E MÉTODOS	
1 Captura dos morcegos e coleta do material	13
2 Antisoros e reagentes	13
3 Imuno-histoquímica	14
4 Morfometria e Estereologia	14
RESULTADOS	16
DISCUSSÃO	31
CONCLUSÃO	36
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37

Índice de Figuras

Figura 1. a. Espécime de <i>Diphylla ecaudata</i>	05
b. Localização geográfica de <i>Diphylla ecaudata</i>	
Figura 2. a. Espécime de <i>Pteronotus personatus</i> .	06
b. Localização geográfica de <i>P. personatus</i> .	
Figura 3. a. Espécime de <i>A. geoffroyi</i>	07
b. Localização geográfica de <i>A. geoffroyi</i>	
Figura 4. Desenvolvimento pancreático em humanos	09
Figura 5. Imagem gerada por computador, com seis moléculas de insulina montada em um hexamero, destacando a tripla simetria .	12
Figura 6. Ilustração do sistema teste composto por 36 pontos.	
Figura 7. Fotomicrografia de corte transversal de pâncreas de <i>D. ecaudata</i> .	17
Figura 8. Fotomicrografia de corte transversal de pâncreas de <i>D. ecaudata</i> .	18
Figura 9. Fotomicrografia de corte transversal de pâncreas de <i>P. personatus</i> .	18
Figura 10. Fotomicrografia de corte transversal de pâncreas de <i>D. ecaudata</i> com ducto pancreático principal.	18
Figura 11. Fotomicrografia de corte transversal de pâncreas de <i>D. ecaudata</i> com ducto pancreático principal.	19
Figura 12. Fotomicrografia de corte transversal do pâncreas.	20
Figura 13. Fotomicrografia do pâncreas de <i>P. personatus</i> .	24
Figura 14. Fotomicrografia do pâncreas de <i>P. personatus</i> .	25
Figura 15. Fotomicrografia de pâncreas de <i>A. geoffroyi</i> .	26
Figura 16. Fotomicrografia de células IR ao glucagon do pâncreas de <i>D. ecaudata</i> .	28
Figura 17. Fotomicrografia de células IR a insulina do pâncreas de <i>D. ecaudata</i> .	28
Figura 18. Fotomicrografia de células IR a somatostatina.	29
Figura 19. Fotomicrografia do pâncreas de <i>D. ecaudata</i> .	30
Figura 20. Fotomicrografia do pâncreas de <i>D. ecaudata</i> .	30

Índice de gráficos

Gráfico 1 Relação entre o peso do pâncreas e o peso do animal.	16
Gráfico 2 Gráfico com diâmetro das ilhotas pancreáticas.	20
Gráfico 3 Número total de ilhotas em morcegos insetívoros, nectarívoros e hematófagos.	21
Gráfico 4 Gráfico de densidade de volume de ilhotas em morcegos insetívoros, nectarívoros e hematófagos.	22
Gráfico 5 Gráfico de massa de ilhotas no tecido pancreático total em morcegos insetívoros, nectarívoros e hematófagos.	23
Gráfico 6 Imunodensidade de células alfa, beta e delta do morcego insetívoro <i>P. personatus</i> .	24
Gráfico 7 Imunodensidade de células alfa, beta e delta do morcego nectarívoro <i>A. geoffroy</i> .	26
Gráfico 8 Imunodensidade de células alfa, beta e delta do morcego hematófago <i>D. ecaudata</i> .	27

Introdução

Os morcegos são mamíferos placentários pertencentes à ordem Chiroptera, composta por aproximadamente 1.120 espécies (Simmons, 2005), o que representa cerca de 22% das espécies conhecidas de mamíferos. Os morcegos constituem um dos grupos de mamíferos de mais diversificado hábito alimentar. Praticamente todos os grupos tróficos podem ser observados, excetuando-se os saprófagos. Os carnívoros são predadores de pequenos vertebrados, tais como pássaros, anfíbios, répteis e até pequenos mamíferos. Também comem grandes insetos. Existem morcegos predominantemente frugívoros e os hematófagos, que se alimentam exclusivamente de sangue, sendo o *Diphylla ecaudata* o que possui a dieta mais especializada, alimentando-se principalmente de sangue de aves (Greenhall, Schmidt *et al.*, 1984). Os nectarívoros retiram carboidratos do néctar e proteína do pólen das plantas (Reis, Peracchi *et al.*, 2007).

Uma série de adaptações morfológicas no sistema gastrointestinal podem ser observadas conforme cada tipo de dieta. Um exemplo disto é a hematofagia, dieta altamente especializada e única entre os mamíferos, que veio acompanhada de mudanças, tais como: o estômago extremamente alongado, com uma superfície de absorção muito maior em relação a outras espécies de morcegos (Rouk e Glass, 1970) e diferenças quanto à frequência das células do sistema neuroendócrino difuso no estômago e intestino (Machado-Santos, *et al.*, 2009)

Em vários aspectos morfológicos e bioquímicos os morcegos se assemelham mais aos humanos que os ratos, comumente utilizados como modelo experimental. Diferente de roedores, os morcegos possuem vesícula biliar, pâncreas encapsulado, distribuição hepática da enzima PEPCK (associada à neoglicogênese) similar a de humanos (Pinheiro, Taddei *et al.*, 2006) e o cortisol como principal glicocorticóide (Widmaier e Kunz, 1993). Além disso, morcegos apresentam-se como um modelo experimental de grande valia, não só pela proximidade evolutiva com primatas (Pettigrew, 1986; Speakman, 2001), mas também pelo fato de possuírem uma enorme diversidade natural de hábitos alimentares, possibilitando assim o estudo das respostas metabólicas e da morfologia do sistema gastrointestinal a diferentes tipos de dieta.

O pâncreas é um órgão que contém populações distintas de células, como por exemplo as células exócrinas que secretam enzimas dentro do tubo digestivo, e as células endócrinas que formam ilhotas e secretam seus hormônios na corrente sanguínea (Slack, 1995). A estrutura destas ilhotas pancreáticas consiste em diferentes células que secretam diversos hormônios e possuem um papel vital na manutenção da homeostase (Yukawa, Takeuchi *et al.*, 1999). A distribuição, arranjo e proporção destas células endócrinas nas ilhotas pancreáticas variam conforme as espécies e podem diferir conforme a origem da ilhota ou até mesmo da idade do animal (Mcevoy, 1981).

A plasticidade na distribuição das células endócrinas pancreáticas e sua secreção hormonal é também evidente e pode mudar conforme a demanda energética e a manipulação gastrointestinal de carboidratos (Cunningham, 2004). A presença destas células e sua diferente localização conforme a espécie possui importantes implicações funcionais. Além disso, as investigações das células endócrinas gastro-entero-pancreáticas têm sido consideradas uma importante parte dos estudos filogenéticos (D'este, Buffa *et al.*, 1994).

Tendo em vista que a distribuição e proporção relativa dos diferentes tipos celulares podem variar entre as espécies devido a diferentes condições fisiológicas e seus hábitos alimentares, este trabalho tem por objetivo analisar as células α (A) secretoras de glucagon, β (B) secretoras de insulina e δ (D) secretoras de somatostatina do pâncreas de morcegos

hematófagos, insetívoros e nectarívoros, através de análises histológicas, estereológicas e imuno-histoquímica, e, desta forma contribuir com os estudos relativos ao metabolismo energético e padrão metabólico de animais com hábitos alimentares característicos.

Objetivos

Objetivos gerais

Comparar os pâncreas endócrinos dos morcegos hematófagos (*Diphylla ecaudata*), insetívoro (*Pteronotus personatus*) e nectarívoro (*Anoura geoffroyi*), através de análises histológica, morfométrica e estereológica.

Objetivos específicos

1. Analisar a relação entre o peso do pâncreas e o peso do animal.
2. Descrever a histologia do pâncreas.
3. Análisar morfométricamente o diâmetro das ilhotas pancreáticas.
4. Analisar através da estereologia o número total de ilhotas pancreáticas e a densidade de volume das ilhotas pancreáticas.
5. Conhecer pela estereologia a massa de ilhotas no tecido pancreático total.
6. Quantificar a imunodensidade de células alfa, beta e delta das ilhotas pancreáticas.

Revisão de literatura

1. Os Quirópteros

Os morcegos são os únicos mamíferos capazes de voar, pois possuem uma série de adaptações que possibilitam o vôo. As características que distinguem os morcegos os tornam únicos, em termos evolutivos e ecológicos, quando comparados a animais do mesmo tamanho (como roedores), pois, apesar de pequenos, apresentam longa expectativa de vida (existem registros de até 31 anos para um morcego insetívoro na natureza), baixa fecundidade, altas taxas de sobrevivência, um período relativamente longo de dependência da mãe por partes dos filhotes, idade relativamente avançada para atingir a maturidade sexual, e, provavelmente pelas exigências em relação ao vôo, apresentam pouca variação morfológica quando adultos (Findley, 1993).

Os quirópteros desempenham um importante papel no equilíbrio dos ecossistemas. Destacam-se, nessa linha de raciocínio, a participação das espécies na polinização e na dispersão de sementes de dezenas de plantas (Winter, Lopez *et al.*, 2003). Também, há a contribuição dos quirópteros para o controle das populações de insetos, considerando que uma parcela considerável das espécies de morcegos apresenta hábito alimentar insetívoro (Reis, Peracchi *et al.*, 2007).

Os morcegos são muito usados em pesquisas médicas voltadas ao desenvolvimento de vacinas e de mecanismos de resistência a doenças (Yalden e Morris, 1975). Além disso, também são conhecidos por serem transmissores de viroses e micoses (Reis e Mok, 1979). Espécies hematófagas infectadas são vetores potenciais do vírus da raiva em bovinos e eqüinos, causando mortes que resultam em grandes prejuízos aos criadores (Lord, 1992).

Diphylla ecaudata (Spix, 1823)

Reino: Animalia
Filo: Chordata
Classe: Mammalia
Ordem: Chiroptera
Família: Phyllostomidae
Subfamília: Desmodontinae
Gênero: *Diphylla*
Espécie: *D. ecaudata* (Figura 1a)

Ocorre somente em regiões tropicais - desde o México, América Central, Peru até o Brasil (Reis, Peracchi *et al.*, 2007) (Figura 1b). Esta espécie forma agrupamentos de até 12 indivíduos (Greenhall, Schmidt *et al.*, 1984). Devido à dificuldade de manutenção em cativeiro e ao pequeno número de indivíduos por colônia, há poucos estudos sobre a biologia desta espécie (Elizalde-Arellano, López-Vidal *et al.*, 2007). Não é considerada uma espécie ameaçada de extinção, de acordo com a lista da IUCN (2010).



Figura 1a. Espécime de *Diphylla ecaudata* (www.dgicd.min-edu.pt).



Figura 1b. Localização geográfica do *Diphylla ecaudata*.
<http://www.iucnredlist.org/apps/redlist>

Os *D. ecaudata* alimentam-se do sangue de vertebrados de homeotérmicos, principalmente aves. Através da utilização de sensores de calor em seu nariz, estes morcegos vampiros podem procurar uma área da pele da presa onde há uma boa quantidade de sangue próximo à superfície. Eles lambem a área da pele para amenizar a mordida e para livrá-la dos pêlos ou penas. Em seguida, este faz uma pequena mordida (em forma de V) com cerca de 2,5 mm de profundidade. Geralmente a vítima não sente a picada (Owens, 2002).

Normalmente, o processo de alimentação leva cerca de meia hora. Um adulto pode consumir cerca de 5 colheres de chá de sangue, que é cerca de metade do seu peso corporal. Após o morcego se alimentar, este urina continuamente até que se torne leve o suficiente para voar (Schutt e Altenbach, 1997).

O *D. ecaudata* costuma sair de seus abrigos em busca de alimento após o pôr-do-sol, retornando depois de um período médio de 30 minutos. Esses animais saem novamente apenas no dia seguinte, enfrentando assim um jejum de aproximadamente 24 h (Dalquest, 1955; Uieda, 1994).

Gomes (2008) em um estudo sobre o metabolismo energético e resposta ao jejum do morcego hematófago *Diphylla ecaudata* observou que durante privação alimentar por 24 h, estes animais mantêm a glicemia entre 4 e 6 mmol/L, valores necessários para a sobrevivência de outros mamíferos. Porém, a partir de 36 h, estes animais apresentam queda glicêmica muito pronunciada, o que poderia levá-los a óbito por inanição. Estes valores foram diferentes dos observados para morcegos frugívoros (Widmaier e Kunz, 1993, Pinheiro, Taddei *et al.*, 2006), que apresentam queda inicial da glicemia da ordem de 30 a 40% no jejum de 24 h; e diferem mais fortemente dos estudos feitos por (Freitas, Welker *et al.*, 2003) que mostraram que morcegos *D. rotundus* apresentam diminuição de cerca de 70% na glicemia nesse período de jejum. Os resultados obtidos por Gomes (2008) para *D. ecaudata* em períodos de jejum de 24 horas parecem seguir o observado para a maior parte dos mamíferos, onde, independentemente do tipo de dieta, a estabilidade da glicemia no jejum é garantida pela glicogenólise e, principalmente, pela neoglicogênese hepática (Brosnan, 1999).

Pteronotus personatus (Wagner, 1843)

Reino: Animalia
Filo: Chordata
Classe: Mammalia
Ordem: Chiroptera
Família: [Mormoopidae](#)
Gênero: [Pteronotus](#)
Espécie: *Pteronotus personatus* (Figura 2a).

Distribui-se do México à Colômbia, Peru, Bolívia, Suriname, Trinidad e Tobago e Brasil, mais precisamente no Amazonas, Amapá, Mato Grosso, Pará, Paraíba e Roraima (Reis, Peracchi *et al.*, 2007) (Figura 2b). Tolerando diferentes tipos de habitat, desde florestas tropicais até desertos áridos (Nowak, 1999), é gregário, vive refugiado em cavernas, túneis, árvores ocas e em folhagens (Pine, 1972) e pode construir colônias muito grandes, inclusive coabitando com outras espécies. É uma espécie insetívora e geralmente captura os insetos próximos à água (Reis, Peracchi *et al.*, 2007).



Figura 2a. Espécime de *Pteronotus personatus*
www.morcegodobrasil.com.br



Figura 2b. Localização geográfica do *Pteronotus personatus*.
<http://www.iucnredlist.org/apps/redlist/details/18709/0>

Anoura geoffroyi (Gray, 1838)

Reino: Animalia
Filo: Chordata
Classe: Mammalia
Ordem: Chiroptera
Família: [Mormoopidae](#)
Gênero: [Pteronotus](#) Wagner, 1843
Espécie: *Pteronotus personatus* (Figura 3a).

Trata-se de um morcego de porte médio. Sua distribuição geográfica estende-se do México, Peru, Bolívia e Brasil (Figura 3b). Embora seja uma espécie predominantemente nectarívora, o *A. geoffroyi* pode fazer uso de insetos, como exemplo, bezouros. Goodwin (1946), reportou que a espécie visitava flores sem secreção de néctar, tendo presumido que o objetivo seria a apreensão de insetos atraídos pelo odor destas flores. Consome ainda frutos e pólen, e a lista de flores visitadas para a obtenção de néctar inclui: bombacáceas, cariocaráceas, bromeliáceas e passifloráceas. O *A. geoffroyi* encontra-se em todos os biomas Brasileiros e encontra-se em baixo risco de extinção (Reis, Peracchi *et al.*, 2007).



Figura 3a. Espécime de *A. geoffroyi*
<http://www.google.com.br/imgres>



Figura 3b. Localização geográfica do *A. geoffroyi*.
<http://www.iucnredlist.org/apps/redlist/details>

2. O Pâncreas

O pâncreas de vertebrados é uma glândula exócrina que contém tanto componentes exócrinos, responsáveis pela secreção de enzimas para o intestino, como endócrino, que secretam hormônios na corrente sanguínea. É dividido macroscopicamente, no homem, em cabeça, colo, corpo e cauda. Histologicamente é designado como uma glândula túbulo-alveolar, que é dividida em lobos e lóbulos por extensões da delgada cápsula de tecido conjuntivo (Thurlo, 1937). É constituído por três componentes estruturais principais: os ácinos, o sistema de dutos e as ilhotas de Langerhans.

O Pâncreas é um órgão encontrado em todos os mamíferos. Em anfíbios, aves, répteis e mamíferos o pâncreas possui um desenvolvimento embriológico similar, além de serem histologicamente semelhante. Em alguns peixes teleósteos, como ocorre em tilápias, às ilhotas aparecem segregadas do pâncreas exócrino, formando estrutura chamadas de corpos de Brockmann, que estão adjacentes ao mesentério (Slack, 1995).

O pâncreas tem sua origem do endoderma imediatamente caudal ao estômago, do broto dorsal e ventral que se fusionam para juntos formarem um órgão único (Slack, 1995). A maior parte do pâncreas é derivada do broto pancreático dorsal, que aparece primeiro (Figura 1). Ele cresce rapidamente entre as camadas do mesentério dorsal. O broto pancreático ventral desenvolve-se próximo à entrada do ducto biliar no duodeno e cresce entre as camadas do mesogástrico ventral. Quando o duodeno gira para a direita e adquire à forma da letra C, o broto pancreático ventral é levado dorsalmente, juntamente com o ducto biliar. Este broto logo se localiza posteriormente ao broto pancreático dorsal e mais tarde se funde a ele (Moore e Persaud, 2008).

Assim como em outros órgãos endodérmicos, o pâncreas se desenvolve através de interações entre o epitélio e seu mesênquima associado. Se o epitélio pancreático é cultivado num ambiente permissivo na ausência de mesênquima, ele se diferencia quase inteiramente em células de ilhotas, como as secretoras de insulina e glucagon. Não são produzidas estruturas acinares, nem ductos (Gittes, Galante *et al.*, 1996). Isso sugere que na condição de “ausência de comando”, o epitélio pancreático produz hormônios endócrinos e que as células secretoras exócrinas e os dutos característicos da função digestiva (exócrina) são resultados de sua interação com o mesênquima. O gene *pdx-1* parece fornecer ao epitélio pancreático a capacidade de responder a seu mesênquima. Camundongos carentes desse gene não apresentam pâncreas, embora seu epitélio seja capaz de se diferenciar em células pré-ilhotas que sintetizam pequenas quantidades de glucagon e insulina (Johnson, Grande *et al.*, 1994; Ahlgren, Jonsson *et al.*, 1996; Offield, Jetton *et al.*, 1996). O epitélio pancreático, portanto, pode ter capacidade endócrina autônoma, mas necessita interagir com o mesênquima para formar células exócrinas e os dutos que transportam suas secreções para o duodeno.

Estudos com ilhotas pancreáticas têm demonstrado diferenças entre o número de células por ilhota encontradas no lobo dorsal e ventral (Mcevoy e Hegre, 1977; Remacle, Hauser *et al.*, 1977; Baetens, Malaisse-Lagae *et al.*, 1979; Nakamura, Shimada *et al.*, 1980) e entre regiões que possuem diferentes origens embriológicas (Elayat, El-Naggar *et al.*, 1995).

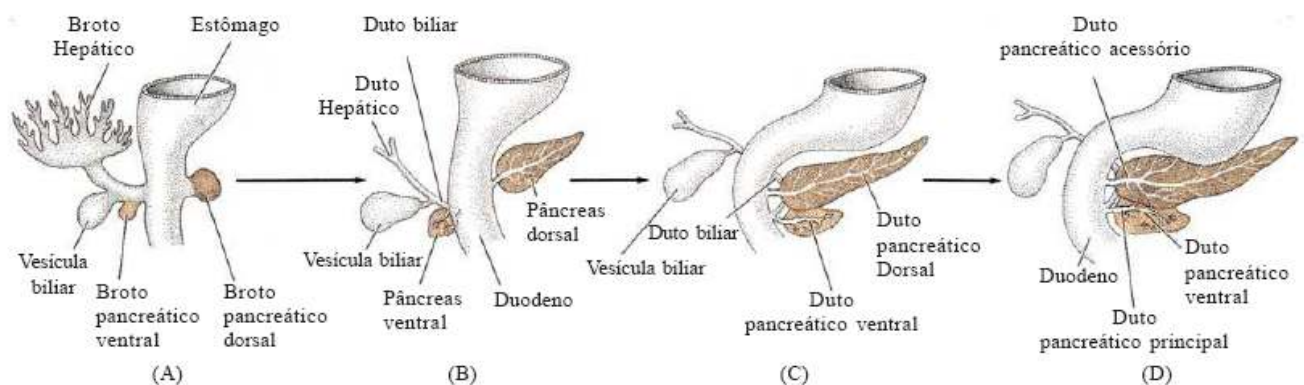


Figura 4. Desenvolvimento pancreático em humanos. (A) Após 30 dias, o broto pancreático ventral está próximo aos primórdios hepáticos. (B) Aos 35 dias começa a migrar posteriormente e (C) entra em contato com o broto pancreático dorsal durante a sexta semana do desenvolvimento. (D) Na maioria dos indivíduos, o broto pancreático dorsal perde o seu duto para o duodeno; porém, em cerca de 10% da população, o sistema duplo de ductos persiste.

2.2. O pâncreas endócrino

As células endócrinas surgem em pequenos agregados que brotam dos ductos pancreáticos formando *clusters* (Kaung, 1994). A vascularização começa a invadir esses agrupamentos de células endócrinas imaturas que já expressam hormônios pancreáticos, em um processo denominado *isletogenesis*. Neste momento, os *clusters* formam uma fita e o crescimento do tecido exócrino promove a sua separação, passando a ser disposto na estrutura de “pérolas em um cordão” (Jensen, 2004). O processo envolve a regulação de uma complicada rede de fatores de transcrição, muitos dos quais são ativados mais de uma vez durante o desenvolvimento pancreático, realizando diferentes funções (Dhawan *et al.*, 2007).

As ilhotas são densamente inervadas e perfundidas com uma das maiores taxas de fluxo de sangue do corpo. As células endócrinas mantêm contato direto com a corrente sanguínea através de um endotélio fenestrado, permitindo que estas células endócrinas lancem seus produtos hormonais diretamente na circulação. Além disso, as ilhotas contêm alguns outros componentes celulares não-endócrino, como as células dendríticas (Células do sistema imunológico). As células endócrinas comunicam-se de forma parácrina e também diretamente através de junções celulares - junções tipo *Gap*. Esta comunicação intercelular é fundamental para a função endócrina normal. O arranjo das células endócrinas nas ilhotas depende de várias moléculas de adesão. Além disso, a matriz extracelular em torno das células das ilhotas possui uma influência importante sobre o funcionamento das mesmas (Mandrup-Poulsen, 2010).

Através da imuno-histoquímica já foi possível identificar quatro tipos celulares principais nas ilhotas pancreáticas: células α (contêm grânulos de glucagon), células β (contem grânulos de insulina e também de amilina), células δ (contêm grânulos de somatostatina) e células PP (Contem grânulos de polipeptídio pancreático) (Elayat, El-Naggar *et al.*, 1995). A organização estrutural destes quatro tipos celulares é diferente entre as espécies, e isso tem um importante significado funcional.

Em pâncreas de humanos e ratos, as células β ocupam uma posição central nas ilhotas, enquanto as células α , δ e PP são localizadas periféricamente (Goldsmith, Rose *et al.*, 1975; Erlandsen, Hegre *et al.*, 1976; Orci, Baetens *et al.*, 1976; Sundler, Hakanson *et al.*, 1977; Baetens, Malaisse-Lagae *et al.*, 1979; Nakamura, Shimada *et al.*, 1980; Orci, Stefan *et al.*, 1981; Unger e Orci, 1981; Stefan, Orci *et al.*, 1982; Smith, 1983; Bani Sacchi e Bani, 1985; Ito, Yamada *et al.*, 1987). Em macacos (Jones, Reynolds *et al.*, 1980) e cavalos (Helmstaedter, Feurle *et al.*, 1976), as células α são localizadas centralmente e as outras células endócrinas estão organizadas periféricamente. Em cobras, as células β e α estão localizadas centralmente e as células δ e PP possuem um arranjo periférico (Rhoten, 1984). Michelmore *et al.* (1998) identificaram os componentes endócrinos do pâncreas do morcego frugívoro *Rousettus aegyptiacus*, constatando que neste os componentes endócrinos ocupam cerca de 9,1% de volume no pâncreas (Vv), apresentando uma estrutura endócrina mais aproximada àquela encontrada em cobras que a de mamíferos.

A proporção relativa das células das ilhotas pancreáticas mostra diferenças regionais e também dentre as espécies. Dois tipos distintos de ilhotas foram descritas em pâncreas de humanos e ratos, diferindo em cada uma nos seus componentes celulares: Ilhotas ricas em células PP e pobres em glucagon são características daquelas derivadas do broto ventral e aquelas ricas em glucagon e pobres em PP foram derivadas do broto dorsal (Orci, Baetens *et al.*, 1976); (Sundler, Hakanson *et al.*, 1977); (Baetens, Malaisse-Lagae *et al.*, 1979); (Gersell, Gingerich *et al.*, 1979); (Malaisse-Lagae, Stefan *et al.*, 1979); (Nakamura, Shimada *et al.*, 1980); (Unger e Orci, 1981); (Orci, 1982); (Stefan, Orci *et al.*, 1982; Bani Sacchi e Bani, 1985). Outros tipos de ilhotas também foram descritas. Krause e Cutts *et al.* (1989) relataram dois tipos de ilhotas em pâncreas do marsupial *Opossum*, dependendo de sua localização, as interlobulares e a intralobulares. As ilhotas do pâncreas de cachorro foram classificadas em policelulares e monocelulares, sendo as monocelulares compostas somente de células B (Redecker, Seipelt *et al.*, 1992). Jorns, Barklage, *et al.* (1988) classificou as ilhotas de coelho como: poli, di e monocelulares. Ilhotas pancreáticas bovinas foram classificadas de acordo com o seu diâmetro e localização em: grandes e pequenas (Bonner-Weir e Like, 1980). As ilhotas do avestruz foram classificadas em 5 subpopulações de acordo com sua composição celular (Watanabe e Nagatsu, 1991).

3. Hormônios produzidos pelas células endócrinas das ilhotas pancreáticas

3.1 Glucagon

O glucagon é um hormônio polipeptídico produzido nas células α das ilhotas pancreáticas e também em células espalhadas pelo tubo gastrointestinal (TGI). 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, Sinn *et al.*, 1957). 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, Santerre *et al.*, 1983; Vaillant e Lund, 1986).

O papel regulador que o glucagon exerce sobre a secreção de insulina encontra-se bem estabelecido (Orci, Stefan *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, a influência do sistema

nervoso simpático (SNS), da acetilcolina e da CCK, enquanto sua diminuição é regulada pela somatostatina e pela insulina (Samols, Bonner-Weir *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, Galansino *et al.*, 1957).

Somatostatina

A somatostatina consiste de 14 aminoácidos e foi inicialmente isolada do hipotálamo de ovelhas (Brazeau, Vale *et al.*, 1973) e recebeu esta denominação por sua capacidade de inibir a liberação do hormônio de crescimento (somatotrofina). Sabe-se que a célula imunoreativa a somatostatina encontra-se distribuída por todo sistema gastro-entero-pancreático de todas as espécies de vertebrados investigados, incluindo os primitivos agnatas (Falkmer e Van Noorden, 1983).

Elevadas concentrações de somatostatina foram detectadas no pâncreas, estômago e duodeno (Arimura, Sato *et al.*, 1975) e tem função inibidora em muitos órgãos como tireóide, pâncreas, estômago e vesícula biliar. Inibe também a liberação de hormônios pelas células enteroendócrinas em sua vizinhança. Somatostatina suprime a liberação de hormônios gastrintestinais tais como: gastrina, colecistocinina (CCK), secretina, motilina, peptídeo intestinal vasoativo (VIP), polipeptídeo gástrico inibitório (GIP) e enteroglucagon. Reduz a taxa de esvaziamento gástrico e reduz as contrações do músculo liso e do fluxo sanguíneo no intestino. Além disto, quando a somatostatina é liberada a partir de grânulos nas células delta das ilhotas pancreáticas, ela suprime a liberação de insulina, glucagon e suprime a ação secretora do pâncreas exócrino (Costoff, 2008).

3.3 Insulina

É formada por duas cadeias pépticas retas (denominadas cadeias A e B) que são mantidas juntas. Seu peso molecular é de aproximadamente 6000 daltons. A cadeia B, contendo 30 aminoácidos é conectada por duas pontes dissulfetos. Além disso, as cadeias A contêm um anel de dissulfeto interno. A insulina circula sem estar ligada a qualquer proteína carreadora (Bell, Pictet *et al.*, 1980).

Nos vertebrados, a seqüência de aminoácidos da insulina está extremamente bem conservada, ou seja, a insulina de bovinos difere da insulina humana em apenas três resíduos de aminoácidos e em suínos apenas um. A Insulina em alguns invertebrados é bastante semelhante em seqüência à insulina humana e possui efeitos fisiológicos semelhantes. A insulina de algumas espécies de peixes é semelhante o suficiente para se ter eficácia clínica em seres humanos. A forte homologia vista na seqüência de insulina de diversas espécies, sugere que esta foi bem “conservada” em grande parte da história evolutiva dos animais (Chang, Jorgensen *et al.*, 1997).

A insulina é produzida e armazenada no corpo como um hexâmero (uma unidade de seis moléculas de insulina), enquanto a forma ativa é o monômero. O hexâmero (Figura 5) é uma forma inativa, com estabilidade em longo prazo (Chang, Jorgensen *et al.*, 1997).

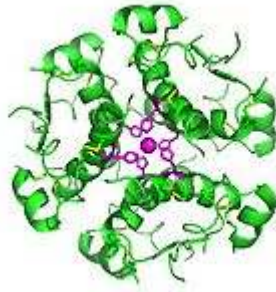


Figura 5. Imagem gerada por computador, com seis moléculas de insulina montada em um hexamero, destacando a tripla [simetria](#). (Chang, Jorgensen *et al.*, 1997).

Um grande número de fatores estimula ou inibe a liberação da insulina. Devido à grande importância da glicose no metabolismo, o mecanismo pelo qual esses fatores estimulam agudamente a secreção de insulina tem sido investigado intensamente. A insulina age no tecido adiposo estimulando o transporte de glicose para o interior das células e grande parte desta é armazenada com triglicerídios (Bell, Pictet *et al.*, 1980).

A expressão extrapancreática de insulina foi descrita em algumas condições patológicas, como na diabetes, onde a expressão de insulina pode ocorrer em múltiplos órgãos (Kojima, Fujimiya *et al.*, 2004). Entretanto em condições normais o desenvolvimento de células B foi pensado ser restrito ao pâncreas. No entanto, pesquisas recentes descrevem uma população de células B muito semelhantes ou idênticas às do pâncreas endócrino, localizadas no sistema biliar extra-hepático de ratos, com a expressão de insulina e de seus fatores de transcrição. Esta pesquisa demonstra que durante o último trimestre de vida embrionária o sistema biliar extra-hepático tem o potencial para produção de células-B (Eberhard, Tosh *et al.*, 2008).

Materiais e métodos

1. Captura dos morcegos e coleta do material.

Todas as coletas, transporte, manipulação e sacrifício dos animais foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Foram utilizados seis indivíduos de cada espécie, coletados durante a mesma noite, com auxílio de “redes japonesas” ou puçá e tarrafas na caverna casa de Pedra (SE-01), Fazenda Santo Antonio, Itabaiana, Sergipe, em agosto de 2009. Após a captura, os indivíduos foram transportados para o laboratório de zoologia da Universidade Federal de Sergipe, onde foram sacrificados por eterização. Em seguida, foi feita laparotomia mediana para remoção do segmento contendo estômago, fígado, intestino delgado e pâncreas. Os pâncreas foram dissecados e imediatamente fixados em líquido de Bouin por 6 horas e enviados em álcool 70% 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 histosec (Merk, Germany). Cortes de 5 µm de espessura foram colocados em lâminas previamente tratadas com poly-L-lysine (Tabela 1), a fim de promover a maior adesão do corte a lâmina. Seções representativas de cada tecido foram coradas com Hematoxilina-Eosina (HE) e Tricrômico de Gomori para o exame da arquitetura normal do pâncreas pela microscopia de luz.

2. Antiseros e reagentes

Os detalhes dos três tipos de anti-soros e reagentes utilizados neste trabalho estão listados na tabela 1.

Tabela 1 - Detalhes dos Anticorpos e principais reagentes utilizados.

ANTICORPO	CÓDIGO	DILUIÇÃO	ORIGEM
DAB	H-2200	5/ 110mL	VECTOR
Poly-L-Lysina	P-8920	10/ 90mL	Aldrich,inc
Anti-Insulina	G-0785	1: 1.000	Sigma-Aldrich,inc
Monoclonal Anti-Glucagon	G 2654	1: 2.000	Sigma-Aldrich,inc
Polyclonal Rabbit Anti-Human Somatostatin	A0566	1:300	Dakocytomation
ABC Kit	PK 6200	-	VECTOR

3. Imuno-histoquímica

Foram utilizados cortes em histosec com 5 µm de espessura obtidos a partir de tecido de pâncreas em diferentes níveis. Primeiramente foi realizada a recuperação antigênica com tripsina a 0,1% e a inativação da peroxidase endógena com peróxido de hidrogênio 3% a temperatura ambiente por 15 minutos.

Os cortes foram lavados com tampão fosfato (PBS) 0.05M (pH 7.4). Seguido de incubação com o anticorpo primário anti-glucagon, anticorpo anti-insulin e anticorpo anti-somatostatina (Tabela 1) por 2 horas a 4°C em câmara úmida. As lâminas foram lavadas com tampão fosfato (PBS) 0.05M (pH 7.4). Anticorpo biotilado foi utilizado como anticorpo secundário e a reação foi detectada com o complexo biotina-estreptavidina-peroxidase por 30 minutos em temperatura ambiente em câmara úmida. Imunoreação positiva foi identificada após incubação com 3,3' Diaminobenzidina (DAB) e contra-corado com hematoxilina Delafield. Imagens digitais das ilhotas imunomarcadas foram obtidas usando uma câmara cânon coolpix 4300 acoplada ao microscópio Olympus BX41 (formato TIFF, 36-bit, 1280×1024 pixels).

4. Morfometria e Estereologia

1) O **diâmetro médio das ilhotas** foi facilmente determinado através da aferição do maior e menor diâmetros. Todas as imagens foram analisadas com o software Image Pro-Plus versão 5.0 (Media Cybernetcs, Silver Spring, MD, E.U.A.).

Pelo menos 100 ilhotas foram medidas por morcego, totalizando 300 ilhotas.

2) O **número de ilhotas pancreáticas** foi estimado utilizando o método do *fracionator-disector* físico (Mandarim-de-Lacerda, 2003; Bock *et al.*, 2005). Resumidamente, em uma série consecutiva de secções, começando em um corte aleatório, vários pares de *disectors* foram construídos com intervalo que representou cerca de 1/3 a 1/4 do diâmetro médio das ilhotas, determinado previamente. As ilhotas que apareceram na área-teste (AT) do primeiro, mas não no plano subsequente foram contadas (QA-) e a densidade numérica das ilhotas (NV) foi estimada como:

$$NV[\text{ilhota}] = QA/AT \cdot d \text{ (1/mm}^3\text{)}.$$

Posteriormente, se estimou o número de ilhotas (N[ilhota]) como sendo o produto do volume do pâncreas (V[p]) pela densidade numérica de ilhotas, ou seja:

$$N[\text{ilhota}] = V[\text{p}] \cdot Nv[\text{ilhota}].$$

3) A **densidade volumétrica das ilhotas** (V_v [ilhotas]). O V_v [ilhotas] foi estimado pela contagem de pontos, a média do número de pontos que atingi as ilhotas no pâncreas (PP) e do número total de pontos de teste em um sistema de teste composto por 36 pontos (figura 6) de teste (PT):

$$V_v [\text{ilhotas}] = Pp [\text{ilhotas}] / PT (\%).$$

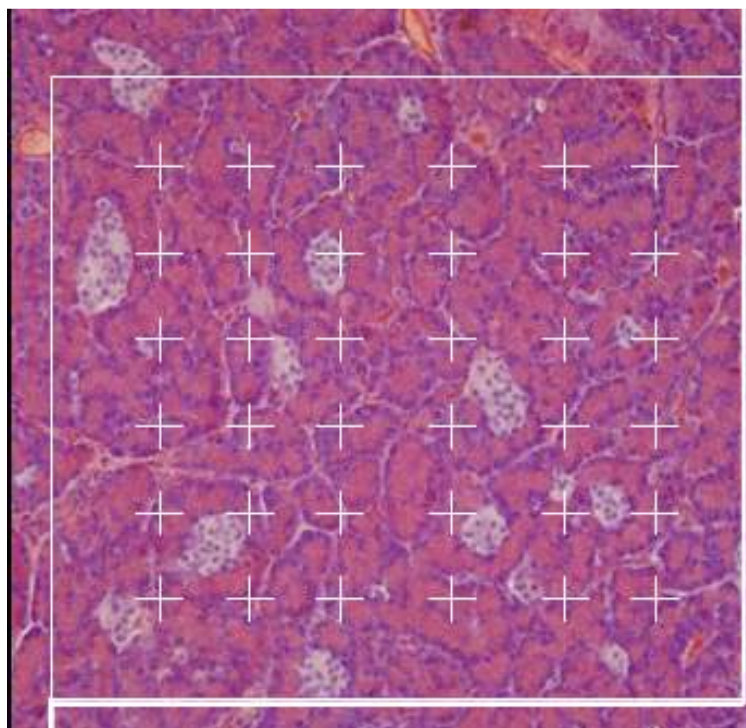


Figura 6. Ilustração do sistema teste composto por 36 pontos.

4) **Imunodensidade das células α , β , δ** . O V_v [células α , β , δ] foi estimado por imagens digitais das ilhotas imunomarcadas obtidas com microscopia (descrito previamente). Com o uso da ferramenta de seleção, foi possível marcar as áreas das ilhotas que foram positivas na imunomarcção para glucagon, somatostatina ou insulina. Esta área selecionada foi binarizada em uma nova imagem digital em preto e branco, onde a cor branca representou o glucagon, somatostatina ou insulina imunomarcadas e a cor preta representou o restante tecido. As ilhotas pancreáticas foram delimitadas usando a ferramenta AOI irregular, e dentro da área selecionada, a percentagem da área da imagem ocupada por cor branca foi quantificada através da ferramenta histograma (Mandarim-De-Lacerda, 2010).

5) A **massa das ilhotas** (M [ilhotas]) foi estimada como o produto da V_v [pâncreas] pelo peso do pâncreas de cada animal (Mandarim-de-Lacerda et al., 2010).

5. Análise Estatística

As diferenças entre os grupos foram analisadas pelo ANOVA One-way e pós teste "Newman-Keuls Multiple Comparison Test" e os dados são mostrados como média \pm erro padrão da média (EPM) e $P < 0,05$. A análise estatística foi realizada utilizando o software de estatística GraphPad Prism 5.1 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, Califórnia, E.U.A.).

Resultados

Relação entre o peso do pâncreas e o peso do animal

O pâncreas apresentou macroscopicamente uma tonalidade branco-amarelada. No insetívoro *P. personatus* o pâncreas pesou em média 0,025 gramas sendo seu peso médio corporal de 6,5 gramas, o morcego nectarívoro *A. geoffroyi* possui o peso de 0,03 gramas, sendo o seu peso corporal médio de 16 gramas e o hematófago *D. ecaudata* pesou cerca de 0,1 grama sendo o seu peso corporal em média de 24,4 gramas (Gráfico 1).

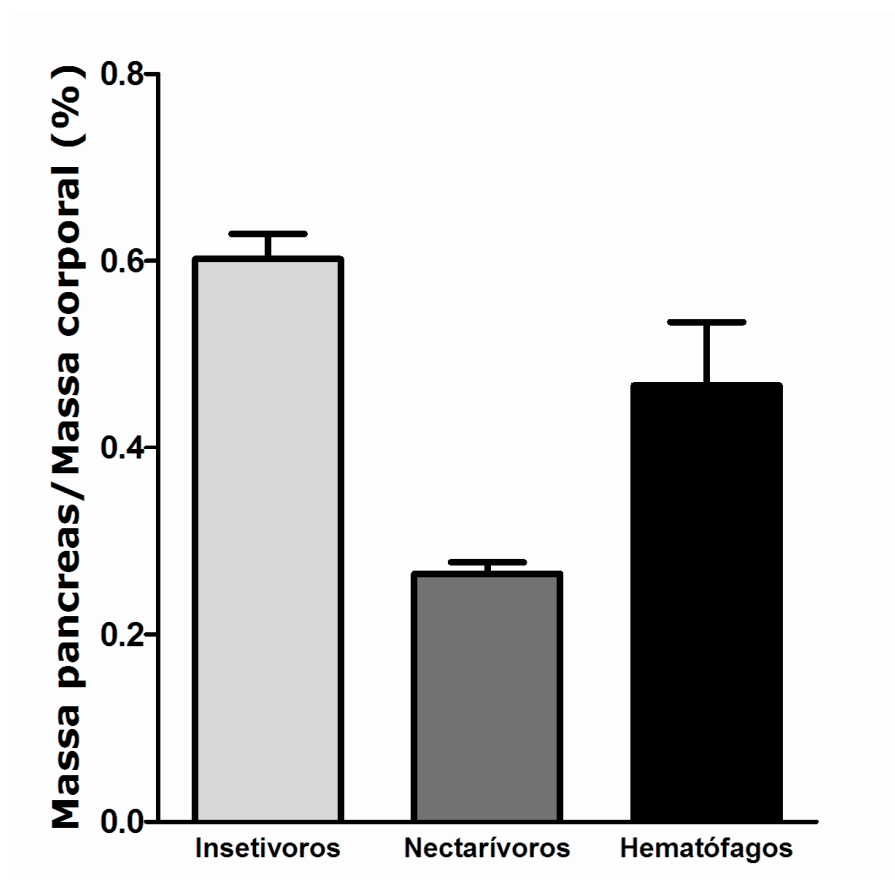


Gráfico 1. Relação entre o peso do pâncreas e o peso do animal. Valores representados como média \pm erro padrão da média.

Histologia do Pâncreas

O pâncreas dos morcegos *P. personatus*, *A. geoffroyi* e *D. ecaudata* apresentaram-se cobertos por uma delgada cápsula de tecido conjuntivo frouxo, que se estende sobre a forma de septos para o interior do órgão, os quais subdividem a glândula em lóbulos visivelmente distintos (Figura 7 a, b). Os mesmos são formados por uma parte exócrina composta por ácinos secretores e seus ductos associados, e uma parte endócrina formada pelas ilhotas pancreáticas, anteriormente conhecidas por ilhotas de Langerhans que são compostas de agregados de células secretoras sustentadas por uma delicada rede de colágeno contendo numerosas capilares sanguíneos (Figura 8). Estas ilhotas são facilmente identificadas em todas as espécies e possuem comumente um formato irregular nos morcegos hematófagos (Figura 8) e esférica nos insetívoros e nectarívoros, sendo palidamente coradas pela eosina. As partes exócrinas dos pâncreas composto por células acinosas pancreáticas ou células acinosas e um sistema de ductos que se inicia com a formação de pequenas células centro-acinosas que conduzem a pequenos ductos intralobulares revestidos por epitélio cúbico simples (figura 9). Os ductos intralobulares convergem para formar os ductos interlobulares revestidos por epitélio cilíndrico simples com células enteroendócrinas ocasionais. Os ductos interlobulares se anastomosam para formar o ducto pancreático principal, revestido por um epitélio cilíndrico simples e circundado por tecido conjuntivo. Nas três espécies foram observadas pequenas glândulas mucosas que se abrem nos ductos maiores (Figura 10 e 11).

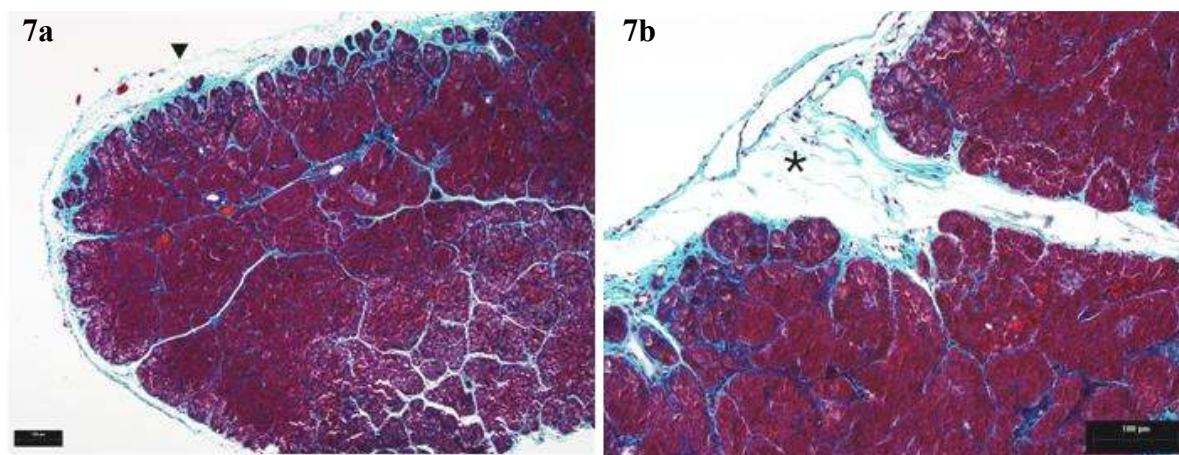


Figura 7. Fotomicrografia de corte transversal de pâncreas de *D. ecaudata*. a. Notar delgada cápsula de tecido conjuntivo frouxo (seta) e septos que dividem o órgão em lóbulos. b. Tecido conjuntivo frouxo da cápsula. (*). Tricrômico de Gomori. Escala 100 µm.

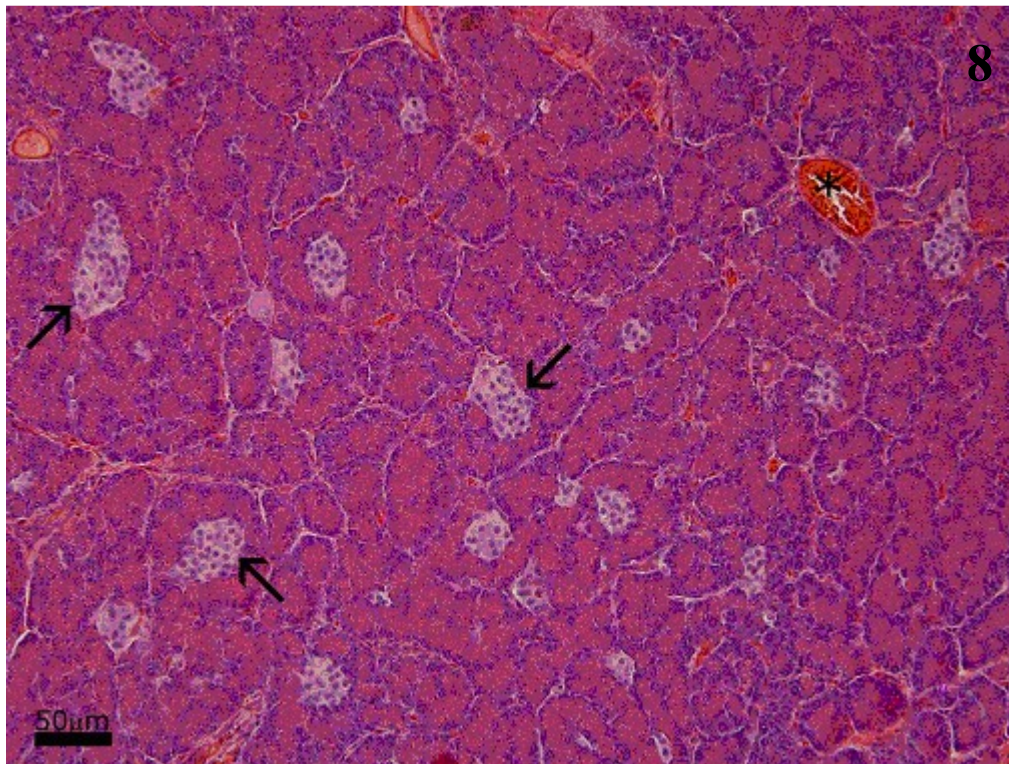


Figura 8. Fotomicrografia de corte transversal de pâncreas de *D. ecaudata*. Notar pâncreas exócrino representado pelos ácinos pancreáticos e o pâncreas endócrino representado pelas ilhotas pancreáticas de forma irregular (setas). Vaso sanguíneo (*). HE.

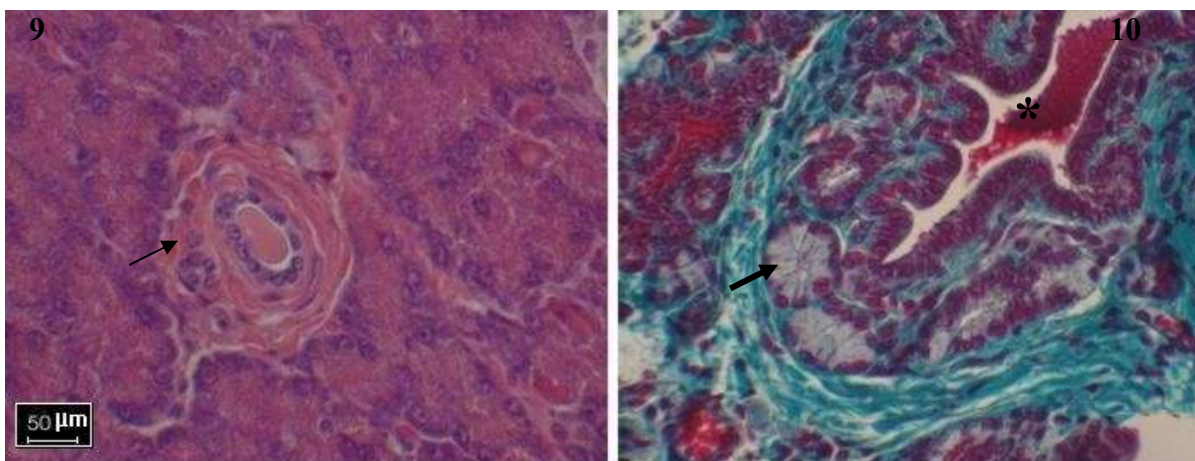


Figura 9. Fotomicrografia de corte transversal de pâncreas de *P. personatus*. Notar ductos intralobulares revestidos por epitélio cúbico simples (seta). HE. **Figura 10.** Corte transversal de pâncreas de *D. ecaudata* com ducto pancreático principal (*). Notar glândulas mucosas associadas (setas). Tricrômico de Gomori.

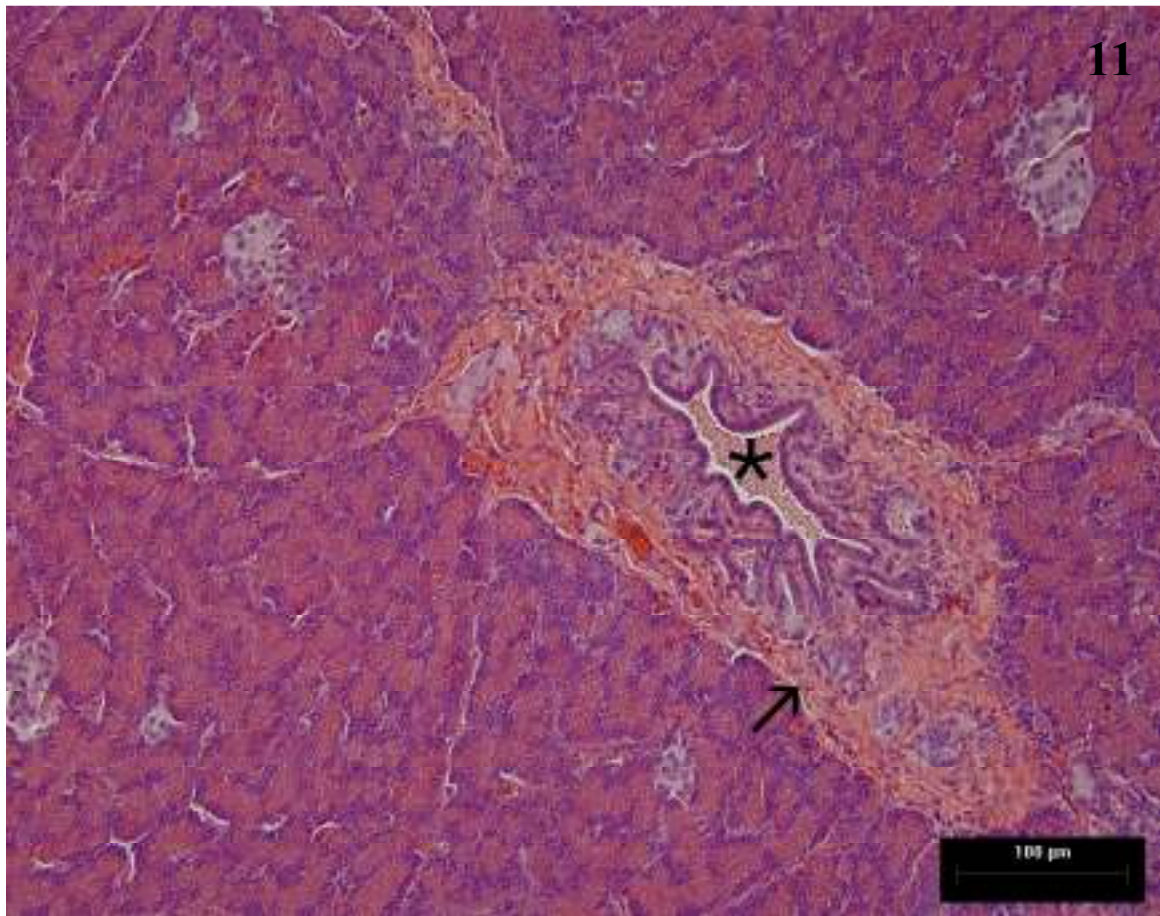


Figura 11. Fotomicrografia de corte transversal de pâncreas de *D. ecaudata* com ducto pancreático principal (*) revestido por um epitélio cilíndrico simples e circundado por tecido conjuntivo (seta). HE.

Morfometria

Diâmetro de ilhotas [ilhotas]: O morcego insetívoro *P. personatus* apresentou o menor tamanho de ilhota dentre os três grupos, sendo seu diâmetro médio de 40,47 μm (DP 13,94, EPM 0,58). O morcego nectarívoro *A. geoffroyi* possui o maior diâmetro de ilhota, média de 88,16 μm (DP 36,40, EPM 1,31). O morcego hematófago *D. ecaudata* apresentou a média do diâmetro da ilhota pancreática de 56,94 μm (DP 16,80, EPM 0,97) (Gráfico 2) (Figura 12).

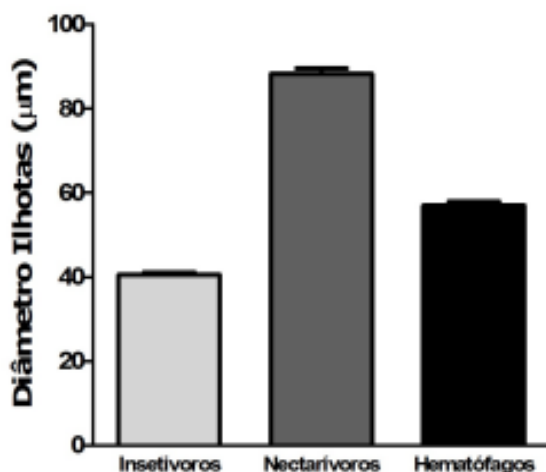


Gráfico 2. Gráfico com diâmetros das ilhotas pancreáticas. Valores representados como média \pm erro padrão da média.

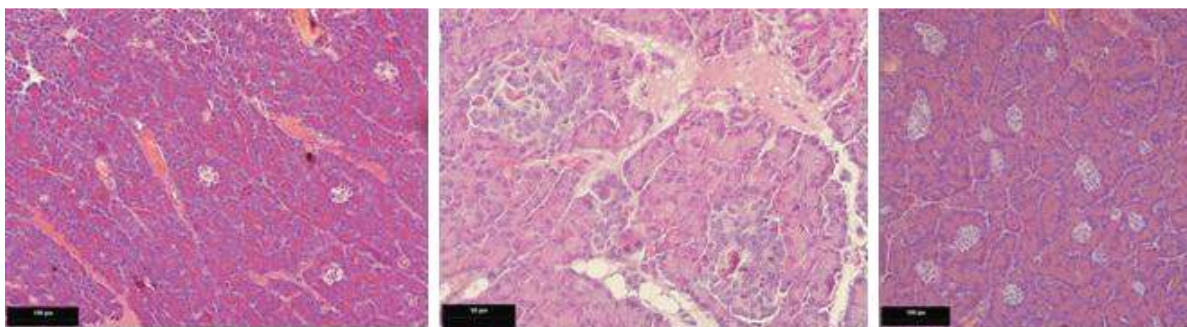


Figura 12. Fotomicrografia de corte transversal do pâncreas. a. Pâncreas do morcego insetívoro. b. Pâncreas do morcego nectarívoro. c. Pâncreas do morcego hematófago. Escala 100 μm .

Estereologia

1. **Número total de ilhotas N [ilhotas]:** Quanto ao número total de ilhotas pancreáticas, O morcego insetívoro *P. personatus* apresentou o N [ilhotas]: 8116,06 (SD 13,94, SEM 0,58). O morcego nectarívoro *A. geoffroyi* possui o menor número médio de ilhotas, N [ilhotas]: 7534,76 (SD 36,40, SEM 1,31) e o morcego hematófago *D. ecaudata* obteve a maior média, N [ilhotas]: 23900 (DP 9770,54, EPM 4369.52) (Gráfico 3). Quando analisado estatisticamente, não foi observada diferença significativa entre o grupo dos morcegos insetívoros e nectarívoros. Porém, esta diferença foi significativa, para $P < 0,05$ usando *one-way* ANOVA com pós-teste de Newman-Keuls, quando comparado os grupos do hematófago X insetívoro e também do hematófago X nectarívoro.

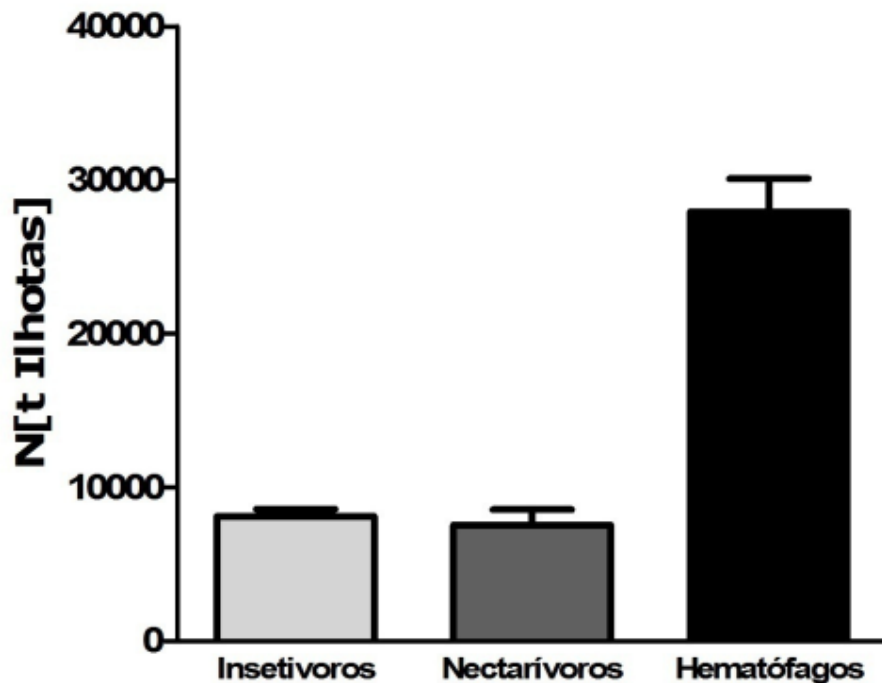


Gráfico 3. Número total de ilhotas em morcegos insetívoro, nectarívoro e hematófago.

Valores representados como média \pm erro padrão da média.

2. Densidade volumétrica das ilhotas (Vv [ilhotas]): O morcego insetívoro *P. personatus* apresentou o Vv [ilhotas]: 3,4%. O morcego nectarívoro *A. geoffroyi* possui o maior Vv [ilhotas]: 6,1% e o morcego hematófago *D. ecaudata* obteve o Vv [ilhotas]: 4,1%. (Gráfico 4). Quando analisado estatisticamente não foi observada diferença significativa entre o grupo dos morcegos insetívoros e hematófagos. Porém, esta diferença foi significativa, para $P < 0,05$ usando *one-way* ANOVA com pós-teste de Newman-Keuls, quando comparado os grupos do nectarívoro X insetívoro e também do nectarívoros X hematófagos

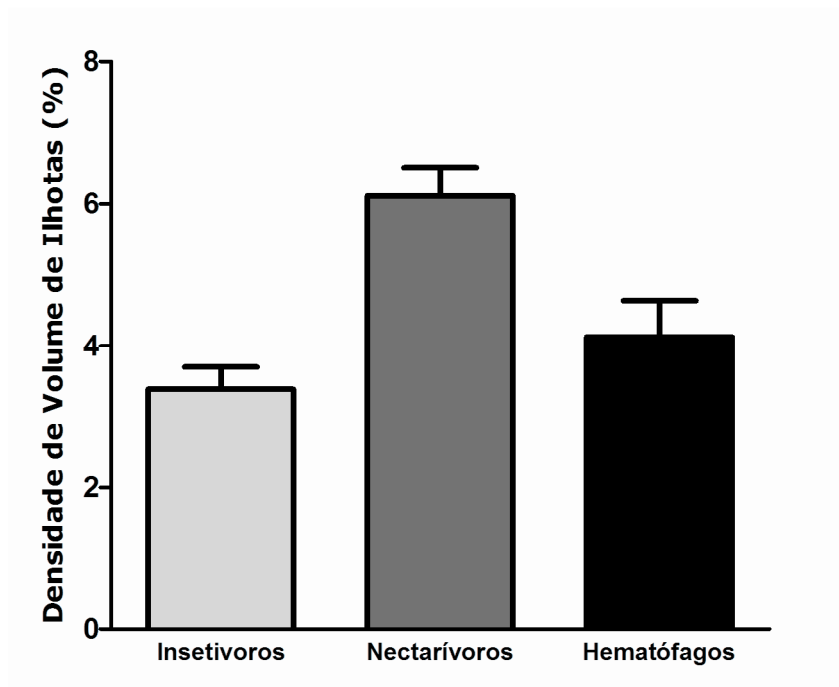


Gráfico 4. Gráfico de densidade de volume de Ilhotas em morcegos insetívoros, nectarívoros e hematófago. Valores representados como média \pm erro padrão da média.

3. Massa de ilhotas (M [ilhotas]): A massa das ilhotas (M [ilhotas]), ou seja, a massa de tecido endócrino ocupado no tecido pancreático total foi de 0,15 no morcego insetívoro, 0,24 no morcego nectarívoro e 0,48305 no morcego hematófago (Gráfico 5). Quando analisado estatisticamente não foi observada diferença significativa entre o grupo dos morcegos insetívoros e nectarívoro. Porém, esta diferença foi significativa, para $P < 0,05$ usando *one-way* ANOVA com pós-teste de Newman-Keuls, quando comparado os grupos do hematófago X insetívoro e também do nectarívoro X hematófago.

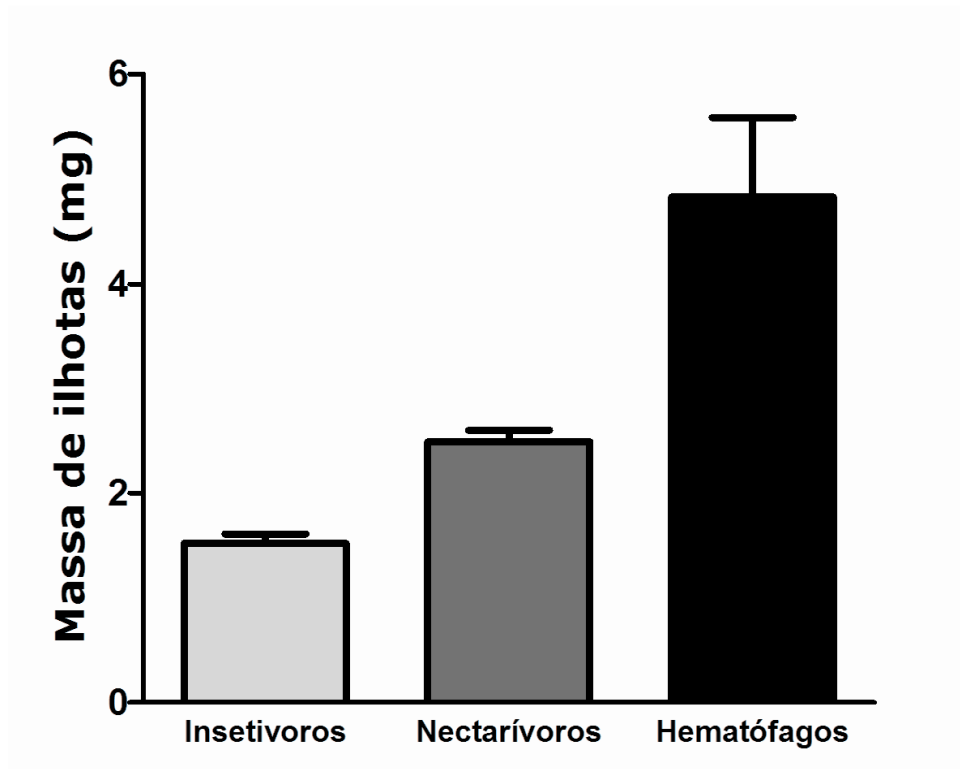


Gráfico 5. Gráfico de massa de ilhotas no tecido pancreático total em morcegos insetívoro, nectarívoro e hematófago. Valores representados como média \pm erro padrão da média.

4. Imunodensidade das células alfa, beta e delta: O morcego insetívoro *P. personatus* apresentou 25,8% de células α (DP 11,9 e EPM 3,9), as células β representaram 35,5 % do total (DP 13,5 e EPM 3,6) e as células δ 3,9% (DP 0,7 e EPM 0,4) (Gráfico 6).

As células secretoras de insulina localizaram-se em sua maioria na região central (Figura 13b), já as células secretoras de glucagon foram localizadas preferencialmente na periferia das ilhotas pancreáticas (Figura 12a), assim como as células secretoras de somatostatina (Figura 13c).

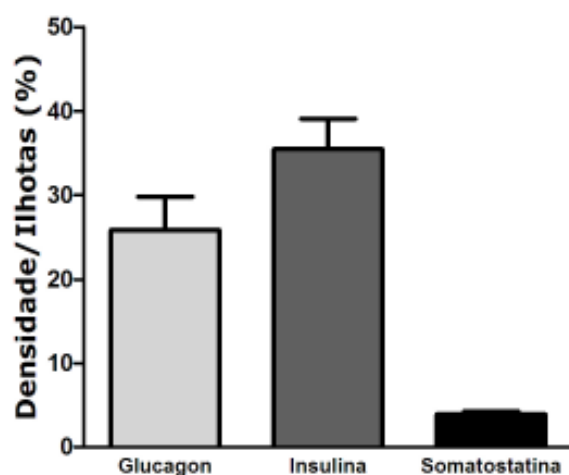


Gráfico 6. Imunodensidade de células alfa, beta e delta do morcego insetívoro *P. personatus*. Valores representados como média \pm erro padrão da média

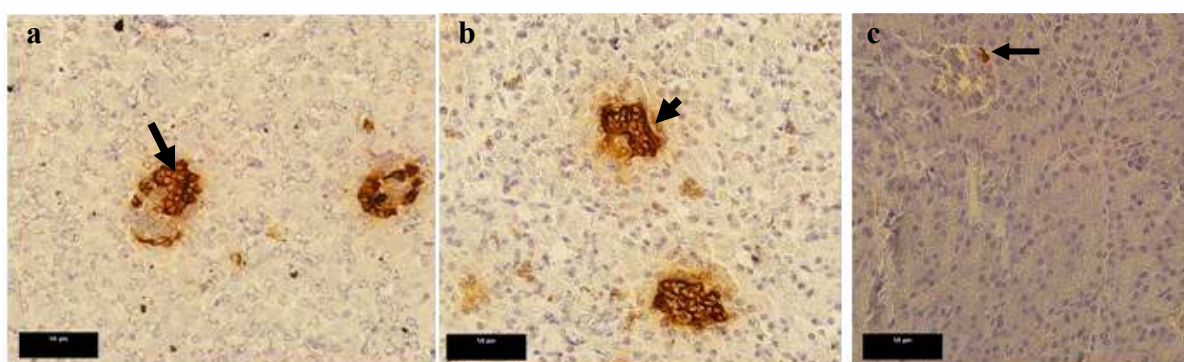


Figura 13. Fotomicrografia do pâncreas de *P. personatus*. a. Imuno-histoquímica de células secretoras de glucagon (seta). b. Imuno-histoquímica de células secretoras de insulina (seta). c. Imuno-histoquímica de células secretoras de somatostatina (seta). Escala 50 μ m.

Foi observado no morcego insetívoro *P. personatus* a presença de processo citoplasmático nas células secretoras de glucagon (Figura 14).

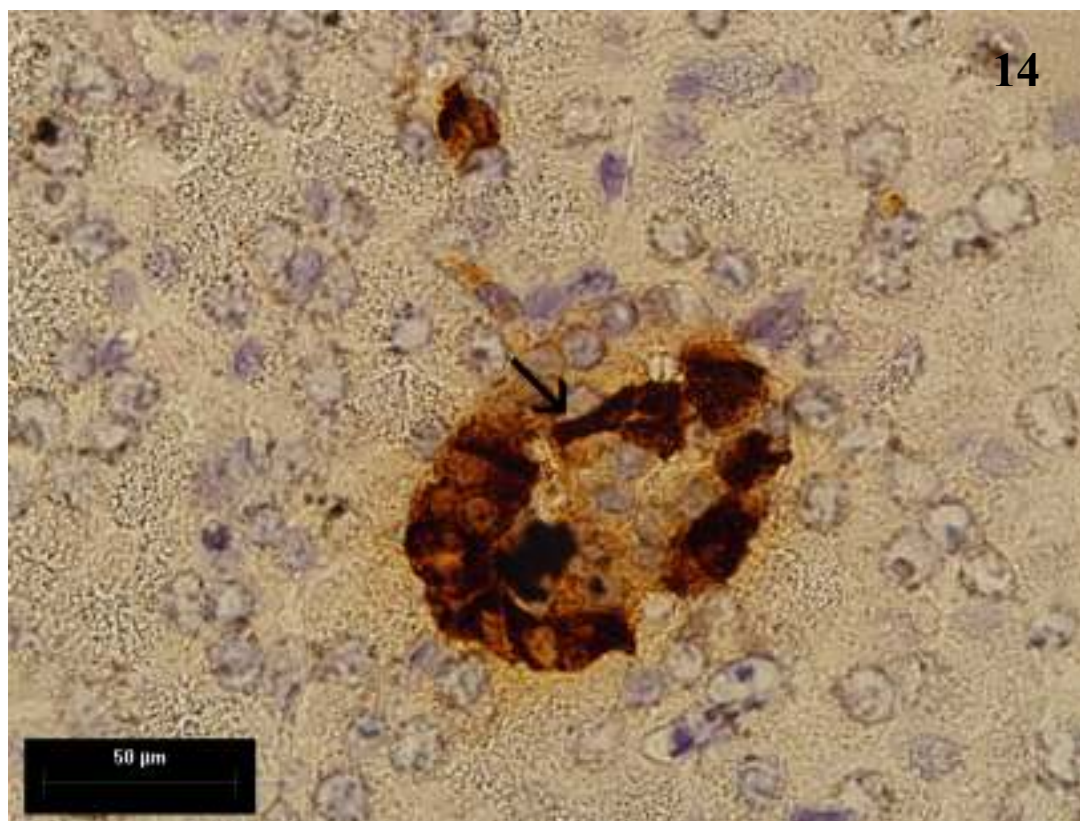


Figura 14. Fotomicrografia do pâncreas de *P. personatus*. Notar células imunoreativas ao glucagon com presença de processo citoplasmático (seta).

A densidade pela imunomarcagem das células endócrinas no morcego nectarívoro *A. geoffroy* mostrou uma maior porcentagem de células α 14,7 (DP 7,3 e EPM 1,8), seguida pelas células β 8,7% (DP 5,6 e EPM 2,2) e a de menor porcentagem, as células δ : 6,2% (DP 2,6 e EPM 9,7) (Gráfico 7).

O morcego nectarívoro *A. geoffroy* possui a distribuição celular semelhantes ao morcego insetívoro; com as células secretoras de glucagon dispostas radialmente, as células secretoras de insulina no centro e as células secretoras de somatostatina na periferia (Figura 15 a, b). Não foi observada a presença de processo citoplasmático nas células secretoras de glucagon nos morcegos nectarívoros.

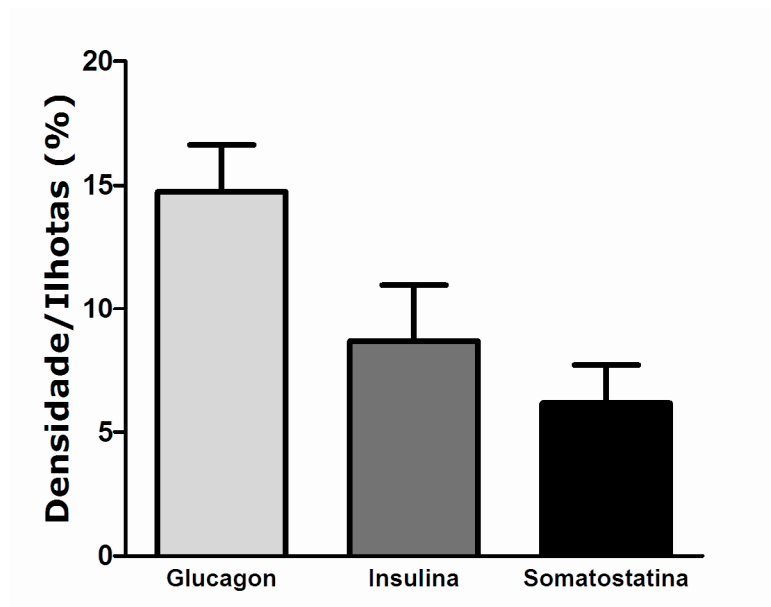


Gráfico 7. Imunodensidade de células alfa, beta e delta do morcego nectarívoro *A. geoffroyi*. Valores representados como média \pm erro padrão da média.

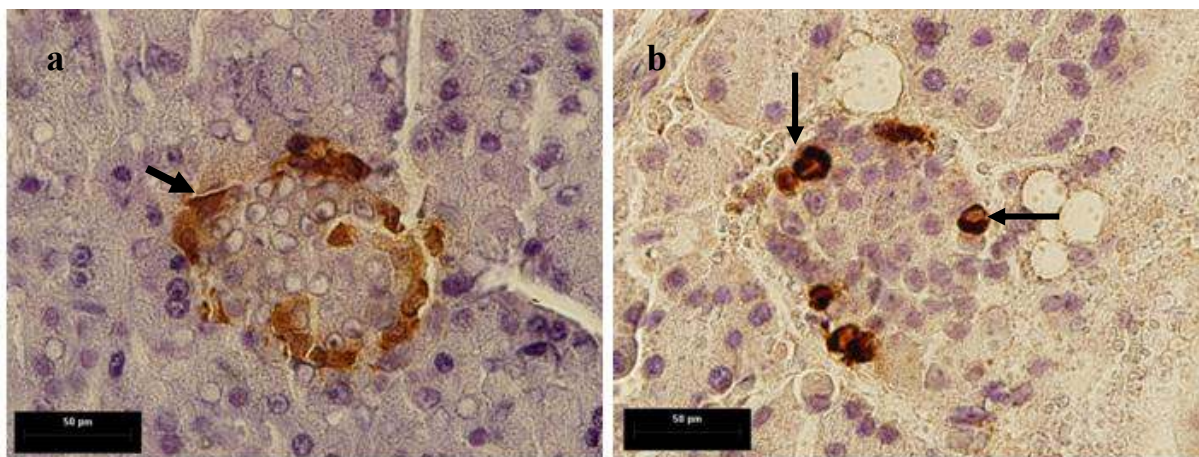


Figura 15. Fotomicrografia de pâncreas de *A. geoffroyi*. a. Células imunoreativas ao glucagon. (seta) b. células imunoreativas a somatostatina. (setas).

No morcego hematófago *D. ecaudata* a densidade da imunomarcção das células endócrinas foi maior nas células β : 54,8% (DP 10,1 e EPM 2,2), seguida pelas células α com 16,2% (SD 5,1 e EPM 1,5) e a menor porcentagem, as células δ com 14,3% (DP 4,3 e EPM 0,9) (Gráfico 8).

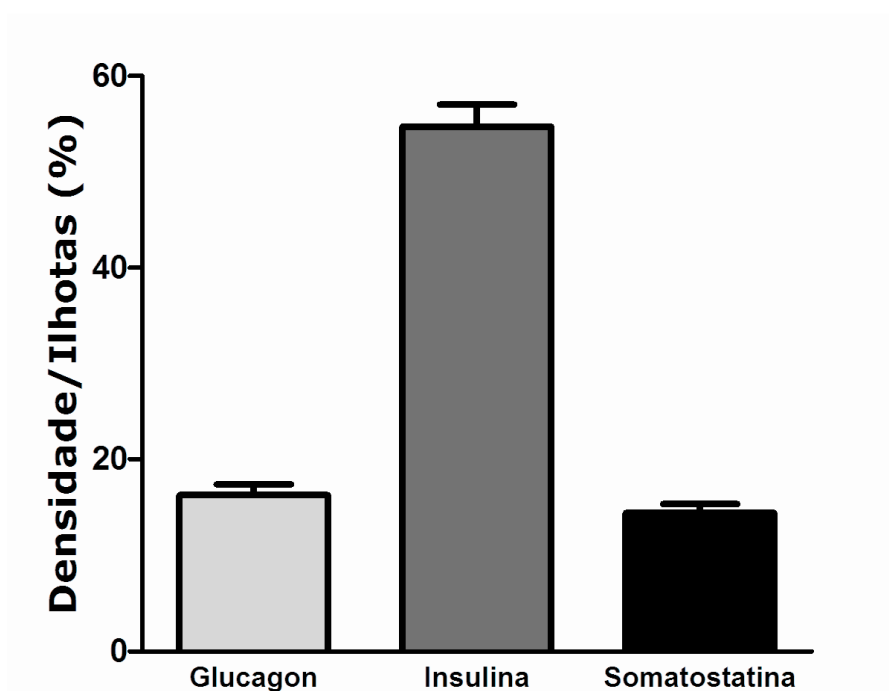


Gráfico 8. Imunodensidade de células α , β e δ do morcego hematófago *D. ecaudata*.

Valores representados como média \pm erro padrão da média

O morcego hematófago *D. ecaudata* apresentou a disposição das células imunoreativas ao glucagon preferencialmente periférica, porem estas células também são encontradas no centro das ilhotas (Figura 16). O mesmo apresenta as células imunoreativas à insulina com localização central (Figura 17) e as células imunoreativas à somatostatina com localização periférica (Figura 18). Observou-se a presença de um processo citoplasmático nas células imunoreativas ao glucagon.

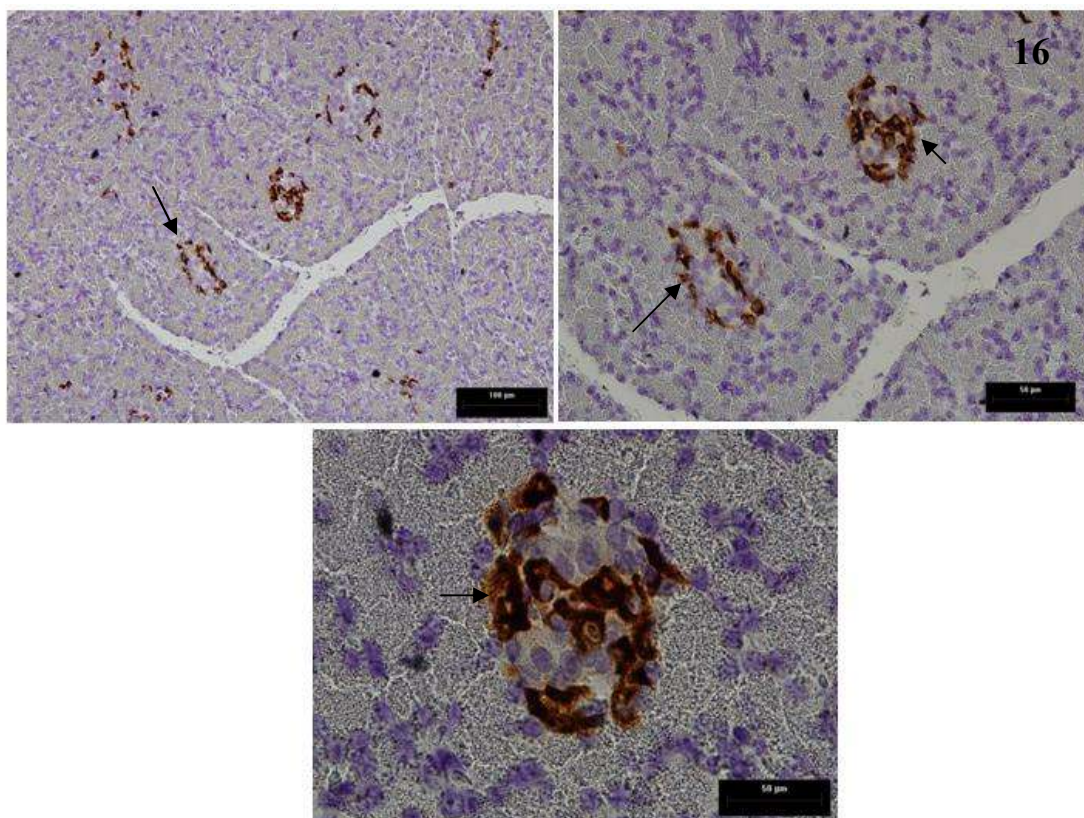


Figura 16. Fotomicrografia de células imunoreativas ao glucagon do pâncreas de *D. ecaudata*. (setas).

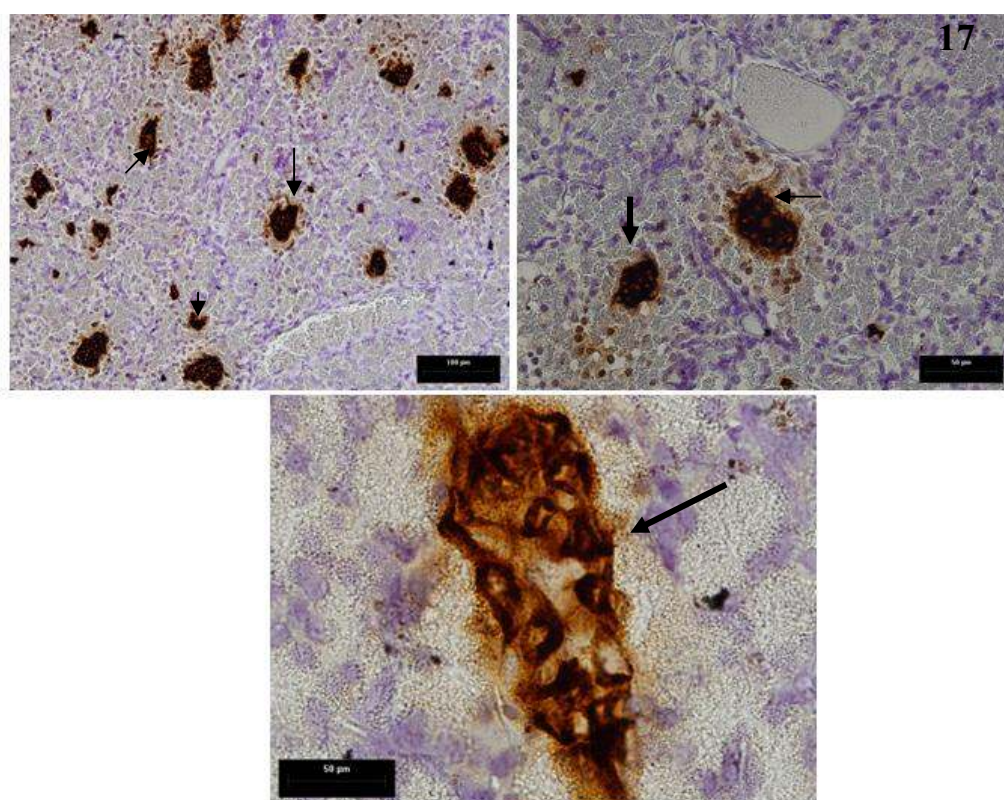


Figura 17. Fotomicrografia do pâncreas de *D. ecaudata*. Células IR a insulina (setas).

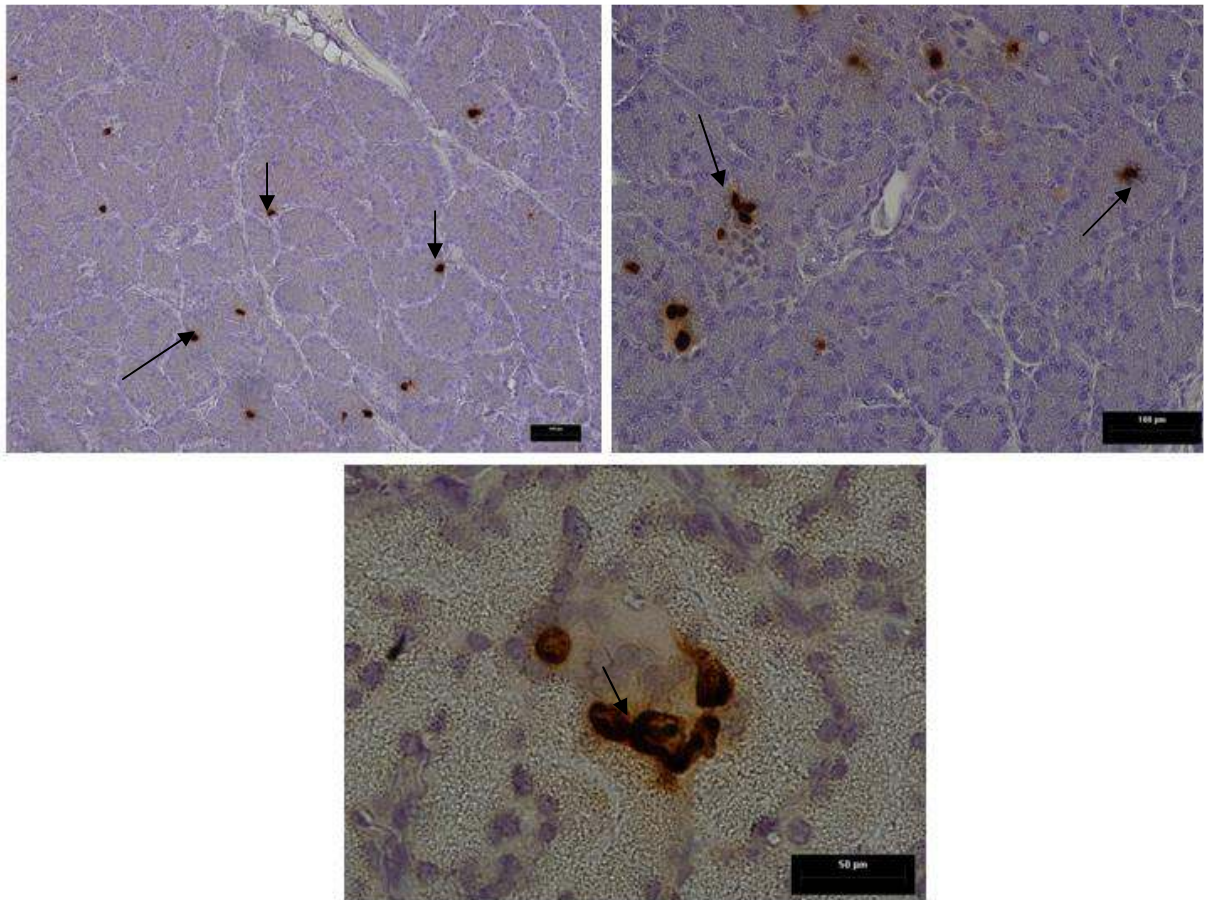


Figura 18. Fotomicrografia de células IR a somatostatina (setas).

Células imunoreativas à insulina, glucagon e somatostatina também foram observadas espalhadas isoladamente no pâncreas exócrino, ou seja, fora das ilhotas pancreáticas de todas as espécies examinadas. Na região de tecido conjuntivo propriamente dito próxima aos ductos pancreáticos do morcego hematófago *D. ecaudata* foi identificada também uma grande quantidade de células imunoreativas a insulina e poucas células imunoreativas ao glucagon e à somatostatina (Figuras 19 e 20).

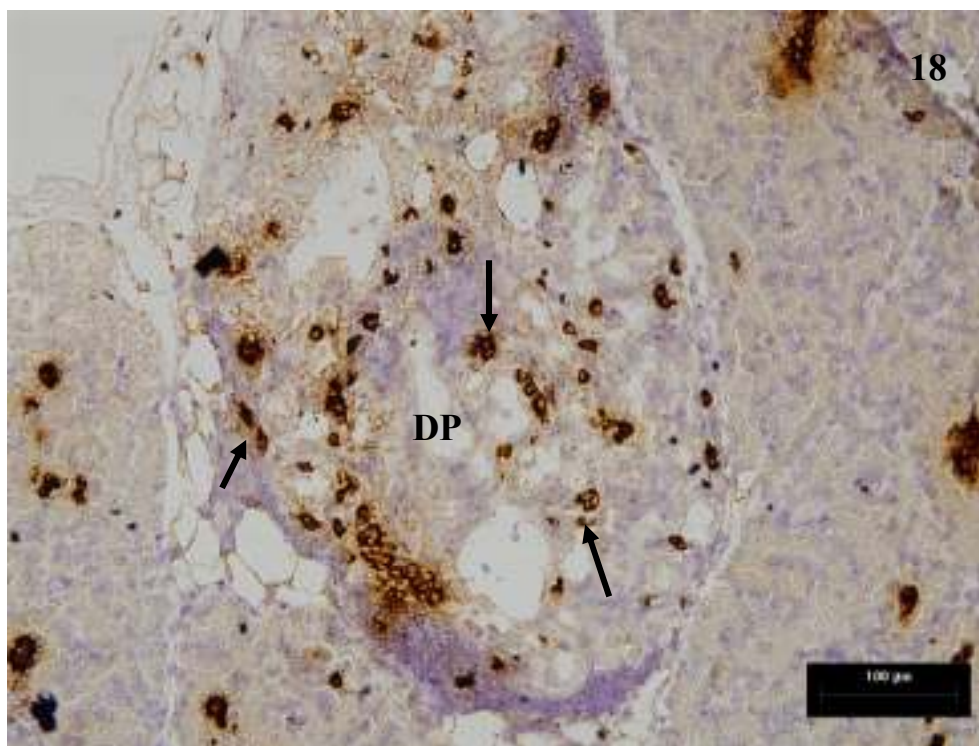


Figura 19. Fotomicrografia do pâncreas de *D. ecaudata*. Ducto pancreático (DP) com células imunoreativas a insulina (setas).

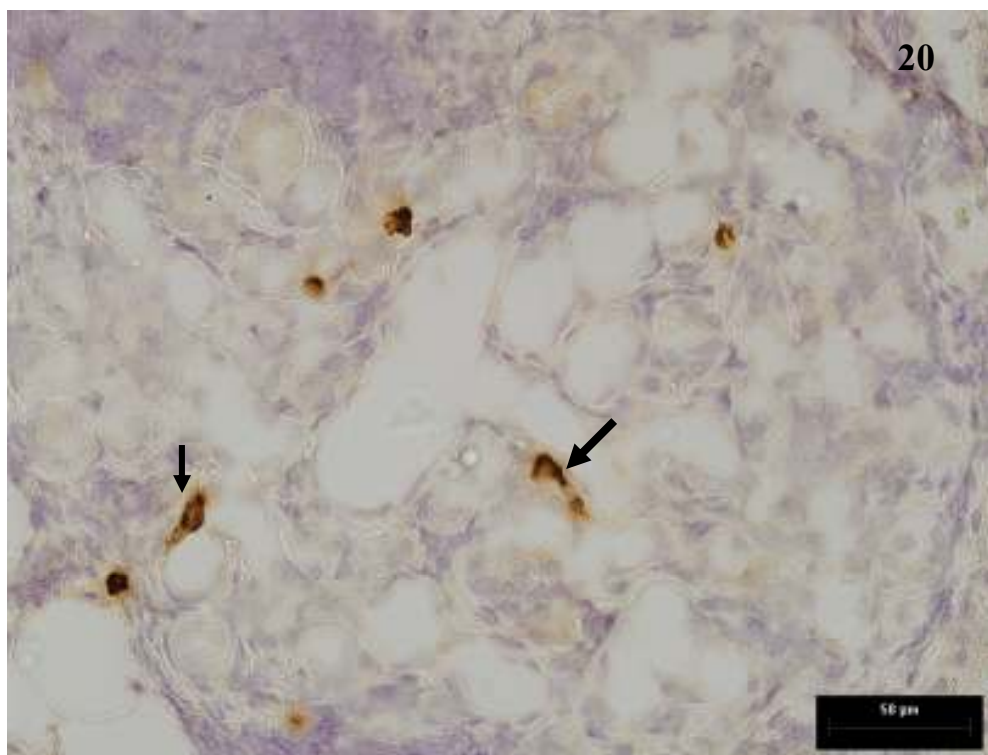


Figura 20. Fotomicrografia do pâncreas de *D. ecaudata*. Notar células imunoreativas a somatostatina (setas) ao redor dos ductos pancreáticos.

Discussão

Os quirópteros são mamíferos que apresentam grande diversidade trófica que não encontra precedentes dentre as demais famílias de mamíferos. Entre estas dietas inclui-se a hematofagia, que é uma dieta predominantemente protéica e com baixa quantidade de glicose; a nectavoria, dieta com alta quantidade de glicose e baixa quantidade de proteína; e a insetivoria onde observa-se uma ingestão de grande quantidade de proteínas. Os morcegos em geral se alimentam uma vez ao dia durante o anoitecer, portanto, precisam absorver uma grande quantidade de proteínas e/ou glicose em um curto intervalo de tempo (Reis, Peracchi, *et al.* 2007). A habilidade de um aproveitamento adequado da energia é em parte devido a modificações morfológicas que ocorrem no tubo gastrointestinal e na porção endócrina do pâncreas destes animais (Keegan e Modinge, 1979).

Os pâncreas das espécies estudadas apresentaram-se histologicamente semelhante ao pâncreas do morcego frugívoro *R. aegyptiacus* (Michelmore, Keegan *et al.*, 1998) onde as ilhotas foram visivelmente destacadas do pâncreas exócrino, ricamente vascularizada e assim como o morcego hematófago *D. ecaudata* possuía formato irregular. No camundongo *Apodemus speciosus* estas ilhotas possuem o formato esférico ou elíptico (Yukama *et al.*, 1999), semelhante ao observado no morcego nectarívoro de nosso estudo.

Neste estudo observou-se que a massa de tecido pancreático total sobre a massa corporal não ultrapassa a relação de 0,6%, sendo esta relação maior nos morcegos insetívoros (0,6%) e menor nos morcegos nectarívoros (0,3%). Em morcegos frugívoros a massa do pâncreas corresponde a 0,1% da massa seca do corpo. essa relação alta é explicada por Michelmore, Keegan *et al.*, 1998 que relatam que a alta porcentagem de tecido pancreático endócrino de quirópteros é necessária para o controle dos altos influxos de glicose durante a sua alimentação.

Quantificação e morfometria de ilhotas pancreáticas de vertebrados têm sido feitos por vários autores, com diferentes finalidades. Warnock e Dabbs *et al et al.* 1990, visando a compatibilidade do pâncreas para doação, verificaram que o diâmetro das ilhotas pancreáticas em humano e em cães são semelhantes tendo estas apresentado tamanho médio de 150 μm . Entretanto, Takei e Teruya *et al.* 1994, reportaram que as ilhotas pancreáticas de porco e do homem variaram de 50 a 200 μm de diâmetro e que cerca de 20% das ilhotas apresentaram 200 μm de diâmetro, tanto no homem quanto no porco, tendo portanto um tamanho de ilhotas compatíveis.

Outros estudos relacionaram a importância do tamanho da ilhota com a secreção hormonal. Hayek e Woodside (1979) relacionaram o tamanho das ilhotas com a quantidade nas secreções de insulina e glucagon no pâncreas de ratos obesos, definindo ilhotas grandes ($> 0,45 \text{ mm}$) e ilhotas pequenas ($< 0,12 \text{ mm}$), as primeiras produzindo mais insulina que as últimas enquanto que as ilhotas pequenas liberam mais glucagon que as ilhotas grandes. Outros estudos relatam que o tamanho destas ilhotas estejam relacionados à fase de desenvolvimento do animal, porém os resultados obtidos no gambá *Didelphis albiventris* indicaram que o diâmetro médio das ilhotas pancreáticas não varia significativamente entre as fases de desenvolvimento, sendo o diâmetro de 76,9 a 87,4 μm não variável (Fonseca, Nogueira, *et al.* 2002).

Elayat, El-Naggar *et al.*, 1995 e Sujatha, Pulimood *et al.*, 2004 mensuraram o diâmetro das ilhotas pancreáticas de ratos Wistar e macacos *Macaca radiata radiata*. Em ratos a medida da ilhota foi cerca de 201 μm e em macacos esta foi de 230 μm . Este estudo mostrou que o peso e o tamanho do animal (200-250g ratos e 3-5 Kg macacos) não estão relacionados ao tamanho das ilhotas. Resultado semelhante foi observado neste estudo, onde o maior diâmetro de ilhota foi observado no morcego nectarívoro *A. geoffroyi* (88,16 μm), cujo peso

corporal é cerca de três vezes menor do que o morcego hematófago *D. ecaudata* que apresentou média do diâmetro da ilhota pancreática de 56.94 μm . Já o morcego insetívoro *P. personatus* apresentou o menor tamanho de ilhota dentre os três grupos, com cerca de 40,47 μm , sendo seu peso corporal compatível ao do morcego nectarívoro *A. geoffroyi*. Estes diferentes tamanhos de ilhotas observados em nosso estudo indicam que possivelmente este parâmetro possa ser influenciado pela dieta de cada animal.

A avaliação quantitativa da estrutura de um órgão e de seus componentes celulares, a partir de seções de tecido por métodos estereológicos, representa uma poderosa ferramenta nas investigações na área da pesquisa biomédica. A estereologia é baseada em considerações geométricas e estatísticas que permite a obtenção de estimativas imparcial de volumes, superfícies, tamanhos e números das estruturas de interesse (Tschanz, Burri, *et al.*, 2011).

O método estereológico tem sido recomendado por vários autores (Chagas, Babinski, *et al* 2002; Bastos, Silva, *et al*, 2004; Mandarin-de-Lacerda, 2003) para evitar o viés que freqüentemente ocorre durante análise de imagens automáticas ou semi-informatizadas, que pode superestimar ou subestimar as estruturas analisadas (Sattar, Wespes, *et al.*, 1994). Este método tem sido utilizado para quantificar o tecido pancreático, determinando, por exemplo, densidade de volume do pâncreas endócrino (Bock, Pakkenberg, *et al.*, 2003), densidade de volume das células endócrinas (Rahier, Wallon, *et al.*, 1980), massa de ilhotas (Bock, Pakkenberg, *et al.*, 2005) e outros elementos do pâncreas endócrino em humanos e ratos.

Utilizando-se deste método, neste estudo quantificou-se o número total de ilhotas pancreáticas, tendo o morcego insetívoro *P. personatus* o N [ilhotas]: 8116,06, o morcego nectarívoro *A. geoffroyi* o menor número médio de ilhota, N [ilhotas]: 7534,76 e o morcego hematófago *D. ecaudata* obteve a maior média, N [ilhotas]: 23900. Este número foi superior aqueles observados em diversas linhagens de ratos que apesar de possuírem uma massa corporal ($\pm 25\text{g}$) e uma massa de tecido pancreático semelhante aos morcegos hematófagos ($\pm 1-2\text{ g}$) possuem N [ilhotas] variando de 1000 a 3500 (Bock, Pakkenberg, *et al.*, 2005).

Os resultados observados em ratos de diferentes linhagens mostraram uma grande variação numérica quanto ao número de ilhotas, sugerindo que genes específicos regulem a variação no tamanho e estrutura (número de ilhotas, massa de ilhotas, massa de células α e β) do pâncreas endócrino (Bock, Pakkenberg, *et al.*, 2005). Yukawa *et al.*, (1999) em estudos com camundongos *A. speciosus* relatou um maior número de ilhotas na porção dorsal do pâncreas que na porção ventral deste.

Michelmores, Keegan *et al.*, 1998 mostraram que o pâncreas do morcego frugívoro *Rousettus aegyptiacus* possui uma densidade de volume (Vv) de cerca de 9,1%. Este resultado foi superior ao encontrado neste estudo, onde o morcego insetívoro *P. personatus* apresentou o Vv de 3,4%, o morcego nectarívoro *A. geoffroyi* o maior Vv de 6,1% e o morcego hematófago *D. ecaudata* obteve o Vv de 4,1%. Apesar destes resultados serem inferiores ao obtido em morcegos frugívoros estes ainda são superiores aqueles observados em humanos adultos onde o Vv é de 2-3% (Rahier, Wallon, *et al.*, 1981) e em ratos adultos com Vv de cerca de 4% (Githens, 1988). Os resultados da densidade de volume encontrados em quirópteros se aproximam daqueles observados em bovinos 5% (Bonner-Weir e Like, 1980) e em crianças Vv ± 7 (Rahier, Wallon, *et al.*, 1981). A explicação desta abundância de tecido endócrino do pâncreas de crianças é em parte explicada devido ao lento desenvolvimento do tecido exócrino, que com o crescimento aumenta seu volume conseqüentemente diminui o Vv do tecido endócrino (Rahier, Wallon, *et al.*, 1981). Já em quirópteros, esta alta densidade volumétrica do tecido endócrino é explicada como necessária para o controle dos altos influxos de glicose durante absorção, sendo superior nos morcegos frugívoros e nectarívoros e mais baixas no insetívoros e hematófago o que de fato pode estar relacionado com os níveis de glicose absorvidas nos diferentes tipos de dieta.

A massa das ilhotas (M [ilhotas]), ou seja, a massa de tecido endócrino ocupado no tecido pancreático total foi de 0,15 mg no morcego insetívoro, cujo peso do pâncreas atinge cerca de 40 mg. No morcego nectarívoro o tecido endócrino pesa cerca de 0,24 mg em um peso pancreático de cerca de 40 mg e no morcego hematófago 0,48 mg em um peso de pâncreas de cerca de 100mg. Em humanos essa massa varia conforme a idade e peso, sendo em neonatos a massa de tecido endócrino cerca de 311 mg em 3g de tecido pancreático, em crianças 440 mg em um peso pancreático de 8 g e em adultos de 1494 mg com peso de pâncreas de 70 Kg (Rahier, Wallon, *et al.*, 1981).

A estrutura das ilhotas pancreáticas consiste basicamente de 4 tipos de células endócrinas secretoras de hormônios que desempenham um papel vital na manutenção da homeostase (Yukawa, Takeuchi, *et al.*, 1999). O padrão de localização das células endócrinas nas ilhotas pancreáticas varia entre as espécies. Nos roedores, há uma distribuição nítida das células nas ilhotas de tal forma que as células β apresentam-se no centro e os outros tipos celulares na periferia (Gomes *et al.*, 1995, Camihort, Del Zotto, *et al.*, 2000, Ku, Lee *et al.* 2001, 2002), enquanto em seres humanos este tipo de segregação, embora esteja presente, é menos clara (Slack, 1995).

Em marsupiais as células β foram encontradas ocupando a periferia das ilhotas pancreáticas (Reddy, Bibby *et al.*, 1986). Nas 3 espécies de morcegos deste estudo as células β , assim como em roedores tiveram um padrão de distribuição central nas ilhotas pancreáticas, como observado no morcego frugívoro *R. aegyptiacus* (Michelmore, Keegan *et al.*, 1998).

As células α tiveram uma localização mais variável nos morcegos estudados, pois se irradiam da periferia para o núcleo; padrão semelhante ao de serpente, onde ambas as células secretoras de insulina e glucagon podem ser localizadas centralmente (Rhoten, 1984). Em macacos (Jones, Reynolds *et al.*, 1980) e cavalos (Helmstaedter, Feurle *et al.*, 1976) esta célula ocupa uma região central da ilhota.

As células δ em nossos estudos localizaram-se em sua maioria na periferia das ilhotas, padrão também observado no morcego frugívoro *R. aegyptiacus* (Michelmore, Keegan *et al.*, 1998).

Pipeleers e In't Veld *et al.*. 1982, demonstraram que a relação existente entre as células das ilhotas, uma com as outras, exerce um forte efeito na secreção pancreática. Orci, Stefan, *et al.*, 1981, descreveram em pâncreas humano, uma associação obrigatória entre as células δ e α para um controle apropriado das secreções pancreáticas das células endócrinas. Stagner e Samols, 1990, propuseram um padrão de perfusão para as células das ilhotas (das células β para as células α e destas para as células δ) onde o padrão de distribuição nas células das ilhotas e a diferença no arranjo dos tipos células é geralmente o resultado da localização dos capilares dentro das ilhotas (Rhoten, 1971).

No morcego hematófago *D. ecaudata* e no insetívoro *P. personatus* observou-se à presença de um processo citoplasmático nas células IR ao glucagon. Estes processos citoplasmáticos também foram identificados nas células secretoras de somatostatina e polipeptídeo pancreático do morcego *R. aegyptiacus* (Michelmore, Keegan *et al.*, 1998), o que demonstra uma possível atividade parácrina destas células sobre a secreção dos demais hormônios.

Todos os 3 tipos celulares estudados foram encontrados dispersos na porção exócrina do pâncreas. Resultado semelhante ao observado em BALB/c mouse (Ku, Lee *et al.*, 2002). Estas células endócrinas também foram observadas ao redor dos ductos pancreáticos ou no epitélio dos ductos, resultado também obtido em estudos preliminares em cães (Muranishi, Takehana, *et al.*, 1999), cavalos (Furuoka, Ito *et al.*, 1989), cabras (Ku, Lee *et al.*, 1999) e roedores (Ku, Lee *et al.*, 2002). A quantidade destas células nesta região também está relacionada ao período de desenvolvimento nos animais, sendo a maior frequência destas

células observada durante o desenvolvimento embrionário, nos neonatos (Hahn Von Dorsche, Falt *et al.*, 1999) e animais jovens (Helmstaedter, Feurle *et al.* 1976). Esta localização de células endócrinas na região dos ductos pancreáticos, geralmente encontrada nos mamíferos superiores, é considerada uma característica espécie-dependente (Ku, Lee *et al.*, 2002).

As células α do pâncreas sintetizam o glucagon e são responsáveis por controlar os níveis de glicose no sangue. A frequência desta célula varia entre as espécies. Em cães a proporção deste tipo celular foi estimado em 20%. No morcego *R. aegyptiacus* (Michelmores, Keegan *et al.*, 1998) esta célula representa cerca de 28,5%. Nos morcegos deste estudo, as células α representaram cerca de 14,7-25,8% das células endócrinas presentes nas ilhotas, sendo a maior % obtida no morcego insetívoro *P. personatus* com 25,8%. No morcego nectarívoro *A. geoffroyi* este foi o tipo celular predominante. Este predomínio de células α foi encontrado também em grande parte das ilhotas do rato africano *Otomys sloggetti robertsi* (Gustavsen, Pillay *et al.* 2008). Yukawa, Takeuchi *et al.*, 1999 ao observarem a porção dorsal do pâncreas de Wood mice (*Apodemus speciosus*) relataram que em uma das cinco espécimes estudadas houve uma predominância deste tipo celular. Este fenômeno pode estar relacionado com a dieta destes animais ou ser uma consequência do meio ambiente que estes vivem. A composição dos tipos celulares endócrinos do pâncreas pode também ser explicado como uma variante espécie-específica ou podem refletir uma adaptação funcional especial (Gustavsen, Pillay *et al.* 2008).

As células β são as principais responsáveis pela manutenção da euglicemia, tanto no neonato quanto no adulto, sendo a sua população dinâmica de acordo com as mudanças compensatórias do organismo (Bonner-Weir, 2000). Essas células sintetizam a insulina, um hormônio hipoglicemiante, e geralmente encontram em maior concentração nas ilhotas pancreáticas, cerca de 60-70% em humanos, cães e roedores (Kodansha, 1999). Em nossos resultados esta frequência foi menor que a obtida nestas espécies. No insetívoro *P. personatus* esta representa cerca de 35,5%, no hematófago *D. ecaudata* a densidade da imunomarcagem foi de 54,8% e a mais baixa frequência encontrada foi no morcego nectarívoro *A. geoffroyi*, com cerca de 8,7%. Esta reduzida densidade de células beta pode ser revelada em situações de aumento da demanda de insulina como na obesidade, no período gestacional e no envelhecimento (Reusens e Remacle, 2006). No morcego *R. aegyptiacus* (Michelmores, Keegan *et al.*, 1998) esta representou 47,4% das células endócrinas.

As células δ possuem normalmente baixa frequência nas ilhotas pancreáticas. Estas células possuem um papel importante no controle parácrino do desenvolvimento das células α e β e também na maturação funcional destas (Rahier *et al.*, 1980). Em nosso estudo, esta célula apresentou frequência de 3,9% nos insetívoros, 6,2% nos nectarívoros 14,3%, no morcego hematófago. Em *R. aegyptiacus* esta representou 7,8% das células endócrinas (Michelmores, Keegan *et al.*, 1998). Altas proporções deste tipo celular (33-15%) foram observadas no rato *A. Speciosus*, sendo a maior concentração nas ilhotas da porção dorsal do pâncreas.

Sabe-se que a distribuição e a proporção relativa dos diferentes tipos celulares podem variar significativamente entre as espécies devido a diferentes condições fisiológicas e patológicas (Wieczorek, Pospischil *et al.*, 1998). Os resultados obtidos neste estudo confirmam estudos anteriores em quirópteros onde foram utilizados métodos histoquímicos (Keegan e van der Westhuizen, 1979) e métodos imuno-histoquímicos e estereológicos (Michelmores, Keegan *et al.*, 1998) para marcar as diferentes células das ilhotas de morcego frugívoro. O fato também corroborado neste estudo é que morcegos possuem uma grande massa de tecido pancreático endócrino. A explicação seria que esta é uma adaptação vantajosa, em que o animal desta forma seria capaz de controlar os nível de glicose no sangue rapidamente após as refeições, quando ocorre a ingestão e absorção de grande quantidade de glicose durante uma refeição.

A análise comparativa das características morfológicas do pâncreas de quirópteros pode fornecer elementos importantes para ampliar nossos conhecimentos sobre as relações filogenéticas do presente grupo, bem como para subsidiar as hipóteses para a compreensão das relações entre hábitos alimentares e morfologia do aparelho digestivo de morcegos.

Conclusão

- Histologicamente o pâncreas das três espécies de morcegos foram semelhantes ao descrito para mamíferos, sendo composto de uma parte exócrina representada pelos ácinos e ductos e uma parte endócrina composta pelas ilhotas pancreáticas.
- A massa do pâncreas de morcegos é superior aquela observada em mamíferos tais como humanos e ratos, sendo esta relação maior nos morcegos insetívoros 0,6%.
- Os morcegos apresentam uma alta densidade volumétrica das ilhotas, que varia entre 3,4% no morcego insetívoro *P. personatus* a 6,1% no morcego nectarívoro *A. geoffroyi*.
- O número total de ilhotas e massa das ilhotas (M [ilhotas]) foi superior nos morcegos hematófagos.
- A densidade e distribuição das células alfa, beta e delta variou conforme as espécies.
- Foi constatada a presença de todos os tipos celulares endócrinos estudados espalhados entre o pâncreas exócrino, entre os ductos pancreáticos e também de processo citoplasmático nas células secretoras de glucagon.
- As diferenças observadas entre espécies nos diversos parâmetros analisados podem refletir diferenças inter-específicas, assim como adaptações morfológicas das espécies ao seus hábitos alimentares.

Referências Bibliográficas

- Aguiar, L. M. S., W. R. Camargo, *et al.* Occurrence of whitewinged vampire bat, *Diaemus youngi* (Mammalia: Chiroptera), in the Cerrado of Distrito Federal, Brazil. Rev. Bras. Zool, v.23, n.3, p.893-896. 2006.
- Ahlgren, U., J. Jonsson, *et al.* The morphogenesis of the pancreatic mesenchyme is uncoupled from that of the pancreatic epithelium in IPF1/PDX1-deficient mice. Development, v.122, n.5, May, p.1409-16. 1996.
- Arimura, A., H. Sato, *et al.* Somatostatin: abundance of immunoreactive hormone in rat stomach and pancreas. Science, v.189, n.4207, Sep 19, p.1007-9. 1975.
- Baetens, D., F. Malaisse-Lagae, *et al.* Endocrine pancreas: three-dimensional reconstruction shows two types of islets of langerhans. Science, v.206, n.4424, Dec 14, p.1323-5. 1979.
- Bani Sacchi, T. e D. Bani. New views on the identification of the various cell types in the pancreatic islets of the rat. An ultrastructural and morphometrical study. Acta Anat (Basel), v.122, n.1, p.1-17. 1985.
- Bastos, A. L., E. A. Silva, *et al.* The concentration of elastic fibres in the male urethra during human fetal development. BJU Int, v.94, n.4, Sep, p.620-3. 2004.
- Bell, G. I., R. L. Pictet, *et al.* Sequence of the human insulin gene. Nature, v.284, n.5751, Mar 6, p.26-32. 1980.
- Bell, G. I., R. F. Santerre, *et al.* Hamster proglucagon contains the sequence of glucagon and two related peptides. Nature, v.302, n.5910, Apr 21, p.716-8. 1983.
- Bock, T., B. Pakkenberg, *et al.* Increased islet volume but unchanged islet number in ob/ob mice. Diabetes, v.52, n.7, Jul, p.1716-22. 2003.
- Bock, T., B. Pakkenberg, *et al.* Genetic background determines the size and structure of the endocrine pancreas. Diabetes, v.54, n.1, Jan, p.133-7. 2005.
- Bonner-Weir, S. e A. A. Like. A dual population of islets of Langerhans in bovine pancreas. Cell Tissue Res, v.206, n.1, p.157-70. 1980.
- Bonner-Weir S. Life and death of the pancreatic beta cells. Trends Endocrinol Metab, v. n.11, p. 375-378. 2000.
- Brazeau, P., W. Vale, *et al.* Hypothalamic polypeptide that inhibits the secretion of immunoreactive pituitary growth hormone. Science, v.179, n.68, Jan 5, p.77-9. 1973.
- Bromer, W. W., L. G. Sinn, *et al.* The amino acid sequence of glucagon. Diabetes, v.6, n.3, May-Jun, p.234-8. 1957.
- Brosnan, J. T. Comments on metabolic needs for glucose and the role of gluconeogenesis. European Journal of Clinical Nutrition, v.53, p.S107-S111. 1999.

- Camihort, G., H. Del Zotto, *et al.* Quantitative ultrastructural changes induced by sucrose administration in the pancreatic B cells of normal hamsters. Biocell, v.24, n.1, Apr, p.31-7. 2000.
- Chang, X., A. M. Jorgensen, *et al.* Solution structures of the R6 human insulin hexamer. Biochemistry, v.36, n.31, Aug 5, p.9409-22. 1997.
- Chagas, M. A., M. A. Babinski, *et al.* Stromal and acinar components of the transition zone in normal and hyperplastic human prostate. BJU Int, v.89, n.7, May, p.699-702. 2002.
- Costoff, A. Structure, Synthesis, and Secretion of Somatostatin. In: (Ed.). Endocrinology: The Endocrine Pancreas. : Medical College of Georgia, 2008. Structure, Synthesis, and Secretion of Somatostatin.
- Cunningham, J. G. Tratado de Fisiologia Veterinária: Guanabara Koogan. 2004
- D'este, L., R. Buffa, *et al.* Immunohistochemical localization of chromogranin A and B in the endocrine cells of the alimentary tract of the green frog, *Rana esculenta*. Cell Tissue Res, v.277, n.2, Aug, p.341-9. 1994.
- Dalquest, W. W. Natural history of the vampire bats of eastern Mexico. The American Midland Naturalist, v.53, p.79-87. 1955.
- Dhawan S, Georgia S, Bhushan A. Formation and regeneration of the endocrine pancreas. Curr Opin Cell Biol, v. 19, p. 634-645. 2007.
- Eberhard, D., D. Tosh, *et al.* Origin of pancreatic endocrine cells from biliary duct epithelium. Cell Mol Life Sci, v.65, n.21, Nov, p.3467-80. 2008.
- Elayat, A. A., M. M. El-Naggar, *et al.* An immunocytochemical and morphometric study of the rat pancreatic islets. J Anat, v.186 (Pt 3), Jun, p.629-37. 1995.
- Elizalde-Arellano, C., J. C. López-Vidal, *et al.* Food sharing behavior in the hairy-legged vampire bat *Diphylla ecaudata*. Acta Chiropterologica, v. 9, n.1, p.314-319. 2007.
- Erlandsen, S. L., O. D. Hegre, *et al.* Pancreatic islet cell hormones distribution of cell types in the islet and evidence for the presence of somatostatin and gastrin within the D cell. J Histochem Cytochem, v.24, n.7, Jul, p.883-97. 1976.
- Falkmer, S. e S. Van Noorden. Ontogeny and phylogeny of the glucagon cell. Handbook Exp. Pharmacol., v. 66, p.81–119. 1983.
- Findley, J. S. Bats - A Community perspective 1993 (Cambridge Studies in Ecology, Cambridge University Press, Cambridge)
- Foa, P. P., G. Galansino, *et al.* Glucagon, a second pancreatic hormone. Recent Prog Horm Res, v.13, p.473-503; discussion 503-10. 1957.
- Fonseca, C. C., J. C. Nogueira, *et al.* Diâmetro das ilhotas pancreáticas do gambá *Didelphis albiventris* em desenvolvimento intramarsupial. Archives of Veterinary Science, v.7, n.2, p.129-134. 2002

- Freitas, M. B., A. F. Welker, *et al.* Metabolic responses induced by fasting in the common vampire bat *Desmodus rotundus*. J Comp Physiol B, v.173, n.8, Nov, p.703-7. 2003.
- Furuoka, H., H. Ito, *et al.* Immunocytochemical component of endocrine cells in pancreatic islets of horses. Nippon Juigaku Zasshi, v.51, n.1, Feb, p.35-43. 1989.
- Gersell, D. J., R. L. Gingerich, *et al.* Regional distribution and concentration of pancreatic polypeptide in the human and canine pancreas. Diabetes, v.28, n.1, Jan, p.11-5. 1979.
- Gittes, G. K., P. E. Galante, *et al.* Lineage-specific morphogenesis in the developing pancreas: role of mesenchymal factors. Development, v.122, n.2, Feb, p.439-47. 1996.
- Goldsmith, P. C., J. C. Rose, *et al.* Ultrastructural localization of somatostatin in pancreatic islets of the rat. Endocrinology, v.97, n.4, Oct, p.1061-4. 1975.
- Gomes, C. I. D. Metabolismo energético e resposta ao jejum do morcego hematófago *Diphylla ecaudata*. Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade de Brasília, Universidade de Brasília, Brasília, 2008. 49 p.
- Greenhall, A. M., U. Schmidt, *et al.* *Diphylla ecaudata*. Mamm. Species, v. 227, p.1-3. 1984.
- Gustavsen, C. R., N. Pillay, *et al.* An immunohistochemical study of the endocrine pancreas of the African ice rat, *Otomys sloggetti robertsi*. Acta Histochem, v.110, n.4, p.294-301. 2008.
- Hahn Von Dorsche, H., K. Falt, *et al.* Immunohistochemical, morphometric, and ultrastructural investigations of the early development of insulin, somatostatin, glucagon, and PP cells in foetal human pancreas. Diabetes Res, v.12, n.2, Oct, p.51-6. 1989.
- Hayek, A. e W. Woodside. Correlation between morphology and function in isolated islets of the Zucker rat. Diabetes, v.28, n.6, Jun, p.565-9. 1979.
- Helmstaedter, V., G. E. Feurle, *et al.* Insulin-, glucagon-, and somatostatin-immunoreactive endocrine cells in the equine pancreas. Cell Tissue Res, v.172, n.4, Sep 29, p.447-54. 1976.
- IUCN 2010. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2010.4. <www.iucnredlist.org>. In. Sampaio, E., Lim, B. & Peters, S. 2008. *Diphylla ecaudata*.
- Ito, H., J. Yamada, *et al.* An immunohistochemical study on the distribution of endocrine cells in the gastrointestinal tract of the pig. Nippon Juigaku Zasshi, v.49, n.1, Feb, p.105-14. 1987.
- Jensen, J. Gene regulatory factors in pancreatic development. Developmental Dynamics.v.229, p. 176–200. 2004.

- Johnson, J. A., J. P. Grande, *et al.* Immunohistochemical localization of the 1,25(OH)₂D₃ receptor and calbindin D28k in human and rat pancreas. Am J Physiol, v.267, n.3 Pt 1, Sep, p.E356-60. 1994.
- Jones, C. W., W. Reynolds, *et al.* Streptozotocin diabetes in the monkey, plasma levels of glucose, insulin, glucagon and somatostatin with corresponding morphometric analysis of islet endocrine cells. Diabetes, v. 29, p.536-546. 1980.
- Kaung HL. Growth dynamics of pancreatic islet cell populations during fetal and neonatal development of the rat. Dev Dyn; v. 200, p.163-175. 1994.
- Keegan, D. J. e R. Modinger. Microvilli of the intestinal mucosal cells of *Rousettus aegyptiacus*. S. AFR. J.Zool., v.14, n.220-223. 1979.
- Kodansha, T. Pancreatic (GEP) endocrine system. In: (Ed.). Atlas of Endocrine Organs, Vertebrates and Invertebrates: Japan Society for Comparative Endocrinology, 1999. Pancreatic (GEP) endocrine system, p.72-83
- Kojima, H., M. Fujimiya, *et al.* Extrapancreatic insulin-producing cells in multiple organs in diabetes. Proc Natl Acad Sci U S A, v.101, n.8, Feb 24, p.2458-63. 2004.
- Ku, S. K., H. S. Lee, *et al.* An immunohistochemical study on the pancreatic islets cells of the Mongolian gerbils, *Meriones unguiculatus*. J Vet Sci, v.2, n.1, Apr, p.9-14. 2001.
- Ku, S. K., H. S. Lee, *et al.* An immunohistochemical study on the pancreatic endocrine cells of the C57BL/6 mouse. J Vet Sci, v.3, n.4, Dec, p.327-33. 2002.
- Ku, S. K., H. S. Lee, *et al.* Immunohistochemical of glucagon-immunoreactive cells in the developing pancreas of korean native goat (*Capra hircus*). Korean J. Biol. Sci., v.3, n.2, p.187-191. 1999.
- Lord, R. D. Seasonal reproduction of vampire bats and its relation to seasonality of bovine rabies. journal of wildlife diseases, v.28, n.2, p.292-294. 1992.
- Machado-Santos, C., A. A. Nascimento, *et al.* Distributions of the endocrine cells in the gastrointestinal tract of nectarivorous and sanguivorous bats: a comparative immunocytochemical study. Tissue Cell, v.41, n.3, Jun, p.222-9. 2009.
- Malaisse-Lagae, F., Y. Stefan, *et al.* Identification of a lobe in the adult human pancreas rich in pancreatic polypeptide. Diabetologia, v.17, n.6, Dec, p.361-5. 1979.
- Mandarim-De-Lacerda, C. A. Stereological tools in biomedical research. An Acad Bras Cienc, v.75, n.4, Dec, p.469-86. 2003.
- Mandarim-De-Lacerda, C. A. E. A. Image analysis and quantitative morphology. In: H. Press (Ed.). Histology protocols: methods in molecular biology. New Jersey, 2010. Image analysis and quantitative morphology
- Mandrup-Poulsen, T. IAPP boosts islet macrophage IL-1 in type 2 diabetes. Nat Immunol, v.11, n.10, Oct, p.881-3. 2010.

- Mcevoy, R. C. Changes in the volumes of the A-, B-, and D-cell populations in the pancreatic islets during the postnatal development of the rat. Diabetes, v.30, n.10, Oct, p.813-7. 1981.
- Mcevoy, R. C. e O. D. Hegre. Morphometric quantitation of the pancreatic insulin-, glucagon-, and somatostatin-positive cell populations in normal and alloxan-diabetic rats. Diabetes, v.26, n.12, Dec, p.1140-6. 1977.
- Michelmore, A. J., D. J. Keegan, *et al.* Immunocytochemical identification of endocrine cells in the pancreas of the fruit bat, *Rousettus aegyptiacus*. Gen Comp Endocrinol, v.110, n.3, Jun, p.319-25. 1998.
- Moore, K. L. e T. V. N. Persaud. Embriologia Básica. 2008.
- Muranishi, T., K. Takehana, *et al.* An investigation of the relationship between duct system and A cell-rich and PP cell-rich pancreatic islets in the canine pancreas. J Vet Med Sci, v.61, n.7, Jul, p.737-42. 1999.
- Nakamura, M., T. Shimada, *et al.* Ultrastructural studies on the pancreatic polypeptide cell of the rat with special reference to pancreatic regional differences and changes induced by alloxan diabetes. Acta Anat (Basel), v.108, n.2, p.193-201. 1980.
- Nowak, R. M. Walker's Mammals of the World. London: Hopkins Fulfillment Service, v.6. 1999. 2015 p.
- Offield, M. F., T. L. Jetton, *et al.* PDX-1 is required for pancreatic outgrowth and differentiation of the rostral duodenum. Development, v.122, n.3, Mar, p.983-95. 1996.
- Orci, L. Macro- and micro-domains in the endocrine pancreas. Diabetes, v.31, n.6 Pt 1, Jun, p.538-65. 1982.
- Orci, L., D. Baetens, *et al.* Pancreatic polypeptide islets and glucagon islets: distinct topographic distribution in rat pancreas. C R Acad Sci Hebd Seances Acad Sci D, v.283, n.10, Oct 27, p.1213-6. 1976.
- Orci, L., Y. Stefan, *et al.* 'Obligatory' association between A and D cells demonstrated by bipolar islets of neonatal pancreas. Diabetologia, v.21, n.1, Jul, p.73-4. 1981.
- Owens, K. " *Diphylla ecaudata* " (On-line), Animal Diversity Web.
http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/Diphylla_ecaudata.html
 . 2002.
- Pettigrew, J. D. Flying primates? Megabats have the advanced pathway from eye to midbrain. Science, v.231, n.4743, Mar 14, p.1304-6. 1986.
- Pine, R. H. The bats of three genus carollia. Texas Agric. Exp. Station Texas A & M Univ, Texas 1972. 125 p.

- Pinheiro, E. C., V. A. Taddei, *et al.* Effect of fasting on carbohydrate metabolism in frugivorous bats (*Artibeus lituratus* and *Artibeus jamaicensis*). Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol, v.143, n.3, Mar, p.279-84. 2006.
- Pipeleers, D., P. I. In't Veld, *et al.* Glucose-induced insulin release depends on functional cooperation between islet cells. Proc Natl Acad Sci U S A, v.79, n.23, Dec, p.7322-5. 1982.
- Rahier, J., J. Wallon, *et al.* Abundance of somatostatin cells in the human neonatal pancreas. Diabetologia, v.18, n.3, Mar, p.251-4. 1980.
- Rahier, J., J. Wallon, *et al.* Cell populations in the endocrine pancreas of human neonates and infants. Diabetologia, v.20, n.5, May, p.540-6. 1981.
- Reddy, S., N. J. Bibby, *et al.* Immunolocalization of insulin, glucagon, pancreatic polypeptide, and somatostatin in the pancreatic islets of the possum, *Trichosurus vulpecula*. Gen Comp Endocrinol, v.64, n.1, Oct, p.157-62. 1986.
- Redecker, P., A. Seipelt, *et al.* The microanatomy of canine islets of Langerhans: implications for intra-islet regulation. Anat Embryol (Berl), v.185, n.2, p.131-41. 1992.
- Reis, N. R. e W. N. Mok. Wangiella dermatitidis isolated from bats in Manaus, Brazil Revista Sabouraudia, v.17, p.213-218. 1979.
- Reis, N. R., A. L. Peracchi, *et al.* Morcegos do Brasil. Londrina. 2007. 253p. p.
- Remacle, C., N. Hauser, *et al.* Morphometric analysis of endocrine pancreas in old rats. Exp Gerontol, v.12, n.5-6, p.207-14. 1977.
- Reusens B, Remacle C. Programming of the endocrine pancreas by the early nutritional environment. Int J Biochem Cell Biol, v. 38, p. 913-922. 2006
- Rhoten, W. B. Immunocytochemical localization of four hormones in the pancreas of the garter snake, *Thamnophis sirtalis*. Anat Rec, v.208, n.2, Feb, p.233-42. 1984.
- Rhoten, W. B. Light and electron microscopic studies on pancreatic islets of the lizard *Lygosoma laterale*. I. Normal and glucose-loaded animals. Gen Comp Endocrinol, v.17, n.1, Aug, p.203-19. 1971.
- Rouk, C. S. e B. P. Glass. Comparative gastric histology of five North and Central American bats. J Mammal, v.51, n.3, Aug, p.455-90. 1970.
- Samols, E., S. Bonner-Weir, *et al.* Intra-islet insulin-glucagon-somatostatin relationships. Clin Endocrinol Metab, v.15, n.1, Feb, p.33-58. 1986.
- Sattar, A. A., E. Wespes, *et al.* Computerized measurement of penile elastic fibres in potent and impotent men. Eur Urol, v.25, n.2, p.142-4. 1994.
- Schutt, W. A., F. J. Muradali, *et al.* Behavior and Maintenance of Captive White-Winged Vampire Bats, *Diaemus youngi* Journal of Mammalogy, v.80, n.1, p. 71-81 1999.

- Schutt, Jr., W. e J. Altenbach. 1997. A Sixth Digit in *Diphylla ecaudata*, the Hairy Legged Vampire Bat. Mammalia, v.61, n 2, p. 280-285.
- Simmons, N. B. Order chiroptera. In Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference. Washington: Smithsonian Institution Press,. 2005
- Slack, J. M. Developmental biology of the pancreas. Development, v.121, n.6, Jun, p.1569-80. 1995.
- Smith, P. H. Immunocytochemical localization of glucagonlike and gastric inhibitory polypeptidelike peptides in the pancreatic islets and gastrointestinal tract. Am J Anat, v.168, n.1, Sep, p.109-18. 1983.
- Speakman, J. R. The evolution of flight and echolocation in bats: another leap in the dark. Mammal Rev., v. 31, n.2, p.111-130. 2001.
- Stagner, J. I. e E. Samols. The induction of capillary bed development by endothelial cell growth factor before islet transplantation may prevent islet ischemia. Transplant Proc, v.22, n.2, Apr, p.824-8. 1990.
- Stefan, Y., L. Orci, *et al.* Quantitation of endocrine cell content in the pancreas of nondiabetic and diabetic humans. Diabetes, v.31, n.8 Pt 1, Aug, p.694-700. 1982.
- Sujatha, S. R., A. Pulimood, *et al.* Comparative immunocytochemistry of isolated rat & monkey pancreatic islet cell types. Indian J Med Res, v.119, n.1, Jan, p.38-44. 2004.
- Sundler, F., R. Hakanson, *et al.* Ontogeny of rat pancreatic polypeptide (PP) cells. Cell Tissue Res, v.178, n.3, Mar 16, p.303-6. 1977.
- Takei, S., M. Teruya, *et al.* Isolation and function of human and pig islets. Pancreas, v.9, n.2, Mar, p.150-6. 1994.
- Thurlo, T. B. Cellular components of the mammalian islet of Langerhans. Am. J. Anat, v.62, p.31-57. 1937.
- Tschanz, S. A., P. H. Burri, *et al.* A simple tool for stereological assessment of digital images: the STEPanizer. J Microsc, Mar 7. 2011.
- Uieda, W. Comportamento alimentar de morcegos hematófagos ao atacar aves, caprinos e suínos, em condições de cativeiro. Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas-SP, 1994. 178 p.
- Unger, R. H. e L. Orci. Glucagon and the A cell: physiology and pathophysiology (first two parts). N Engl J Med, v.304, n.25, Jun 18, p.1518-24. 1981.
- Vaillant, C. R. e P. K. Lund. Distribution of glucagon-like peptide I in canine and feline pancreas and gastrointestinal tract. J Histochem Cytochem, v.34, n.9, Sep, p.1117-21. 1986.

- Warnock, G. L., K. D. Dabbs, *et al.* Critical mass of islets that function after implantation in a large mammalian. Horm Metab Res Suppl, v.25, p.156-61. 1990.
- Watanabe, T. e I. Nagatsu. Immunohistochemical colocalization of insulin, aromatic L-amino acid decarboxylase and dopamine beta-hydroxylase in islet B cells of chicken pancreas. Cell Tissue Res, v.263, n.1, Jan, p.131-6. 1991.
- Widmaier, E. P. e T. H. Kunz. Basal, diurnal, and stress-induced levels of glucose and glucocorticoids in captive bats. J Exp Zool, v.265, n.5, Apr 1, p.533-40. 1993.
- Wieczorek, G., A. Pospischil, *et al.* A comparative immunohistochemical study of pancreatic islets in laboratory animals (rats, dogs, minipigs, nonhuman primates). Exp Toxicol Pathol, v.50, n.3, Jun, p.151-72. 1998.
- Winter, Y., J. Lopez, *et al.* Ultraviolet vision in a bat. Nature, v.425, n.6958, Oct 9, p.612-4. 2003.
- Yalden, D. W. e P. A. Morris. The lives of bats 1975. 247 p. (Newton Abbot : David & Charles)
- Yukawa, M., T. Takeuchi, *et al.* Proportions of Various Endocrine Cells in the Pancreatic Islets of Wood Mice (*Apodemus speciosus*) Anatomia, Histologia, Embryologia, v.28, n.1, p.13-16. 1999.