

## ANÁLISE HISTOMORFOLÓGICA E HISTOMORFOMÉTRICA DO TECIDO ÓSSEO MADURO DE *Glossophaga soricina* (PHYLLOSTOMIDAE:CHIROPTERA)

CIBELE LEANDRO DA COSTA<sup>1</sup>, JOSÉ ALEX ALVES DOS SANTOS<sup>2</sup>, KATHARINE RAQUEL PEREIRA DOS SANTOS<sup>3</sup>, FRANCISCO CARLOS AMANAJÁS DE AGUIAR JÚNIOR<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Graduada em Biologia pela Universidade Federal de Pernambuco, Vitória de Santo Antão, PE, Brasil

<sup>2</sup>Graduado em Enfermagem pela Universidade Federal de Pernambuco, Vitória de Santo Antão, PE, Brasil

<sup>3</sup>Professora Doutora da Universidade Federal de Pernambuco, Vitória de Santo Antão, PE, Brasil

<sup>4</sup>Professor Doutor da Universidade Federal de Pernambuco, Vitória de Santo Antão, PE, Brasil -famanajas@yahoo.com.br.

### RESUMO

O tecido ósseo apresenta diferentes modelos de vascularização, distribuição celular, mineralização e remodelação entre as espécies de mamíferos. A variedade de hábito alimentar associado ao modo de locomoção e ao habitat exigiu dos morcegos o estabelecimento de diferentes estilos de voo e algumas adaptações esqueléticas. Este trabalho objetivou analisar as características microscópicas do tecido ósseo maduro de *Glossophaga soricina* (Phyllostomidae: Chiroptera). Foram utilizados 12 animais entre machos e fêmeas, dos quais os úmeros direitos foram dissecados, pesados, descalcificados e submetidos ao processamento histológico de rotina. Cortes semi-seriados de 5 micrômetros de espessura foram corados pela técnica de hematoxilina e eosina (H.E.), picrosírius red e nitrato de

prata a 50%. Os preparados histológicos foram submetidos à análise histológica e histomorfométrica. A média da densidade lacunar foi significativamente maior nas amostras de úmero de fêmeas quando comparada com a de machos (33,96 x 27,80, p=0,02). A análise microscópica indicou a presença de fibras colágenas distribuídas paralelamente na matriz óssea. As lacunas apresentavam formatos variados e canaliculos bem distribuídos e individualizados. Poucos sistemas e canais de havers foram observados. O tecido ósseo maduro do úmero de *Glossophaga soricina* compartilha de características microscópicas com outros mamíferos, embora, diferenças na organização estrutural deste sejam peculiares à espécie.

PALAVRAS-CHAVE: *Glossophaga soricina*; histomorfometria; osso.

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

### ABSTRACT

Bone tissue has different models of vascularization, cellular distribution, mineralization and remodeling among mammals species. A variety of dietary habits associated with the mode of locomotion and habitat required from bats the establishment of different flying styles and some skeletal adaptations. This study aimed at examining the microscopic characteristics of mature bone tissue of *Glossophaga soricina* (Phyllostomidae, Chiroptera). Twelve animals of both genders were used, in

which the right humerus were dissected, weighed, decalcified and submitted to routine histological processing. Semi-serial cuts of 5 micrometers were stained with hematoxylin and eosin (H.E.), picrosirius red and silver nitrate 50%. The histological preparations were subjected to histological and histomorphometric analysis. Lacunae density was significantly higher in humerus of females when compared to males (33.96 x 27.80, p = 0.02). Microscopic analysis indicated the presence of

parallel collagen fibers distributed in the bone matrix. Lacunes presented various shapes and canaliculi are well distributed and individualized. Few Havers systems and canals were observed. The mature bone tissue of the

humerus *Glossophaga soricina* share microscopic features with other mammals, however, differences in the structural organization are peculiar to this species.

KEYWORDS: bone; *Glossophaga soricina*; histomorphometry.

## INTRODUÇÃO

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

*Glossophaga soricina* está incluída na subfamília Glossophaginae, a qual apresenta hábitos nectarívora/polinívoro e, ocasionalmente, faz uso de partes de flores, frutos, além de insetos (GARDNER, 1977). Essa espécie possui ampla distribuição por toda região neotropical. No Brasil, já foi registrada em diversos estados e possui tamanho intermediário, com comprimento do corpo variando entre 45 e 61 mm, cauda entre 5 e 10 mm, antebraço entre 31,8 e 39,8 mm e peso entre 7 e 17g (NOGUEIRA et al., 2007).

Alguns autores observaram que, em quirópteros, existe uma correlação da forma da asa sobre o estilo do voo e o hábito alimentar. SWARTZ & NORBERG (1998) ressaltam a importância da morfologia externa da asa na determinação do tipo de voo em morcegos da família Phyllostomidae, afirmando, ainda, que esses fatores podem determinar preferências de guildas alimentares.

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

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

Estudos se concentram nas modificações esqueléticas da asa em morcegos. No úmero, por exemplo, a crista peitoral é bastante desenvolvida e

atua como local de inserção dos músculos deltóide e peitoral, ambos envolvidos no voo (VAUGHAN, 1970; BAKER et al., 1991). No entanto, poucos estudos caracterizam as estruturas microanatômicas do osso do braço e antebraço de morcegos.

O tecido ósseo é considerado como a mais importante aquisição na evolução dos tecidos de suporte em vertebrados. Permite locomoção, estoque de cálcio e outros íons, serve como reservatório de fatores de crescimento e citocinas e aloja células-tronco hematopoéticas (CLARKE, 2008). Embora esse tecido pareça metabolicamente inerte, é extremamente dinâmico e sofre controle ativo de diversos tipos celulares e de hormônios (NAKASHIMA & TAKAYANAGI, 2009). É constituído de células – osteoblastos, osteócitos e osteoclastos – e de matriz extracelular calcificada (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2008).

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

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

## MATERIAL E MÉTODOS

Foi utilizado o úmero direito de 12 espécimes de *Glossophaga soricina* previamente capturados, sacrificados (Licença-IBAMA 16070-1),

identificados, pesados e fixados em formol. Os animais foram categorizados em gênero (macho e fêmea) e idade (jovem e adulto), sendo que a estimativa da idade deu-se pela verificação da ossificação entre a segunda e terceira falanges do terceiro dedo (DIETZ et al., 2006). O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CCB/UFPE), Processo nº 23076.020047/2009-58, de acordo com a legislação e os princípios éticos vigentes.

Dentre os 12 espécimes de *Glossophaga soricina* utilizados, cinco (41,66%) eram machos e sete (58,33%) eram fêmeas e todos os animais selecionados eram adultos. Os úmeros foram retirados, lavados em água corrente e imersos em solução de hipoclorito de sódio 0,5% por 24 h e em seguida, novamente lavados em água corrente. O tecido ósseo obtido foi fixado em formalina neutra a 10% tamponada por 24 horas, descalcificado com ácido fórmico a 10% tamponado com citrato de sódio pH 4,5 por 14 dias, clivado, desidratado em soluções crescentes de etanol, diafanizados em xilol e incluído em parafina para posterior microtomia.

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

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

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

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tipicamente, um osso consiste em tecido ósseo e outros tecidos conjuntivos. O primeiro é constituído de células e matriz calcificada. As células associadas a esse tecido são: osteoblastos, osteócitos e osteoclastos. Os osteoblastos são células que

segregam tanto o colágeno tipo I quanto as demais proteínas da matriz óssea (parte orgânica da matriz). São responsáveis, também, pela calcificação da matriz óssea, pois são capazes de concentrar fosfato de cálcio. Essas células foram reconhecidas pela sua basofilia e forma poligonal, além da sua disposição em uma camada de células situada em aposição ao perióstio e ao osso em formação (Figura 1). A matriz recém-depositada, que recebe o nome de osteóide, não é imediatamente calcificada e, à medida que ocorre sua deposição, os osteoblastos são circundados e, em seguida, transforma-se em osteócitos. Frequentemente, os osteoblastos não são evidenciados ou mostram-se distorcidos, resultado do processo de descalcificação da matriz (Figura 2) (ROSS & WOJCIECH, 2008).

Quando totalmente circundados por osteóide, os osteoblastos são referidos como osteócitos. Estas são as células responsáveis por manter a matriz óssea e pela mecanotransdução, na qual o osteócito responde às forças mecânicas aplicadas ao osso. Os osteócitos estão situados em lacunas, espaços que se adaptam ao formato da célula, no interior da matriz, e exibem prolongamentos unindo-se entre si, permitindo a comunicação entre as células vizinhas do tecido ósseo e são evidentes quando a célula é envolvida pela matriz, pois são responsáveis pela formação dos canálculos que se irradiam das lacunas. Há um amplo e característico sistema lacunocanalicular que permite a comunicação e contato desta célula com os outros elementos celulares presentes no tecido ósseo (QING & BONEWALD, 2009). Esses canálculos são estreitos quando comparados com o espaço lacunar que circunda o corpo celular dos osteócitos. A presença de um fluido que circula entre o sistema lacunocanalicular é considerada a principal forma de estimulação mecânica experimentada por estas células (BURRA et al., 2011).

Morfológicamente, caracterizam-se por serem células achatadas, exibindo pouca quantidade de retículo endoplasmático granular, menos basofilia citoplasmática que os osteoblastos, aparelho de Golgi pequeno e núcleo com cromatina condensada. A morte dos osteócitos resulta em absorção da matriz óssea por atividade dos osteoclastos, células móveis, gigantes, extensamente ramificadas e multinucleadas e que não foram observadas nas lâminas analisadas. (GARTNER & HIATT, 2008; ROSS & WOJCIECH, 2008).

Os osteoclastos são as únicas células capazes de promover a reabsorção óssea. São células multinucleadas derivadas de precursores da linhagem mononuclear fagocitária (BOYLE et al., 2003).

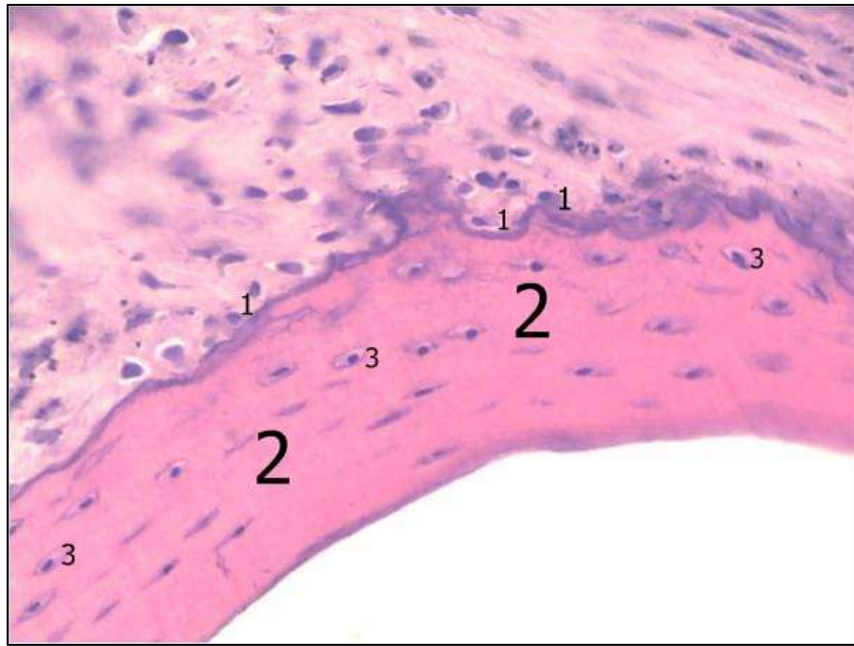


Figura 1. Fotomicrografia do corte transversal do úmero de *Glossophaga soricina*. Osteoblastos ativos, basófilos e poligonais (1) dispostos próximos à matriz calcificada (2), em seguida, diferenciando-se em osteócitos, localizados nas lacunas. (3) Hematoxilina e Eosina. Aumento de 400 x.



Figura 2. Fotomicrografia do corte transversal do úmero de *Glossophaga soricina*. Osteóide (1). Hematoxilina e Eosina. Aumento de 400 x.

A matriz óssea é constituída por 65% de material inorgânico, formado por cálcio e ortofosfato inorgânico na forma de hidroxiapatita, e por 35% de material orgânico (GARTNER & HIATT, 2008). A matriz orgânica é formada de cerca de 90% de colágeno, sendo majoritariamente de colágeno do tipo I, havendo ainda pequenas quantidades de colágeno do tipo III e V. Proteínas diversas como

albumina sérica, glicoproteínas, proteoglicanas e fatores de crescimento perfazem cerca de 10% do total da matriz orgânica (BRODSKY & PERSIKOV, 2005; CLARKE, 2008).

Evidenciaram-se fibras colágenas ricamente distribuídas no osteóide. Na matriz mineralizada, essas fibras mostraram-se dispostas paralelamente entre si nos cortes transversais e longitudinais



(Figuras 3). Esse arranjo organizado das fibras permite um incremento na força de resistência óssea e é característico no tecido ósseo lamelar em mamíferos (GARTNER & HIATT, 2008). Houve

uma maior concentração de fibrilas em torno das lacunas, particularmente naquelas que se situavam muito próximas entre si (Figuras 4).

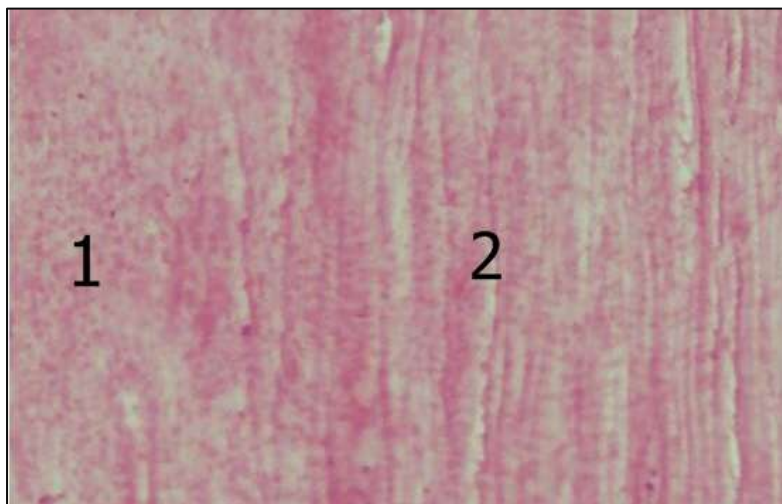


Figura 3. Fotomicrografia do corte transversal do úmero de *Glossophaga soricina*. Distribuição das fibras no sentido transversal (1) e longitudinal (2). Picrosirius Red. Aumento de 1000 x.



Figura 4. Fotomicrografia do corte transversal do úmero de *Glossophaga soricina*. Lacunas elípticas com alta concentração de fibrilas em volta (círculos). Picrosirius Red. Aumento de 1000 x.

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

óssea mineralizada.

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

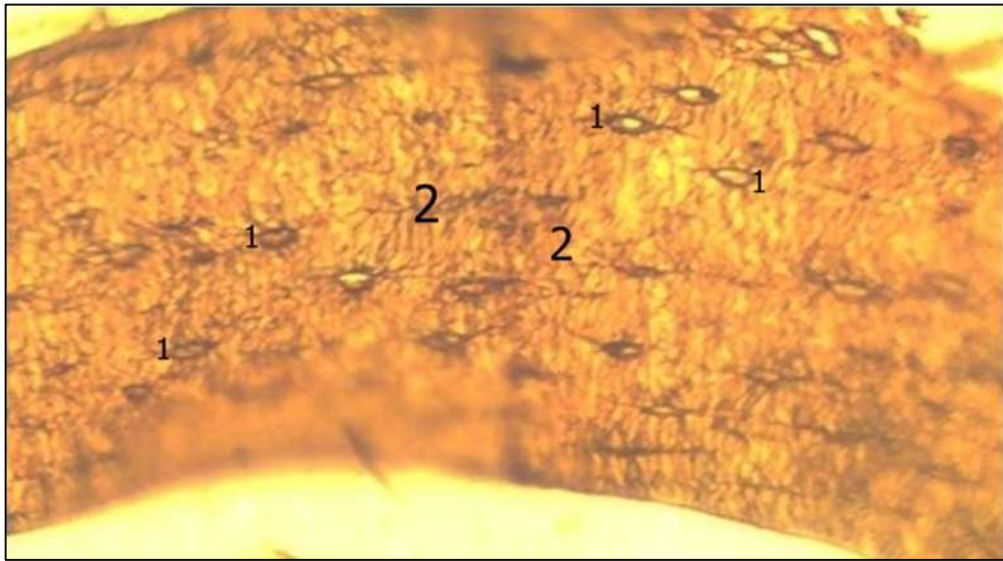


Figura 5. Fotomicrografia do corte transversal do úmero de *Glossophaga soricina*. Lacunas elípticas (1) e canalículos no sentido transversal (2). Nitrato de prata. Aumento de 400 x.

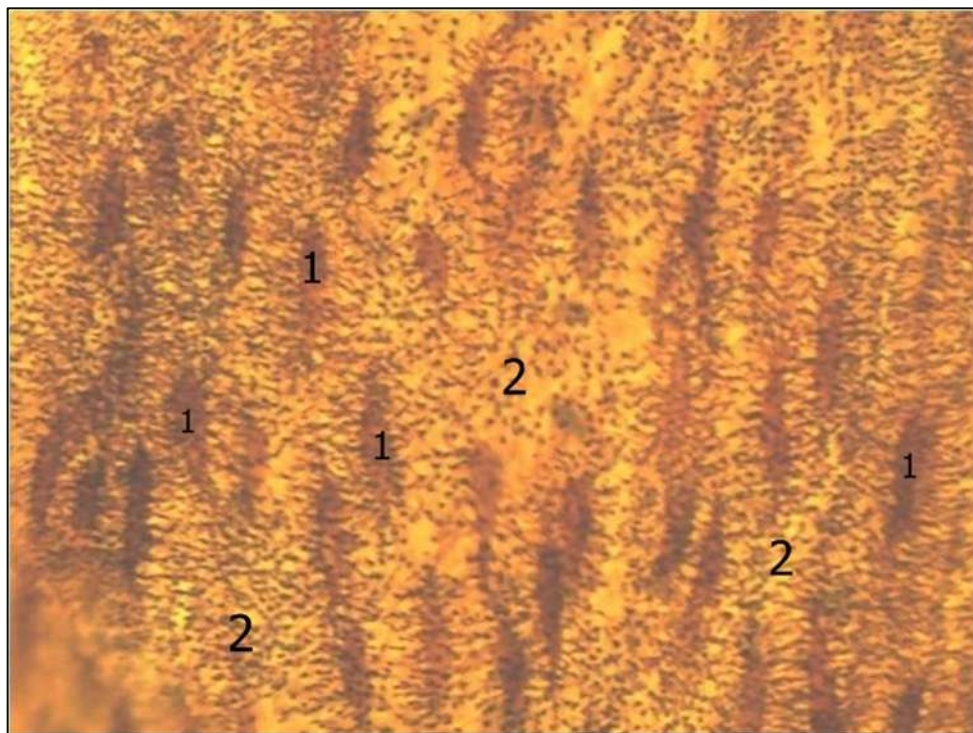


Figura 6. Fotomicrografia do corte transversal do úmero de *Glossophaga soricina*. Lacunas elípticas (1) e canalículos no sentido longitudinal (2). Nitrato de prata. Aumento de 1000 x.

Escassos sistemas e canais de Havers foram visualizados nos tecidos analisados. Isso pode ser justificado pela disposição organizada das fibras

colágenas que confere uma maior resistência óssea. Quando os sistemas e canais de Havers foram identificados, observou-se que as lacunas



organizavam-se concentricamente em torno de um canal central que variava de elíptico a arredondado que, por sua vez, estava organizado entre lamelas irregulares que variavam de espessura, de delgada a espessa (Figuras 7 e 8).

Encontrou-se um padrão característico dessas lamelas dispostas subjacentes ao endósteo e periósteo. O periósteo apresentou-se caracteristicamente composto de duas camadas; camada fibrilar ou externa, composta de tecido conjuntivo denso não modelado, e camada celular ou

interna, formada por células osteoprogenitoras (Figura 9). As tábuas ósseas compactas apresentaram uma diminuta espessura microscópica, embora proporcional ao tamanho do úmero, pois *G. soricina* tem hábito alimentar nectarívoro e estilo de vôo pairado com alto gasto energético, exigindo uma simplificação da musculatura da asa (FINDLEY, 1972). Neste contexto, os ossos desses animais estão expostos a diferentes forças mecânicas e aquisições minerais, constituindo importantes fatores na organização, tamanho, peso e metabolismo ósseo.

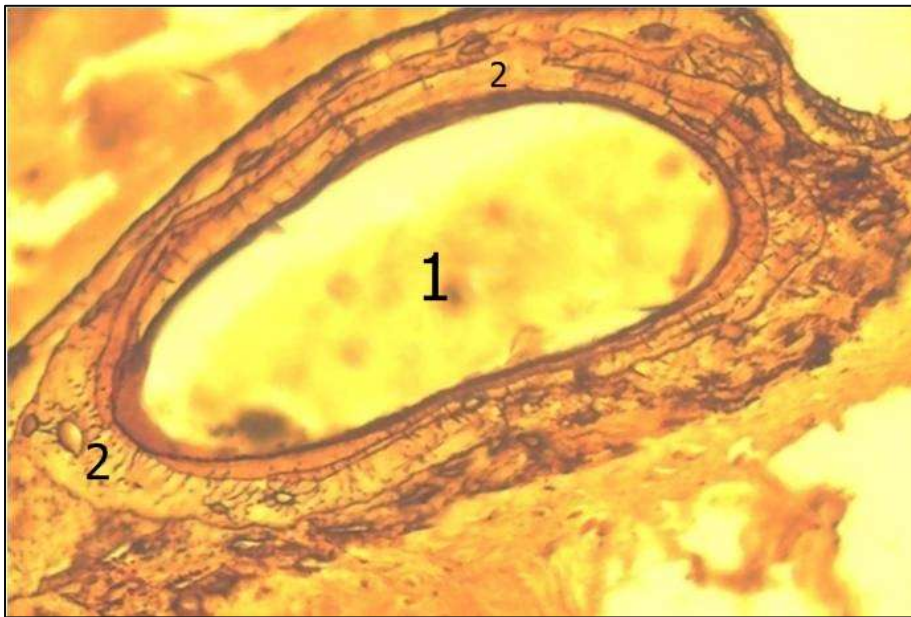


Figura 7. Fotomicrografia do corte longitudinal do úmero de *Glossophaga soricina*. Canal de Haver elíptico (1) entre lamelas de espessura irregular (2). Nitrato de prata. Aumento de 400 x.



Figura 8. Fotomicrografia do corte longitudinal do úmero de *Glossophaga soricina*. Canal de Haver arredondado (1) circundado por lamelas de disposição irregular (2). Nitrato de prata. Aumento de 400 x.

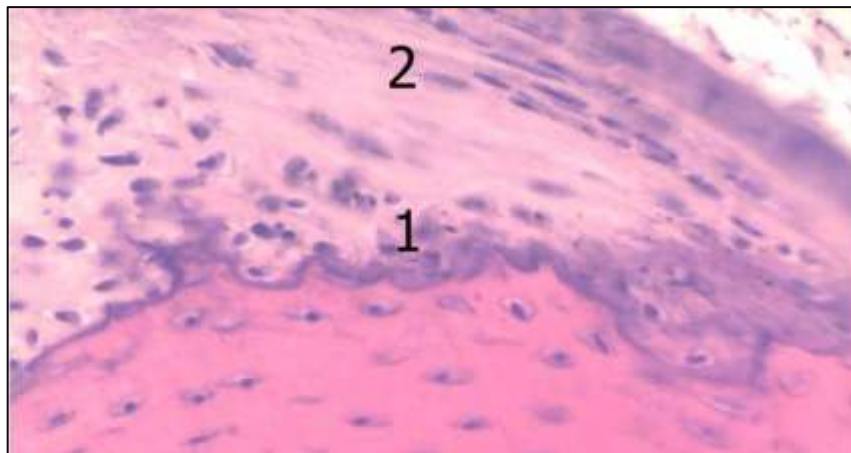


Figura 9. Fotomicrografia do corte transversal do úmero de *Glossophaga soricina*. Visualização do perióstio e suas camadas: interna (1) e externa (2) e. Hematoxilina e Eosina. Aumento de 400 x.

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

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

Tabela 1. Análise histomorfométrica das estruturas microscópicas presentes na matriz óssea do úmero de *Glossophaga soricina* ( $p \leq 0,05$ )

Variáveis	Geral Média (desvio-padrão)	Fêmeas Média (desvio- padrão)	Machos Média (desvio-padrão)	Valor de p*
Lacunas (Área)	35,06 (19,89)	34,4 (20,75)	35,9 (18,6)	0,56
Lacunas (Número)				
Longitudinal	31,1 (11,18)	33,96 (12,4)	27,80 (7,92)	0,02
Transversal	46,2 (23,32)	48,57 (26,57)	41,8 (15,39)	0,22
Canais de Havers	0,52 (0,87)	0,57 (0,88)	0,45 (0,88)	0,66

A densidade lacunar constitui indicador útil do metabolismo ósseo, visto que reflete o índice de proliferação dos osteoblastos, transformação e incorporação destes na matriz como osteócitos durante o crescimento. Desse modo, uma maior densidade lacunar é encontrada em animais com alto metabolismo e que apresentam menor massa corporal (BROMAGE et al., 2009). De forma geral, uma maior densidade lacunar foi observada nos

cortes histológicos dos úmeros de *Glossophaga soricina* fêmeas. Além disso, estas apresentavam, em média, massa corporal superior aos dos machos (Tabela 2). O peso e comprimento corporal, assim como o comprimento do antebraço dos animais avaliados encontraram-se dentro dos parâmetros descritos previamente para esta espécie (NOGUEIRA et al., 2007).

Esse fato pode indicar uma maior atividade



metabólica óssea das fêmeas avaliadas (RALLS, 1976). O maior peso corpóreo pode indicar uma maior carga funcional do tecido, justificando, assim, um maior número de lacunas, pois, em morcegos, as fêmeas costumam carregar os filhotes logo após o

nascimento, em voos de atividade noturna, enquanto os machos usualmente não participam do cuidado parental (ALTRINGHAM, 1998; NEUWEILER, 2000).

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

Variáveis	Geral Média (desvio-padrão)	Fêmeas Média (desvio- padrão)	Machos Média (desvio-padrão)	Valor de p*
Peso Corporal (g)	8,93 (0,81)	9,27 (0,78)	8,46 (0,66)	0,08
Comprimento Total (mm)	54,6 (3,74)	54,5 (3,9)	54,8 (3,49)	0,92
Comprimento do Úmero (mm)	35,1 (1,3)	35,77 (0,72)	34,2 (1,75)	0,04

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

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

### CONCLUSÃO

O tecido ósseo maduro do úmero de *Glossophaga soricina* apresentou poucos sistemas e canais de Havers, característica que o distingue de outras espécies de mamíferos. Diferenças significativas no número de lacunas foram observadas entre os gêneros (machos e fêmeas), mas não nas áreas das lacunas.

### REFERÊNCIAS

- ALTRINGHAM, J. D. **Bats: Biology and Behaviour**. New York: Oxford University Press, p. 262, 1998.
- BAKER, R. J.; NOVACEK, M. J.; SIMMONS, N. B. On the monophyly of bats. **Systematic zoology**, v. 40, n. 2, p. 216-231, 1991.
- BATRA, G. S.; HAINEY, L.; FREEMONT, A. J.; ANDREW, G.; SAUNDERS, P. T.; HOYLAND, J. A.; BRAIDMAN, I. P. Evidence for cellspecific changes with age in expression of oestrogen receptor (ER) alpha and beta in bone fractures from men and women. **The Journal of Pathology**, v. 200, p. 65-73, 2003.
- BOYLE, W. J.; SIMONET, W. S.; LACEY, D.L. Osteoclast differentiation and activation. **Nature**, v. 423, p. 337-342, 2003.
- BRODSKY, B.; PERSIKOV, A.V. Molecular structure of the collagen triple helix. **Advances in protein chemistry**, v. 70, p. 301-339, 2005.
- BROMAGE, T. G.; LACRUZ, R. S.; HOGG, R.; GOLDMAN, H. M.; MCFARLIN, S. C.; WARSHAW, J.; DIRKS, W.; PEREZ-OCCHOA, A.; SMOLYAR, I. ; ENLOW, D. H.; BOYDE, A. Lamellar Bone is an Incremental Tissue Reconciling Enamel Rhythms, Body Size, and Organismal Life History. **Calcified Tissue International**, v. 84, p. 388-404, 2009.
- BURRA, S.; NICOLELLA, D. P.; JIANG, J. X. Dark horse in osteocyte biology: Glycocalyx around the dendrites is critical for osteocyte mechanosensing. **Communicate & Integrative Biology**, v. 4, n. 1, p. 48-50, 2011.
- CLARKE, B. Normal Bone Anatomy and Physiology. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**, v. 3, n. supplement 3. Nov. 2008.
- DIETZ, C.; C. DIETZ, I.; SIEMER, B. M. Growth of

- horseshoe bats (Chiroptera: Rhinolophidae) in temperate continental conditions and the influence of climate. **Mammalian Biology**, v. 72, n. 3, p. 129-144. Jun. 2006.
- FERREREZZI, H.; GIMENEZ, E. A. (1996). Systematic patterns and evolution of feeding habits in Chiroptera (Archonta: Mammalia). **Journal of Comparative Biology**, v. 1, n. 3/4, p. 75-94, 1996.
- FINDLEY, J. S.; STUDIER, E. H.; WILSON, D. E. Morphologic properties of bat wings. **Journal of Mammalogy**, v. 53, n. 3, p. 429-444, 1972.
- GARDNER, A. L. Feeding habits. In: BAKER, R. J.; JONES-JUNIOR, K. J.; CARTER, D. C. (Ed.). **Biology of Bats of the New World Family Phyllostomatidae. Part II**. Texas: Special Publications the Museum Texas Tech University, 1977. p. 293-350.
- GARDNER, A. L. Order Chiroptera. In: GARDNER, A. L. (Ed.). **Mammals of South America**. Volume 1: Marsupials, Xenarthrans, Shrews, and Bats. Chicago and London: The University of Chicago Press, 2008. p. 669.
- GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. **Tratado de histologia**. 3ª. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.
- JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**, 11ª. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.
- LAWLOR, T. E. Aerodynamic characteristics of some neotropical bats. **Journal of Mammalogy**, v. 54, n. 1, p. 71-78, 1973.
- MULLENDER, M. G.; TAN, S. D.; VICO, L.; ALEXANDRE, C.; KLEIN-NULEND, J. Differences in osteocyte density and bone histomorphometry between men and women and between healthy and osteoporotic subjects. **Calcified Tissue International**, v. 77, n. 5, p. 291-296. Nov. 2005.
- NAKASHIMA, T.; TAKAYANAGI, H. Osteoclasts and the immune system. **Journal of Bone and Mineral Metabolism**, v. 27, p. 519-529, 2009.
- NEUWEILER, G. Echolocation. In: **The Biology of Bats**. New York: Oxford University Press, 2000. p. 140-209.
- NOGUEIRA, M. R.; DIAS, D.; PERACCHI, A. L. Subfamília Glossophaginae. In: REIS, N. R (Ed). **Morcegos do Brasil**. Londrina, 2007. p. 45.
- OCARINO, N. M; GOMES, M. G.; MELO, E. G.; SERAKIDES, R. Técnica histoquímica aplicada ao tecido ósseo desmineralizado e parafinado para o estudo do osteócito e suas conexões. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 42, n. 1, p. 37-39, 2006.
- PAZZAGLIA, U. E.; ZARATTINI, G.; GIACOMINI, D.; RODELLA, L.; MENTI, A. M.; FELTRIN, G. Morphometric analysis of the canal system of cortical bone: An experimental study in the rabbit femur carried out with standard histology and micro-CT. **Anatomia, Histologia, Embryologia**, v. 39, n. 1, p. 17-26, 2010.
- QING, H.; BONEWALD, L. F. Osteocyte remodeling of the perilacunar and pericanalicular matrix. **International Journal of Oral Science**, v. 1, n. 2, p. 59-65, 2009.
- QIU, S.; RAO, D. S.; FYHRIE, D. P.; PALNITKAR, S.; PARFITT, A. M. The morphological association between microcracks and osteocyte lacunae in human cortical bone. **Metabolic Bone Disease & Related Research**, v. 37, p. 10-15, 2005.
- RALLS, K. Mammals in which females are larger than males. **Quarterly Review of Biology**, v. 51, p. 245-276. Jun. 1976.
- RAMALHO, S.A.; DARUGE, E. **Importância Pericial do estudo comparativo histomorfológico do osso humano e de outros gêneros**. 2000. Tese (Doutorado em Odontologia Legal e Deontologia) – Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba, 2000. Disponível em <http://www.bibliotecadigital.unicamp.br/document/?down=vtls000197467>, acesso em 20 outubro de 2012.
- ROSS, M. H.; WOJCIECH, P. **Histologia: Texto e atlas**. Em correlação com a biologia celular e molecular. 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.
- SIMMONS, N. B. Order Chiroptera. In: WILSON, D. E.; REEDER, D. M. (Eds.). **Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference**. 3ª. ed. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 2005. v. 1, p. 312-529.
- STEVENS, A.; LOWE, J. **Histologia Humana**. 2ª. ed. São Paulo: Manole, 2002.
- SWARTZ, S. M.; NORBERG, U. M. Part Two: Functional morphology. In: KUNZ, T. H.; RACEY, P. A. **Bat biology and conservation**. Washington and London: Smithsonian Institution Press, 1998. v. 1, p. 91-92.
- TONAR, Z.; KHADANG, I.; FIALA, P.; NEDOROST, L.; KOCHOVÁ, P. Quantification of compact bone microporosities in the basal and alveolar portions of the human mandible using osteocyte lacunar density and area fraction of vascular canals. **Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger**, v. 193, n. 3, p. 211-219, 2011.
- VASHISHTH, D.; GIBSON, G. J.; FYHRIE, D. P. Sexual dimorphism and age dependence of osteocyte lacunar density for human vertebral cancellous bone. **The anatomical record. Part A, Discoveries in molecular, cellular, and evolutionary biology**, v. 282, n. 2, p. 157-62. Feb. 2005.
- VAUGHAN, T. A. The skeletal system. In: WINSATT, W. A. **Biology of bats**. New York: Academic Press, 1970. v. 1, p.105-138.

Protocolado em: 14 mar. 2012. Aceito em 22 out. 2012.