

**DIHEGO DE OLIVEIRA AZEVEDO**

**ULTRA-ESTRUTURA DO INTESTINO MÉDIO DE *Cimex hemipterus* Fabricius  
(HEMIPTERA: CIMICIDAE)**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa,  
como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em  
Biologia Celular e Estrutural, para  
obtenção do título de *Magister  
Scientiae*.

**VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2007**

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

A994u  
2007

Azevedo, Dihego de Oliveira, 1982-  
Ultra-estrutura do intestino médio de *Cimex hemipterus*  
Fabricus (Hemiptera : Cimicidae) / Dihego de Oliveira  
Azevedo. – Viçosa, MG, 2007.  
ix, 54f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Orientador: José Eduardo Serrão.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de  
Viçosa.  
Referências bibliográficas: f. 41-54.

1. *Cimex hemipterus*. 2. Intestinos - Morfologia.  
3. Ultra-estrutura (Biologia). 4. Digestão.  
I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 595.754

**DIHEGO DE OLIVEIRA AZEVEDO**

ULTRA-ESTRUTURA DO INTESTINO MÉDIO DE *Cimex hemipterus* Fabricius  
(HEMIPTERA: CIMICIDAE)

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa  
como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em  
Biologia Celular e Estrutural para  
obtenção do título de *Magister  
Scientiae*.

APROVADA: 31 de Julho de 2007.

---

Prof. Clóvis Andrade Neves  
(Co-orientador)

---

Prof<sup>ª</sup>. Conceição A. dos Santos

---

Prof. José Lino Neto

---

Prof<sup>ª</sup>. Luciane Cristina de O. Lisboa

---

Prof. José Eduardo Serrão  
(Orientador)

*Torce, retorce, procuro mas não vejo,  
não sei se era a pulga ou se era o percevejo...*

Dedico este trabalho a minha família, em especial  
à minha esposa Marina, meus pais Maurício e Rosane, e meu irmão Henrique.

## AGRADECIMENTOS

Ao Departamento de Biologia Geral e à Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realização deste trabalho.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Ao professor e orientador José Eduardo Serrão, pelos ensinamentos, orientação, confiança e amizade.

Ao professor e co-orientador Clóvis Andrade Neves, pela atenção e ensinamentos.

As co-orientadoras Jacenir dos Reis Santos-Mallet e Teresa C. M. Gonçalves, pela atenção e boa vontade, e pelo fornecimento dos insetos utilizados neste trabalho.

Ao Núcleo de Microscopia e Microanálise, e à Dra. Cláudia Vanetti, pelo apoio técnico, disponibilidade e boa vontade.

As secretárias do DBG, Beth, Diana, Rose e Salvadora, pela boa vontade e disponibilidade em ajudar, e ao Monteiro, pelo apoio técnico e amizade.

A meus pais Maurício e Rosane e meu irmão Henrique, pela presença, amor e apoio em todos os momentos.

A Marina, companheira incondicional em todos os momentos.

Aos meus familiares, em especial aos tios Edimilson, Fernanda, Márcia, Marcos, Márcio, João Antônio e Sônia, e meus avós, Heda, José, Mário e Odete, e primos, sempre torcendo por mim e dispostos a ajudar.

Aos amigos do laboratório: Amanda, Ana Lúcia, Carolina, Cirlei, Conceição, Edmilson, Lamara, Madu, Maria Ignês, Milton, Paula, Riviane, Simone, Solange e Wagner, pela amizade, apoio, conversas, gargalhadas, ensinamentos. Tudo é mais fácil

quando vocês estão por perto. Faço um agradecimento especial à Cirlei, Riviane e Diana, pela ajuda na inscrição do Doutorado.

Aos amigos de “casa” Bruno e Gustavo, que mais que amigos, foram professores.

Aos professores e amigos da Biologia Celular e do laboratório de Histologia, pelos momentos de aprendizado dentro e fora das salas de aula e pela amizade. Aprendi muito com vocês, que serão sempre lembrados com muito carinho.

Aos amigos Bricela e Everton, pelo apoio e amizade sempre presentes.

A Lourdes Helena e Luiz, pela acolhida carinhosa e ajuda.

Aos amigos da graduação, Cíntia, Dilermando, Letícia, Lílian, Lívia, Marco Antônio, Pedro, e aqueles cujo nomes não lembrei agora, pela força e amizade mesmo após o término do curso.

Aos amigos de Manhumirim, Cláudio, Ernandes, Letícia, Maurílio, Orlando, Paulinho, Serginho e Vinícius, que mesmo de longe estiveram presentes, contribuindo de alguma forma para minha formação e caminhada em Viçosa.

E a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização desse trabalho.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	vi
ABSTRACT.....	viii
INTRODUÇÃO.....	1
MATERIAL E MÉTODOS.....	15
RESULTADOS.....	16
FIGURAS.....	21
DISCUSSÃO.....	30
CONCLUSÃO.....	40
REFERÊNCIAS.....	41

## RESUMO

AZEVEDO, Dihego de Oliveira. M. Sc. Universidade Federal de Viçosa, julho de 2007.  
**Ultra-estrutura do intestino médio de *Cimex hemipterus* Fabricius (Hemiptera: Cimicidae).** Orientador: José Eduardo Serrão. Co-orientadores: Clóvis Andrade Neves, Jacenir Reis dos Santos Mallet e Teresa Cristina Monte Gonçalves.

Este trabalho avaliou a ultra-estrutura das células do intestino médio de *Cimex hemipterus* Fabricius (Hemiptera: Cimicidae) em diferentes períodos após a alimentação. Insetos adultos foram alimentados com sangue de codorna (*Coturnix coturnix*) e mantidos em privação alimentar por um, três, cinco, sete, dez e 15 dias, períodos os quais tiveram o intestino médio dissecado e separado em porções anterior (IMA), média (IMM) e posterior (IMP). O material obtido foi processado para análises em microscópio eletrônico de transmissão. O intestino médio de *C. hemipterus* é formado por um epitélio simples de células cúbicas a colunares e células regenerativas, apoiadas sobre uma lâmina basal circundada por fibras musculares. Em geral, as células principais das três regiões apresentaram ápice com microvilosidades e membranas perimicrovilares. O citoplasma apical concentra mitocôndrias, enquanto a porção mediana apresentou núcleo esférico com cromatina descondensada e nucléolo desenvolvido. A porção basal apresentou labirinto desenvolvido, associado a mitocôndrias. As células estão apoiadas numa membrana basal contínua, circundada por células musculares longitudinais e transversais. As células regenerativas apresentaram citoplasma elétron-denso, com mitocôndrias, retículo endoplasmático rugoso e núcleo esférico. No IMA, as células apresentaram muitos esferocristais, inclusões lipídicas, depósitos glicogênio e vacúolos eletron-lucentes, sugerindo que esta região é responsável pela absorção de água, regulação iônica, digestão e armazenamento de



lipídios e carboidratos. As células principais do IMM apresentaram grânulos de secreção na porção apical, lisossomos e grande quantidade de retículo endoplasmático rugoso, sugerindo que esta região está envolvida na secreção de enzimas digestivas e digestão intracelular de proteínas do sangue. As células do IMP também apresentaram grânulos de secreção, lisossomos e muito retículo endoplasmático rugoso, além de esferocristais, indicando atividades de digestão de proteínas do sangue e absorção de íons e água. Células endócrinas foram encontradas no IMP. Grânulos elétron-densos, provavelmente envolvidos na desintoxicação de heme e ferro, foram observados no citoplasma das células principais nas três regiões do intestino médio. A similaridade estrutural do intestino médio de *C. hemipterus* com a de outros hemípteros hematófagos sugere que o seu hábito alimentar tem origem ancestral comum.

## ABSTRACT

AZEVEDO, Dihego de Oliveira. M. Sc. Universidade Federal de Viçosa, July, 2007.  
**Midgut ultrastructure of the tropical bed-bug *Cimex hemipterus* Fabricius (Hemiptera: Cimicidae).** Adviser: José Eduardo Serrão. Co-advisers: Clóvis Andrade Neves, Jacenir Reis dos Santos Mallet and Teresa Cristina Monte Gonçalves.

This work investigated the ultrastructure of the midgut cells of *Cimex hemipterus* (Hemiptera: Cimicidae) at different times after blood meal. Adults of *C. hemipterus* were feed on quail's blood (*Coturnix coturnix*) and starved for one, three, five, seven, ten and fifteen days, when the insects had their midgut dissected and divided in anterior portion (AMG), median portion (MMG) and posterior portion (PMG). The obtained material was processed for analyses under transmission electron microscopy. The midgut of *C. hemipterus* has a single layer of columnar or cubic digestive cells and regenerative cells onto a basal lamina surrounded by muscle cells. The midgut digestive cells have microvilli and perimicrovillar membranes at the apical portion. The apical cytoplasm has mitochondria, while the median portion showed rounded nucleus with descondensed chromatin and a well developed nucleolus. The basal region of the cells has a developed basal labyrinth associated with mitochondria. The regenerative cells have electron-dense cytoplasm with mitochondria, rough endoplasmatic reticulum and a rounded nucleus. In the AMG the digestive cells have many spherocrystals, lipid inclusions, glycogen deposits and electron-lucent vacuoli, suggesting that this midgut region play a role in water absorption, ion regulation, digestion and storage of lipids and sugars. The MMG cells have secretory granules in the apical cytoplasm, lysosomes and large amounts of rough endoplasmatic reticulum, suggesting that this midgut region was active in the blood digestion. The PMG cells also

presented secretory granules, lysosomes, rough endoplasmatic reticulum and spherocrystals, indicating blood digestion and ion and water absorption activities. Endocrine cells were found in the PMG. Electron-dense granules, probably involved in heme and iron detoxification were observed in the three midgut regions. The structural similarity of the *C. hemipterus* midgut with that organ of other blood-feeding Hemiptera suggests that their alimentary habit had a common ancestral origin.

## INTRODUÇÃO

A família Cimicidae (Insecta: Hemiptera) constitui-se de insetos pequenos, com cerca de 10 mm de comprimento, hematófagos obrigatórios com corpo de contorno oval, achatado dorsoventralmente e de asas mesotorácicas escamiformes e rudimentares (USINGER, 1966; FORATTINI, 1990; REINHARDT & SIVA-JOTHY, 2007). Estes insetos associam-se a vertebrados representados principalmente por aves, quirópteros e homem. Ectoparasitas temporários, não se instalam no corpo de seus hospedeiros, procurando-os apenas para o repasto sanguíneo (FORATTINI, 1990).

Os cimicídeos são divididos em seis subfamílias, 23 gêneros e 91 espécies (RYCKMAN *et al.*, 1981; FORATTINI, 1990). Dessas 91 espécies, apenas três podem ser consideradas ectoparasitas verdadeiros do homem, sendo vulgarmente conhecidas como percevejos-de-cama: *Cimex lectularius*, *Cimex hemipterus* e *Leptocimex boueti* (USINGER, 1966; RYCKMAN *et al.*, 1981; FORATTINI, 1990). Na falta de sangue humano, porém, podem vir a parasitar roedores e outros animais domésticos (JONES, 2004; THOMAS *et al.*, 2004). Algumas espécies ectoparasitas de morcegos e aves eventualmente podem sugar o sangue humano sem fazer dele seu hospedeiro natural (EADS *et al.*, 1980; RYCKMAN *et al.*, 1981; FORATTINI, 1990).

Os ectoparasitas de humanos *Cimex lectularius* e *Cimex hemipterus* são espécies cosmopolitas. Mais resistente a baixas temperaturas, *C. lectularius* pode ser encontrado em todos os continentes do globo, com exceção do Antártico, mas distribui-se principalmente nas regiões temperadas. *C. hemipterus*, por sua vez, distribui-se principalmente nas regiões tropicais. *Leptocimex boueti* é mais comum no oeste da África (USINGER, 1966; NAGEM, 1985; FORATTINI, 1990; MASETTI & BRUSCHI, 2007). A provável origem da relação dos percevejos-de-cama com o homem

remonta ao tempo em que este coabitava cavernas com andorinhas e morcegos. O ectoparasita adaptou-se ao homem como novo hospedeiro, sendo posteriormente domesticado e difundido pelo mundo com as migrações humanas (USINGER, 1966).

Os percevejos-de-cama são insetos domésticos que durante o dia vivem escondidos em fendas e orifícios em paredes, móveis, quadros, camas, sofás e colchões. No ambiente peridomiciliar, podem ser encontrados em abrigos de outros animais domésticos tal como galinheiros. Em geral, ficam concentrados em abrigos próximos aos hospedeiros, formando aglomerados de indivíduos no qual se encontram representantes de todas as fases, desde ovos a adultos. As infestações podem ser reconhecidas pelo cheiro característico que exalam e pelas manchas marrons avermelhadas de sangue e fezes nas mobílias e paredes. Como não reagem bem à luminosidade, mantêm seus ninhos em locais escuros. Possuem picos de atividade durante a noite e nas horas próximas ao amanhecer, quando saem em busca dos hospedeiros para fazer o repasto sanguíneo. Todavia, em condições favoráveis podem sair para se alimentar durante o dia (USINGER, 1966; FORATTINI, 1990; JONES, 2004; THOMAS *et al.*, 2004).

A temperatura é o principal fator que influencia o comportamento e o desenvolvimento dos percevejos-de-cama, afetando inclusive sua distribuição geográfica (USINGER, 1966; FORATTINI, 1990), conforme mencionado anteriormente. Observações feitas com *C. lectularius* indicam que uma variação de temperatura na faixa de 19 a 33 °C não interfere na execução de suas atividades, mas em temperaturas superiores eles tendem a evitar o ambiente (FORATTINI, 1990). Em condições experimentais, adultos de *C. hemipterus* alimentados apenas uma vez podem sobreviver por cerca de 37 dias a 27 °C ou até 180 dias a 10 °C, enquanto *C. lectularius*

sobrevive em média 43 dias a 27 °C, podendo chegar a 400 dias a 10 °C (USINGER, 1966). Em temperaturas variando de 24 a 29 °C, fêmeas de *C. hemipterus* que copulam frequentemente vivem em média 41 dias e põem em média 103 ovos, enquanto machos vivem em média 119 dias. Fêmeas não fertilizadas vivem em média 197 dias, podendo chegar a 215 dias (WATTAL & KALRA, 1961). Processos como eclosão da larva, desenvolvimento ninfal e atividade adulta não se desenvolvem completamente em temperaturas inferiores a 13 °C, assim como perecem em grande número em temperaturas superiores a 40 °C (USINGER, 1966; FORATTINI, 1990).

Os percevejos-de-cama podem atacar todo o corpo do hospedeiro, mas principalmente áreas expostas da pele no rosto, pescoço, mãos e braços. A picada é indolor, porém, causa irritações e pequenas hemorragias locais. Indivíduos atacados, ao se coçar, podem produzir escoriações passíveis de infecções secundárias (THOMAS *et al.*, 2004; TER POORTEN & PROSE, 2005). Durante a picada, o inseto insere os estiletes na pele e os movimenta até encontrar um vaso sanguíneo de calibre favorável à obtenção do sangue (USINGER, 1966). Possui saliva com ação anticoagulante, a qual permite alimentação por longos períodos (VALENZUELA *et al.*, 1996). Segundo WATTAL & KALRA (1961), em condições de laboratório, ninfas jovens de *C. hemipterus* levam de três a cinco minutos para se alimentarem, enquanto ninfas de quarto e quinto ínstaes o fazem em cerca de nove minutos. Fêmeas adultas levam cerca de cinco minutos e os machos três minutos.

Ectoparasitas temporários, os percevejos-de-cama retornam para os abrigos após o repasto e lá permanecem por tempo variável até nova alimentação. A frequência dos repastos sanguíneos está relacionada com a das oviposições, mudas e fatores ambientais (USINGER, 1966; FORATTINI, 1990). Em locais com temperaturas por volta de 20 °C,

adultos jovens de *C. lectularius* podem retomar a procura pelo hospedeiro em intervalos semanais, enquanto em ambientes mais quentes (27 °C) o tempo é reduzido para até três dias (USINGER, 1966). Para *C. hemipterus*, com temperatura variando entre 24 e 29 °C, fêmeas adultas iniciam a oviposição cerca de três dias após a alimentação (WATTAL e KALRA, 1961). Ninfas podem se alimentar cerca de 24 horas após a muda, apresentando intervalos de alimentação menores que os adultos (USINGER, 1966; FORATTINI, 1990). Segundo WATTAL e KALRA (1961), apenas um único repasto sanguíneo completo é suficiente para que ocorra a muda de um estágio ninfal para outro em *C. hemipterus*, com as fêmeas ingerindo maiores quantidades de sangue que os machos. O calor do corpo parece ser o principal estímulo que direciona o percevejo-de-cama ao hospedeiro, o qual consegue reconhecer, a pequenas distâncias, diferenças de temperatura de cerca de 1 a 2 °C (USINGER, 1966; FORATTINI, 1990).

A dispersão dos percevejos-de-cama acontece principalmente de forma passiva, ao serem carregados para diferentes locais escondidos em roupas, móveis, malas, poltronas de veículos de transporte, etc. A busca ativa por comida é também uma forma de dispersão que deve ser considerada, principalmente em hotéis e hospedarias (USINGER, 1966; FORATTINI, 1990). As infestações crônicas em residências podem causar nos moradores, além dos problemas cutâneos, distúrbios nervosos decorrentes de noites mal dormidas, letargia, diarreias e anemia em crianças (USINGER, 1966; FORATTINI, 1990). Em geral, as infestações domiciliares estão associadas a populações com baixo nível sócio-econômico, apesar de nem sempre serem reflexo de habitações de baixo padrão de higiene e conservação (NAGEM, 1985; NEGROMONTE *et al.* 1991; JONES 2004). Todavia, boas condições de higiene e habitação ainda são os

melhores meios de prevenir a instalação desse inseto (FORATTINI, 1990; JONES, 2004).

O controle do percevejo-de-cama vem sendo realizado com uso de inseticidas organoclorados e organofosforados de poder residual tal como DDT, aplicado nos locais onde o inseto se abriga e/ou trafega (FLETCHER & AXTELL, 1993; JONES, 2004). Todavia, alguns trabalhos vêm mostrando ocorrência de resistência destes insetos aos diversos inseticidas atualmente utilizados para seu controle (WATTAL & KALRA, 1961; TONN *et al.* 1982; MYAMBA *et al.* 2002; HWANG *et al.* 2005).

Devido a hematofagia e íntima associação com o homem, os percevejos-de-cama têm sido suspeitos de atuarem como vetores de microorganismos patogênicos, transmitindo doenças entre humanos. Como grande parte dos relatos refere-se a infecções observadas em laboratório, conclusões definitivas sobre a capacidade destes insetos como vetores em condições naturais ainda não foram obtidas (BURTON, 1963; USINGER, 1966; FORATTINI, 1990).

BURTON (1963), em revisão sobre a possibilidade dos percevejos-de-cama serem transmissores de doenças para humanos, relata que estes insetos já foram encontrados na natureza infectados com agentes etiológicos de doenças como filariose (*Wuchereria bancrofti* e *Brugia malayi*), doença de Chagas (*Trypanosoma cruzi*), tifo (*Rickettsiae*), brucelose (*Brucella melitensis*), e febre Q (*Coxiela burnetti*). Em condições experimentais, *C. lectularius* foi capaz de hospedar por tempos variados os agentes etiológicos de enfermidades tais como filariose, mansonelose, pneumonia, peste bubônica, hanseníase, tularemia, febre tifóide, tifo, febre Q, febre recorrente, leptospirose, leishmanioses tegumentar e visceral, poliomielite, varíola e febre amarela. Já em *C. hemipterus* observou-se a infecção e permanência dos agentes da filariose,



leishmanioses tegumentar e visceral, febre recorrente e febre amarela. Todavia, a transmissão desses agentes para humanos não foi cientificamente comprovada.

No que diz respeito às filarioses, GUNAWARDENA (1972) revelou incapacidade de *Wuchereria bancrofti* evoluir para as formas infectantes no organismo de *C. hemipterus*, apesar da contaminação dos insetos. No caso das filárias *Brugia malayi* e *Mansonella ozzardi*, não há conclusões a respeito da possibilidade de *C. hemipterus* e *C. lectularius* atuarem como vetores (BURTON, 1963; RICKMAN *et al.*, 1981). Quanto às leishmanioses, GHORBANI *et al.* (1972) sugerem que *C. lectularius* foi o responsável pela transmissão mecânica de *Leishmania tropica* entre animais de um biotério onde haviam animais infectados, por meio das peças bucais infectadas. Além disso, há relatos de que diferentes espécies de *Leishmania* podem se desenvolver e permanecer por longo tempo no intestino de *C. hemipterus* e *C. lectularius* (BURTON, 1963; FORATTINI, 1990).

No caso da doença de Chagas, formas infectantes do protozoário causador da doença em mamíferos (tripomastigotas metacíclicas) já foram encontradas nas fezes e intestino de *C. hemipterus* e *C. lectularius* (BURTON, 1963). LENT (1939) listou ambas espécies como hospedeiros naturais e experimentais de *T. cruzi*. FREITAS *et al.* (1946 apud in FORATTINI, 1990) relata a existência de *C. lectularius* naturalmente infectados supostamente por *T. cruzi* em meio domiciliar onde existia um doente e grande número de cimicídeos e triatomíneos. PIPKIN (1969) relata a fácil infecção experimental de *C. lectularius* e *C. hemipterus* por *T. cruzi* e seu rápido desenvolvimento no tudo digestivo deste inseto. Além disso, relata a infecção de animais sadios por meio da inoculação das fezes de percevejos contaminados por *T. cruzi*. Entretanto, a transmissão de protozoários por meio da picada de insetos

infectados em animais sadios se mostrou muito difícil, apesar da observação de que os percevejos defecam constantemente no hospedeiro.

JORG & NGUMO NATULA (1982) relataram a contaminação de *C. lectularius* por *T. cruzi* após repasto em roedores natural e experimentalmente infectados, assim como a parasitose persistiu em todos os insetos até o fim das observações, num período de aproximadamente 320 dias. Reportam também a transmissão de tripanossomos para roedores sadios por meio da picada dos percevejos, sugerindo que em condições naturais de elevada densidade destes insetos, estes poderiam atuar como vetores da tripanossomíase americana. JORG (1992) e STORINO & JORG (1994) relatam ter observado formas amastigotas e tripomastigostas metacíclicos de *T. cruzi* no tubo digestivo de *C. lectularius*.

De acordo com CARRERA (1991), os triatomíneos (Hemiptera: Reduviidae) apresentam condições ideais para serem vetores da doença de Chagas: adaptação ao domicílio humano, hematofagia obrigatória, antropofilia e curto espaço de tempo entre ingestão de sangue e defecação, que acontece próximo ao local da picada. Ao defecar, eliminam as formas infectantes do *T. cruzi* que penetram no corpo por meio de mucosas ou através das escoriações na pele causadas pelo hábito de coçar o local da picada. De forma semelhante, os percevejos de cama possuem hábitos que as capacitam como transmissoras efetivas do *T. cruzi*, tais como domicilidade, hematofagia obrigatória e preferência por sangue humano, defecação durante a alimentação, picada que provoca coceiras em função das reações cutâneas, além da facilidade com que se infectam por *T. cruzi*, a prolongada persistência dos parasitos vivos e móveis no tubo digestivo e a significativa resistência ao jejum (USINGER, 1966; JORG & NGUMO NATULA, 1982; CARRERA, 1991; JORG, 1992; THOMAS *et al.*, 2004; TER POORTEN &

PROSE, 2005). Apesar do consenso que cimicídeos não têm um papel epidemiológico significativo, sua capacidade de transmissão não pode ser descartada (JORG & NGUMO NATULA, 1982; FORATTINI, 1990; AMATO NETO *et al.*, 2000; THOMAS *et al.*, 2004; TER POORTEN & PROSE, 2005).

Estudos baseados em testes com antígeno de superfície para hepatite B em *C. hemipterus* e *C. lectularius* mostraram infectabilidade e presença do vírus nestes insetos por cerca de seis e sete semanas e meia, respectivamente, após alimentação com sangue contaminado (OGSTON *et al.*, 1979; JUPP & McELLIGOTT, 1979; JUUP *et al.*, 1983). JUPP & McELLIGOTT (1979) e JUPP *et al.* (1983) afirmaram não ocorrer multiplicação biológica dos vírus da hepatite B em *C. lectularius*, mas relatam a possibilidade da transmissão mecânica do vírus para humanos, principalmente por três diferentes maneiras: ao esmagar o inseto infectado; por meio do contato das fezes contaminadas com o local da picada; por meio da picada, devido à contaminação das peças bucais em função de regurgitamento ou sucção interrompida. A transmissão oral ou biológica, na qual é necessária a replicação viral nos tecidos do artrópode, especialmente nas glândulas salivares, do vírus da hepatite B por *C. hemipterus* e *C. lectularius* não foi confirmada (JUPP & McELLIGOTT, 1979; JUPP *et al.* 1983; VALL MAYANS *et al.*, 1994). Apesar da sugestão de que os cimicídeos pudessem transmitir o vírus da AIDS pelas rotas descritas acima (COOK, 1985), a transmissão mecânica do vírus HIV pelos percevejos não foi obtida em laboratório, sugerindo que estes insetos não podem atuar como vetores da doença em condições naturais (JUPP & LYONS, 1986; WEBB *et al.*, 1989).

A possibilidade dos percevejos-de-cama atuarem como reservatórios e/ou vetores de microorganismos causadores de doenças em humanos, associado aos danos

que podem causar em função de sua infestação em domicílios e hematofagia, torna-os importantes modelos para estudos de morfologia, fisiologia e comportamento, a fim de entender a dinâmica dos patógenos no seu organismo e a possibilidade de serem ou não vetores destes.

O intestino médio dos insetos é responsável pela produção e secreção de enzimas digestivas e absorção de água e nutrientes (CHAPMAN, 1998). De origem endodérmica, consiste de um tubo de diâmetro variável formado por um epitélio simples apoiado sobre uma membrana basal, em torno da qual se dispõem duas camadas de músculos, sendo a mais interna circular e a mais externa longitudinal (BILLINGSLEY & LEHANE, 1996; CHAPMAN, 1998). A organização das camadas musculares varia consideravelmente de acordo com a dieta de cada espécie: insetos que se alimentam de fluidos geralmente apresentam músculos menos desenvolvidos que insetos com dietas de materiais sólidos (BILLINGSLEY & LEHANE, 1996).

O intestino médio dos insetos apresenta basicamente dois tipos de células: as células principais e as células regenerativas (CAVALCANTE & CRUZ-LANDIM, 1999). As células principais, também chamadas de células colunares, digestivas ou enterócitos, constituem o epitélio que reveste esta região do tubo digestivo. Estão envolvidas nos processos de secreção de enzimas digestivas e absorção de água e nutrientes, apresentando morfologia que varia de acordo com a espécie, fase do ciclo alimentar e função em diferentes regiões do intestino médio (BILLINGSLEY & LEHANE, 1996; CAVALCANTE e CRUZ-LANDIM, 1999). As células regenerativas são relativamente indiferenciadas e responsáveis pela renovação do epitélio do intestino médio, substituindo as células principais que se desgastam e se perdem durante os processos de digestão. Caracterizam-se por membrana plasmática sem especializações e

um citoplasma denso com poucas organelas e núcleo esférico, dispendo-se na base do epitélio do intestino médio isoladamente ou em grupos, também conhecidos como ninhos (BILLINGSLEY & LEHANE, 1996; CAVALCANTE & CRUZ-LANDIM, 1999; MARTINS *et al.*, 2006). Um outro tipo celular muito comum no intestino médio de insetos são as células endócrinas, responsáveis pela secreção de hormônios, provavelmente com ação no próprio intestino e em outros tecidos como corpo gorduroso e sistema nervoso central. São células que se dispõem na base do epitélio, com formato variando entre piramidal a oval. Apresentam grande quantidade de grânulos elétron-densos, em geral concentrados na porção basal da célula, junto à membrana basolateral, além de complexos de Golgi e retículo endoplasmático rugoso muito desenvolvidos (BILLINGSLEY & LEHANE, 1996; SERRÃO & CRUZ-LANDIM, 1996; CAVALCANTE & CRUZ-LANDIM, 1999; NEVES *et al.*, 2002, 2003). A membrana plasmática basolateral apresenta pouca ou nenhuma invaginação, mantendo contato íntimo com a membrana basal (BILLINGSLEY & LEHANE, 1996). As células endócrinas são denominadas do tipo “aberto” quando estão em contato direto com o lúmen do intestino médio, e do tipo “fechado” quando não atingem o lúmen (BILLINGSLEY & LEHANE, 1996; CAVALCANTE & CRUZ-LANDIM, 1999).

A membrana plasmática das células principais do intestino médio é dividida pelas junções celulares em domínios apical e basolateral (TERRA *et al.*, 2006). O domínio apical das células epiteliais em geral apresenta microvilosidades, que são projeções tubulares da membrana plasmática sustentadas por um esqueleto de filamentos de actina, o qual está ancorado no citoesqueleto que forma a trama terminal, responsáveis pelo aumento da superfície de absorção da célula. Além disso, apresentam uma camada de glicoproteínas na face luminal, o glicocálice (BILLINGSLEY &

LEHANE, 1996; CRUZ-LANDIM *et al.*, 1997; TERRA *et al.*, 2006). O domínio basolateral possui invaginações que variam de tamanho de acordo com a função desempenhada pela célula e sua localização no intestino médio (BILLINGSLEY & LEHANE, 1996; TERRA *et al.*, 2006). Essas dobras da membrana formam um labirinto de canais que pode chegar ao ápice celular, denominado labirinto basal, o qual é responsável por aumentar a superfície de contato entre a membrana basolateral da célula e a hemolinfa (BILLINGSLEY & DOWNE, 1989; CAVALCANTE & CRUZ-LANDIM, 1999; TERRA *et al.*, 2006).

Como as células do intestino médio dos insetos não produzem muco, o alimento é separado do epitélio por um envelope permeável a enzimas e produtos da digestão, denominado membrana peritrófica. A membrana peritrófica é formada por uma malha de microfibrilas de quitina embebidas numa matriz de proteínas e glicoproteínas, produzida pelas células epiteliais ao longo do intestino ou por células especializadas próximas ao proventrículo. Várias funções são atribuídas à membrana peritrófica, tais como proteção do epitélio contra danos mecânicos e químicos provocados pelo alimento, barreira física contra microorganismos e compartimentalização da digestão. Além disso, apresenta algumas enzimas tais como aminopeptidases (TERRA, 1988; BILLINGSLEY & LEHANE, 1996; CHAPMAN, 1998; CAVALCANTE & CRUZ-LANDIM, 1999).

Os hemípteros, particularmente, não possuem membrana peritrófica. Ao invés, apresentam um sistema de membranas lipoprotéicas que envolvem as microvilosidades e estendem-se para o lúmen do intestino médio, denominadas membranas perimicrovilares (LANE & HARRISON, 1979; TERRA, 1998; BILLINGSLEY, 1990; ALBUQUERQUE-CUNHA *et al.*, 2004; SILVA *et al.*, 2004; TERRA *et al.*, 2006). Na

superfície celular, aparecem na forma de duas membranas mantidas a uma distância constante uma da outra por uma camada formada por estruturas colunares de composição desconhecida (LANE & HARRISON, 1979; BILLINGSLEY, 1990). As membranas perimicrovilares apresentam funções análogas às da membrana peritrófica, participando da compartimentalização do processo de digestão (SILVA *et al.*, 2004), absorção de aminoácidos (TERRA *et al.*, 2006) e digestão de proteínas (BILLINGSLEY, 1989).

Nos hemípteros hematófagos, o intestino médio é dividido numa porção dilatada, denominada estômago, e outra tubular, denominada intestino. O intestino, por sua vez, é dividido em intestino anterior e posterior. O estômago corresponde à região anterior do intestino médio, enquanto os intestinos anterior e posterior correspondem às regiões média e posterior do intestino médio, respectivamente (BILLINGSLEY, 1988, 1990). Em geral, as três regiões apresentam diferentes funções durante o processo de digestão. Em *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae), o epitélio do IMA possui especializações que permitem distensão do tubo digestivo para armazenamento do sangue e seguido de rápida transferência de água para a hemolinfa, uma característica que permite a ingestão de grandes quantidades de alimento seguidos de intervalos regulares para a digestão. Além disso, é a região de regulação iônica, hemólise, absorção e armazenamento de lipídios, digestão de carboidratos e estocagem de glicogênio (BILLINGSLEY, 1988, 1990; BILLINGSLEY & LEHANE, 1996). O IMM é o principal local de síntese e secreção de enzimas digestivas, apresentando limitada absorção e armazenamento de nutrientes. Também é o ponto onde as membranas perimicrovilares são produzidas mais ativamente (BILLINGSLEY, 1988, 1990; BILLINGSLEY & LEHANE, 1996). Já o IMP é o principal sítio de absorção de

nutrientes, além de armazenamento de carboidratos e atividade secretora. É a região onde se concentram as células endócrinas, sugerindo ter importante papel no controle da digestão (BILLINGSLEY, 1988, 1990; BILLINGSLEY & LEHANE, 1996).

Análises estruturais do intestino médio de vários insetos hematófagos vêm sendo feitas visando entender a dinâmica das células nos processos de alimentação e digestão (BROWN, 1980; BILLINGSLEY & DOWNE, 1985; BILLINGSLEY, 1988, 1990; OLIVEIRA *et al.*, 2000; OKUDA *et al.*, 2002; ALBUQUERQUE-CUNHA *et al.*, 2004). De acordo com BILLINGSLEY (1990), os insetos hematófagos são bons modelos para estudos de indução celular, em função das diversas modificações bioquímicas e estruturais, em geral associadas a um fator temporal, que o sangue ingerido produz nas células epiteliais do intestino médio. Quanto à transmissão de doenças, o intestino médio é local chave na relação entre parasitas e vetor. É onde ocorre o armazenamento e digestão do sangue ingerido contendo os microorganismos e onde se iniciam seus processos de transformação. O ambiente hostil do intestino médio aparece como o primeiro obstáculo para os parasitas, induzindo modificações bioquímicas, fisiológicas e morfológicas para que completem seus ciclos de desenvolvimento (LEHANE & BILLINGSLEY, 1996). No intestino médio de triatomíneos, principais vetores da doença de chagas, o *T. cruzi* interage com as superfícies celulares, microvilos e membranas perimicrovilares. Essas diferentes estruturas podem influenciar tanto a quantidade de tripanossomos como também sua modificação (KOLLIEN *et al.*, 1998; GONZALES *et al.*, 1999; OLIVEIRA & DE SOUZA, 2001; AZAMBUJA *et al.*, 2005).

Em relação aos percevejos-de-cama, a anatomia do intestino médio de *C. lectularius* é descrita como sendo formada pelo primeiro ventrículo ou região anterior



do intestino médio (IMA), bulboso e volumoso, de paredes finas e muito elásticas. O IMA afunila abruptamente e é separado do segundo ventrículo, ou região média do intestino médio (IMM), por um esfíncter. O IMM tem aspecto tubular, com paredes mais grossas que o IMA. Este se conecta por meio de uma região tubular ao terceiro ventrículo ou região posterior do intestino médio (IMP), levemente dilatado, após o qual vem o intestino posterior, também bulboso. Quatro longos túbulos de Malpighi partem da junção do terceiro ventrículo com o intestino posterior (USINGER, 1966; JORG & NGUMO NATULA, 1982; FORATTINI, 1990). Não há, entretanto, nenhuma descrição histológica e/ou ultraestrutural do intestino médio.

Em função do hábito hematófago de *C. hemipterus* e sua relação com o homem, este trabalho visa, por meio de estudos do seu intestino médio, fornecer informações que auxiliem no entendimento de sua fisiologia digestiva, assim como contribuir para a caracterização do hábito alimentar dos hemípteros, relacionando-o a outras espécies deste grupo previamente estudadas. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi descrever a ultra-estrutura do intestino médio de *C. hemipterus*, verificando a morfologia celular durante o processo digestivo.

## MATERIAL E MÉTODOS

No presente estudo foram utilizados exemplares de *Cimex hemipterus* cedidos pelo Departamento de Entomologia do Instituto Oswaldo Cruz (IOC), Manguinhos, RJ. Os insetos foram alimentados com sangue de codorna (*Coturnix coturnix*) e mantidos, em temperatura ambiente, dentro de tubos plásticos vedados com pano e contendo papel de filtro sanfonado e algodão umidecido em água.

Adultos de *C. hemipterus* de ambos os sexos previamente mantidos em jejum foram alimentados e, aqueles que mais ingeriram sangue, selecionados para os estudos. Os insetos foram imobilizados a 0 °C, fixados com fita adesiva dupla face em placa de Petri contendo parafina e o intestino médio foi dissecado em glutaraldeído a 2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,1 M, sendo posteriormente separado em regiões anterior (IMA), média (IMM) e posterior (IMP). O intestino médio foi analisado nos períodos de um, três, cinco, sete, dez e 15 dias após a alimentação.

As amostras obtidas foram mantidas no glutaraldeído a 2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,1 M em períodos superiores a 24 horas. As peças foram lavadas em tampão cacodilato de sódio, pós-fixadas em tetróxido de ósmio 1% em tampão cacodilato de sódio duas horas em temperatura ambiente, novamente lavadas em tampão, desidratadas em série crescente de acetona e incluídas em resina Spurr®. Secções semifinas foram coradas com Azul de Toluidina e submetidas a análises histológicas, enquanto secções ultrafinas foram contrastadas com acetato de uranila 1% e citrato de chumbo (REINOLDS, 1963) e posteriormente analisadas em microscópio eletrônico de transmissão Zeiss EM109.

## RESULTADOS

Anatomicamente, o intestino médio de *Cimex hemipterus* apresenta três regiões distintas. A região anterior ou primeiro ventrículo (IMA) mostrou-se como um saco alargado e pregueado, ocupando grande parte do abdômen e com grande capacidade de distensão durante a alimentação. A região média ou segundo ventrículo (IMM) apresenta-se como um tubo fino e contorcido. A região posterior ou terceiro ventrículo (IMP) é representada por uma dilatação da porção distal do tubo digestivo. Em seguida a essa dilatação observa-se a inserção dos túbulos de Malpighi e o intestino posterior, representado pela ampola retal (Fig. 1).

O intestino médio de *C. hemipterus* é formado por um epitélio simples, com células colunares em sua maioria, mas podendo ser cúbicas de acordo com a distensão do epitélio. O epitélio está apoiado sobre uma lâmina basal fina e circundado por células musculares (Fig. 2 a 7). Células regenerativas em grupos aparecem na base do epitélio das três regiões do intestino médio. São pequenas, com citoplasma fortemente corado e núcleo esférico. Células aparentemente em lise são identificadas, associadas às células regenerativas em diferentes estágios de maturação (Fig. 5). Os resultados mostram que as três regiões do intestino médio apresentam células com morfologias diferentes (Fig. 2 a 7).

O epitélio do IMA é pregueado, com superfície irregular em função de dilatações citoplasmáticas em direção ao lúmen. As células apresentam porção apical bem corada e citoplasma vacuolizado, com grande quantidade de vesículas pouco coradas e pequenos grânulos bem corados. O núcleo esférico ocupa a porção mediana-basal das células, com cromatina descondensada e nucléolo desenvolvido. A porção

basal das células apresenta-se muito pregueada. As células apresentam núcleos maiores e ápice mais irregular nos cinco primeiros dias após a alimentação (Fig. 2 e 3).

As células do IMM mostram citoplasma não vacuolizado, com regiões de coloração clara e outras mais coradas. A forma das células varia de cúbica a colunar, de acordo com a distensão do epitélio. A superfície apical do epitélio é mais regular que nas células do IMA, apesar de em alguns pontos haver expansões do citoplasma em direção ao lúmen, enquanto a porção basal é pouco pregueada, com coloração densa. O ápice cora-se fortemente, assim como o citoplasma adjacente a ele. O núcleo, localizado na porção mediana da célula, apresenta cromatina descondensada e nucléolo desenvolvido (Fig. 4 e 5).

As células do IMP apresentam citoplasma denso e pouco vacuolizado, com grânulos claros e outros fortemente corados. A superfície do epitélio é regular, e as células apresentam tanto o ápice quanto a porção citoplasmática basal mais coradas. O núcleo tem posição central, com cromatina descondensada e nucléolo bem desenvolvido (Fig. 6 e 7). Aos cinco dias após a alimentação, as células do IMP são cúbicas e colunares, com núcleos grandes e citoplasma denso e pouco vacuolizado (Fig. 6). Por volta dos 15 dias após a alimentação, o epitélio apresenta-se mais compactado, com células colunares e porção basal pregueada. Os núcleos são menores, porém, a cromatina se mantém descondensada e o nucléolo desenvolvido. Algumas células apresentam vacúolos com grânulos pigmentados (Fig. 7).

Em geral, as células do intestino médio de *C. hemipterus* apresentam ápice com microvilosidades (Fig. 8, 16, 17 e 23) sustentadas por estruturas filamentosas (Fig. 9), e são unidas por junções septadas (Fig. 11 e 28). A superfície apical apresenta dupla membrana (Fig. 9) e membranas perimicrovilares são observadas em todos os períodos

de alimentação (Fig. 9, 11, 16, 17, 23 e 25), aumentando em quantidade de acordo com o tempo. O citoplasma apical concentra mitocôndrias na base das microvilosidades (Fig. 8, 9, 10, 16, 17 e 23), enquanto a porção basal apresenta labirinto desenvolvido, em geral associado a mitocôndrias. As células estão apoiadas numa membrana basal contínua e pouco eletrônica, circundada por células musculares longitudinais e transversais (Fig. 14, 21 e 27). Células regenerativas estão presentes na base do epitélio, com citoplasma eletrônico-denso, mitocôndrias alongadas, retículo endoplasmático rugoso perinuclear e núcleo esférico (Fig. 15 e 22).

As análises ultra-estruturais mostram diferenças entre as células principais das três regiões do intestino médio. Entretanto, para uma mesma região, as células apresentam poucas modificações ao longo dos dias pós-alimentação estudados, permitindo caracterizar sua estrutura de uma forma geral.

No IMA, a porção apical das células principais apresenta membranas perimicrovilares a partir do primeiro dia pós-alimentação (Fig. 8 e 9). O citoplasma mediano-apical apresenta inclusões lipídicas, vacúolos eletrônicos-lucentes, e depósitos glicogênio (Fig. 10 e 11). Há retículo endoplasmático rugoso e esferocristais de diferentes tamanhos, envoltos por membranas (Fig. 13 e 15). A partir dos cinco dias após a alimentação, as mitocôndrias se mostram menores e vacúolos contendo cristais eletrônicos-densos são observados no citoplasma. Por volta do décimo dia observa-se maior quantidade de inclusões lipídicas e vacúolos eletrônicos-lucentes (Fig. 10 e 11), e aos 15 dias grande número de grânulos eletrônicos-densos envoltos por membrana (Fig. 15). Estruturas de aspecto membranoso foram observadas no citoplasma (Fig. 15). As dobras da membrana plasmática basal formam um labirinto desenvolvido e estão associadas a

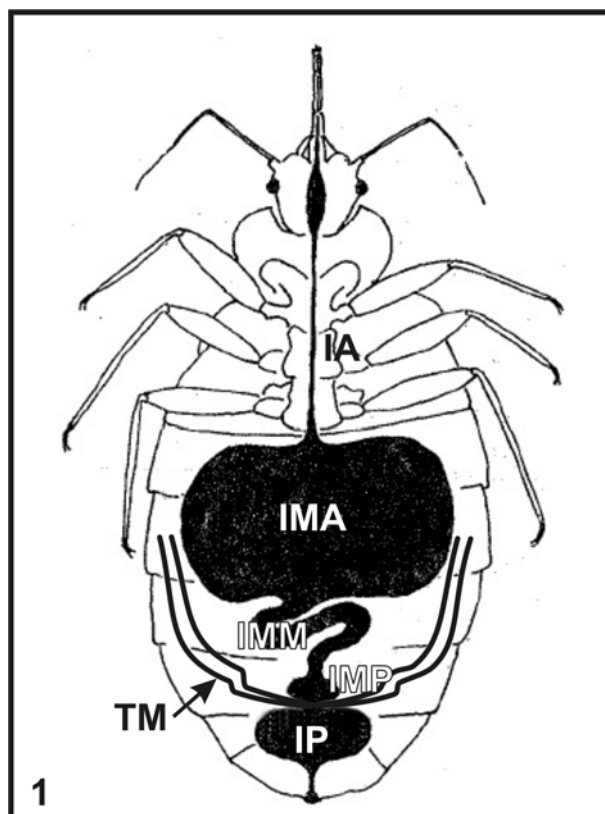
mitocôndrias e depósitos de glicogênio (Fig. 12 e 14). Na porção basal também foram identificadas inclusões lipídicas e esferocristais (Figs 13 e 15).

As células principais do IMM apresentam citoplasma mediano-apical com mitocôndrias, pequenos grânulos de eletron-densidade média e lisossomos com diferentes conteúdos (Fig. 16). Da mesma forma que na região anterior, as mitocôndrias se mostram maiores nos três primeiros dias após a alimentação (Fig. 16 e 17). Estruturas membranosas também foram observadas (Fig. 16), assim como cristais e grânulos elétron-densos envoltos por membrana e dentro de vacúolos (Fig. 16 e 18). Inclusões lipídicas aparecem em menor quantidade que no IMA (Fig. 19), e complexos de Golgi, vacúolos eletron-lucentes e lisossomos pequenos são observados na porção mediana-basal. O retículo endoplasmático rugoso aparece em grande quantidade (Fig. 19 e 20). Diferentemente das células do IMA, não há depósitos de glicogênio nem esferocristais.

No IMP, o citoplasma mediano-apical apresenta lisossomos (Fig. 23, 24 e 25), esferocristais (Fig. 24, 26 e 29), vacúolos eletron-lucentes, em menor número e tamanho que no IMA, estruturas membranosas (Fig. 24, 26 e 27) e esferocristais (Fig. 24, 26 e 29). O retículo endoplasmático rugoso também aparece em grande quantidade (Fig. 24 e 28). Grânulos elétron-densos envoltos por membrana também são observados (Figura 28). A porção mediano-basal da célula apresenta grande quantidade de mitocôndrias (Fig. 27). Aparentemente, a membrana basal é pregueada e associada a feixes musculares.

Com um dia de alimentação, as células do IMP apresentam depósitos de glicogênio no citoplasma (Fig. 29), os quais se esvaziam nos dias subseqüentes, assim como as mitocôndrias se mostram maiores nos três primeiros dias após a alimentação. Aos três e cinco dias após o repasto há pequenos grânulos de eletron-densidade média

junto às microvilosidades (Fig. 26). Células endócrinas estão presentes nessa região, caracterizadas pelo contato com o lúmen do intestino, grande quantidade de grânulos elétron-densos e mitocôndrias (Fig. 28). Vacúolos claros e uma figura mielínica também são observados. A porção basal concentra a maior parte dos grânulos e não apresenta dobras de membrana (Fig. 28).



**Figura 1. Desenho esquemático de Cimex hemipterus destacando o sistema digestivo.**

IA, intestino anterior; IMA, região anterior do intestino médio ou primeiro ventrículo; IMM, região média do intestino médio ou segundo ventrículo; IMP, região posterior do intestino médio ou terceiro ventrículo; IP, intestino posterior; TM, túbulos de Malpighi. Modificado de Jorg e Ngumo-Natula (1982).



**Figuras 2-7. Secções histológicas semifinas do intestino médio de *Cimex hemipterus* em diferentes dias após alimentação, coradas com Azul de Toluidina.**

**Figura 2.** IMA, mostrando células principais de ápice (ap) irregular fortemente corado e citoplasma vacuolizado, núcleo (n) com cromatina descondensada e nucléolo (seta) desenvolvido. Notar os grânulos citoplasmáticos (g) com diferentes graus de coloração. L = lúmen; m = células musculares. 5 dias. Barra = 10  $\mu$ m.

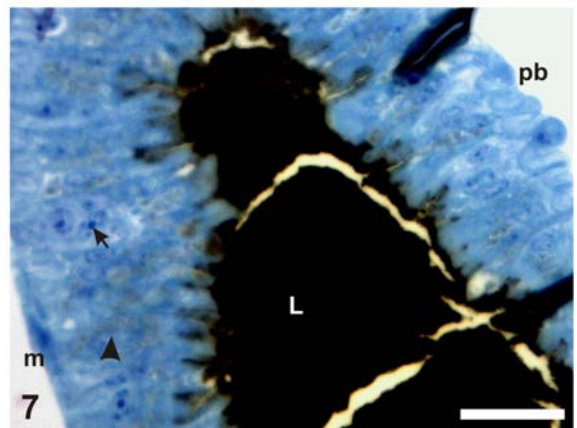
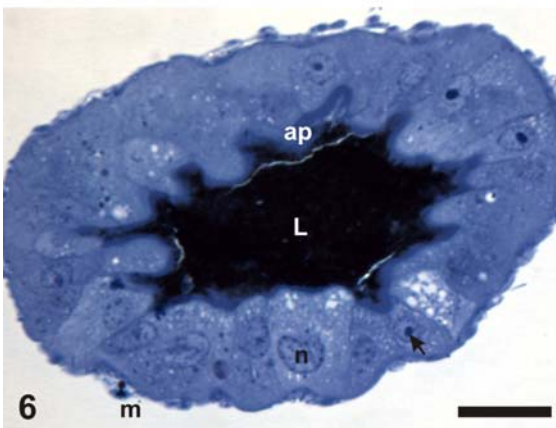
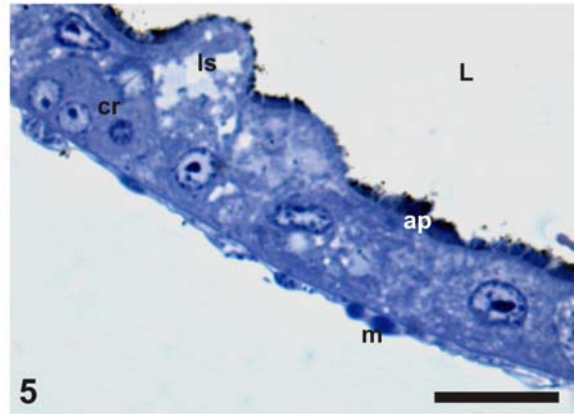
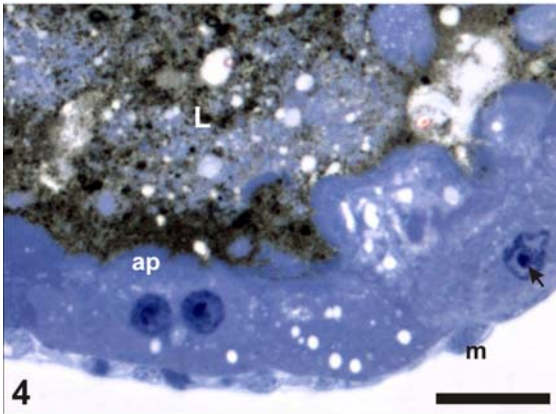
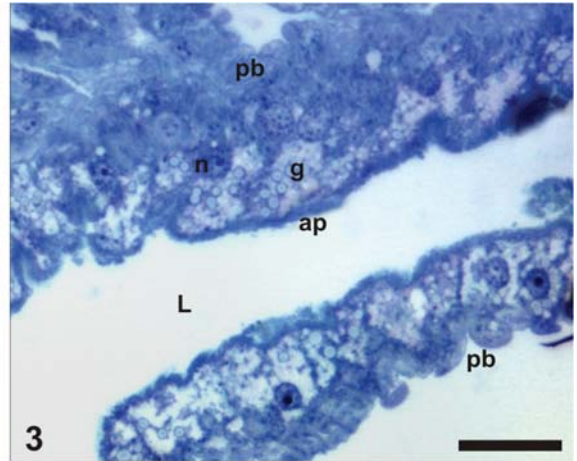
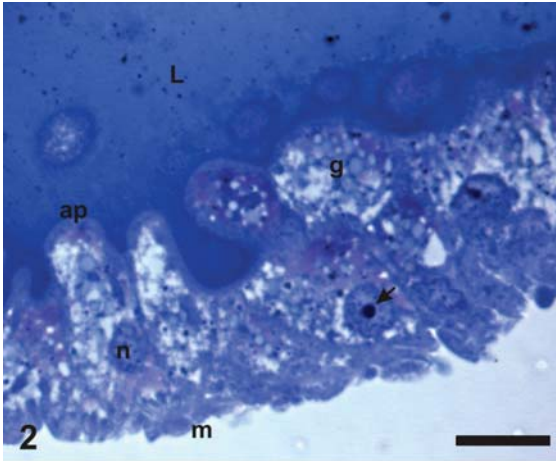
**Figura 3.** IMA, mostrando epitélio com porção basal (pb) pregueada e células vacuolizadas, contendo grânulos (g) de diferentes tamanhos e graus de coloração. 15 dias. Barra = 10  $\mu$ m. ap = ápice; L = lúmen; n = núcleo.

**Figura 4.** IMM, mostrando células principais cúbicas com ápice (ap) bem corado e citoplasma granuloso e pouco vacuolizado. Os núcleos apresentam cromatina descondensada e nucléolo (seta) desenvolvido. A porção basal do epitélio se mostra pouco pregueada. L = lúmen; m = células musculares. 5 dias. Barra = 10  $\mu$ m.

**Figura 5.** IMM, mostrando célula em lise (ls) seguida de células regenerativas (cr) em diferenciação. Notar o citoplasma das células principais com regiões mais e outras menos coradas. Ap = ápice; L = lúmen; m = células musculares. 5 dias. Barra = 10  $\mu$ m.

**Figura 6.** IMP, mostrando células principais com citoplasma denso, com poucos grânulos e ápice (ap) fortemente corado. L = lúmen; m = células musculares; n = núcleo; seta = nucléolo. 5 dias. Barra = 10  $\mu$ m.

**Figura 7.** IMP, mostrando células com núcleos menores que aos cinco dias, mantendo a cromatina descondensada e o nucléolo (seta) desenvolvido, e citoplasma contendo grânulos pigmentados (ponta de seta). A porção basal do epitélio (pb) é pregueada. L = lúmen; m = células musculares. 15 dias. Barra = 10  $\mu$ m.



**Figuras 8-15: Micrografias eletrônicas de transmissão do epitélio da região anterior do intestino médio (IMA) de *Cimex hemipterus* em diferentes dias após alimentação.**

**Figura 8.** Porção apical de célula principal mostrando microvilosidades (mv) e mitocôndrias (m). L = lúmen. 3 dias. Barra = 1  $\mu\text{m}$ .

**Figura 9. A.** Ápice de célula principal mostrando microvilos (mv) com membranas perimicrovillares (seta), mitocôndrias (m) e vacúolos de material eletrôn-lucente (v). 5 dias. Barra = 0,2  $\mu\text{m}$ . **B.** Detalhe de microvilosidade mostrando superfície com duas bicamadas lipídicas separadas por uma camada de espessura constante. Ponta de seta, membrana perimicrovillar. L = lúmen. Barra = 0,05  $\mu\text{m}$ .

**Figura 10.** Porção apical de célula principal mostrando mitocôndrias (m) concentradas na base dos microvilos (mv), depósitos de glicogênio (g) e vacúolos eletrôn-lucentes (v). 10 dias. Barra = 1  $\mu\text{m}$ .

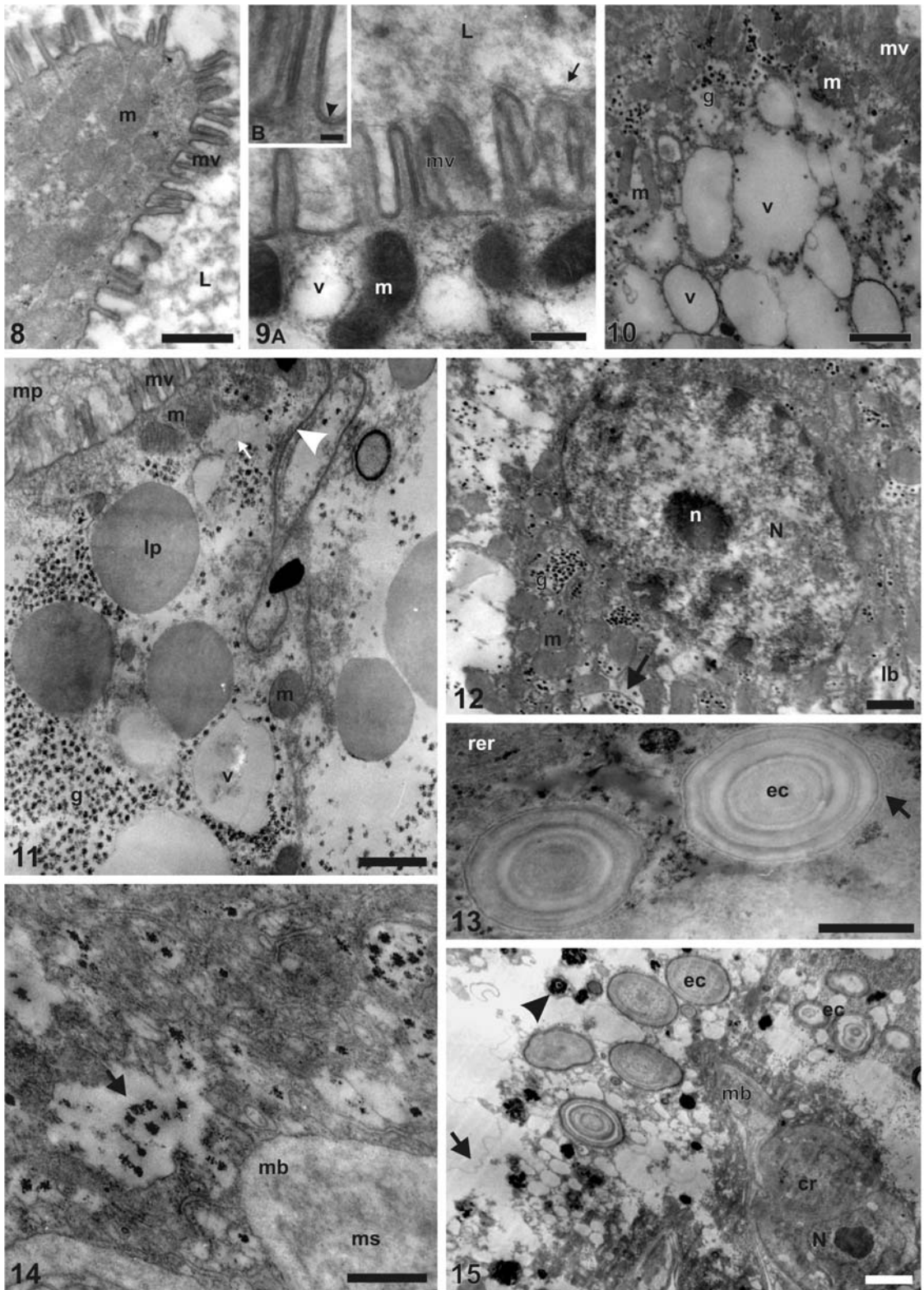
**Figura 11.** Célula principal mostrando inclusões lipídicas (lp), depósitos de glicogênio (g) e vacúolos eletrôn-lucentes (v). As microvilosidades (mv) apresentam membranas perimicrovillares (mp). m = mitocôndrias; seta = estruturas membranosas; ponta de seta = junção septada. 15 dias. Barra = 1,5  $\mu\text{m}$ .

**Figura 12.** Porção médio-basal mostrando núcleo (N) com cromatina descondensada e nucléolo (n) granular. A membrana plasmática basal da célula apresenta invaginações (seta) criando um labirinto basal (lb) desenvolvido, associado a mitocôndrias (m) e glicogênio (g). 7 dias. Barra = 1  $\mu\text{m}$ .

**Figura 13.** Citoplasma médio-basal de célula principal mostrando esferocristais (ec) associados a membranas (seta). Notar a presença de retículo endoplasmático rugoso (rer) próximo aos esferocristais. 3 dias. Barra = 1  $\mu\text{m}$ .

**Figura 14.** Porção basal de célula principal mostrando labirinto de membranas desenvolvido associado a glicogênio (seta). mb = membrana basal; ms = célula muscular. 5 dias. Barra = 0,5  $\mu\text{m}$ .

**Figura 15.** Citoplasma mediano-basal de célula principal mostrando esferocristais (ec), estruturas membranosas (seta), grânulos de alta eletrôn-densidade (ponta de seta) e uma célula regenerativa (cr). N = núcleo. 15 dias. Barra = 1  $\mu\text{m}$ .



**Figuras 16-22. Micrografias eletrônicas de transmissão do epitélio da região média do intestino médio (IMM) de *Cimex hemipterus* em diferentes dias após alimentação.**

**Figura 16.** Porção apical de célula principal mostrando microvilos (mv), mitocôndrias (m) e lisossomos (ls) com diferentes conteúdos. Observa-se acúmulo de pequenos grânulos de eletrondensidade média (seta) junto ao ápice, grânulos de elevada eletrondensidade (ponta de seta) e estruturas membranosas (em). 1 dia. Barra = 1  $\mu\text{m}$ .

**Figura 17.** Porção apical de célula principal mostrando membranas perimicrovilares (seta) delimitando duas regiões, uma na face luminal e outra junto aos microvilos (mv). L = lúmen. 10 dias. Barra = 1  $\mu\text{m}$ .

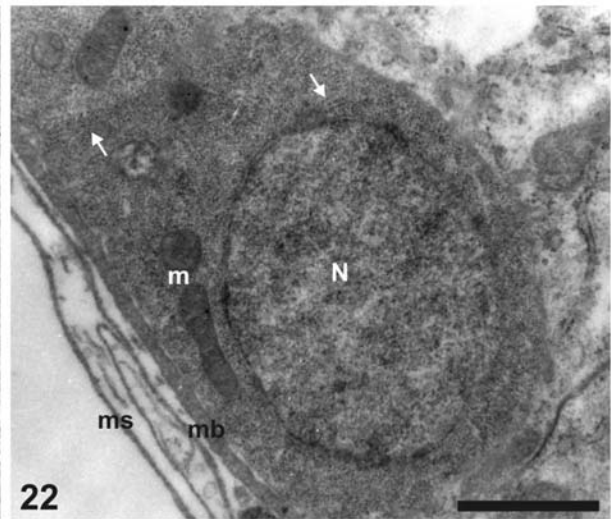
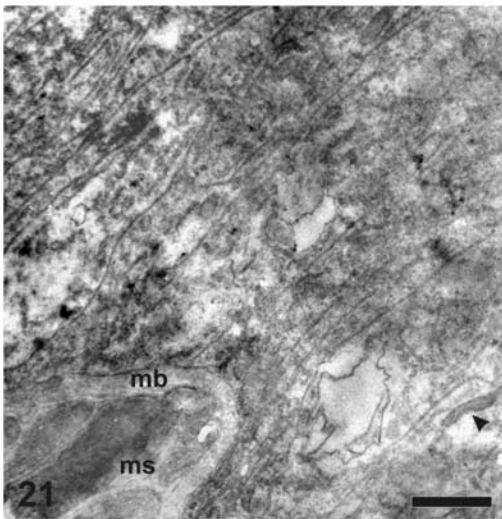
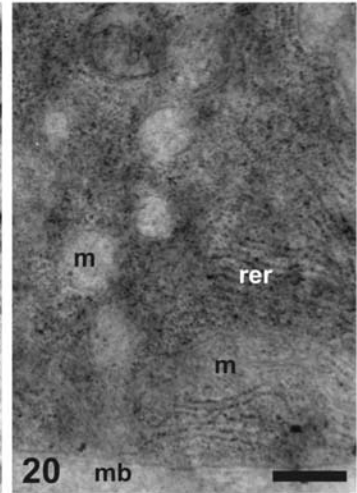
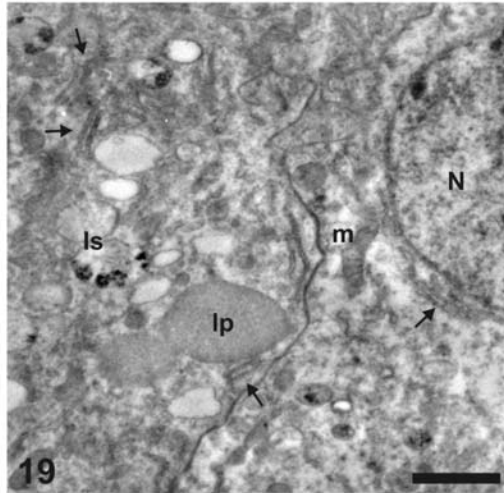
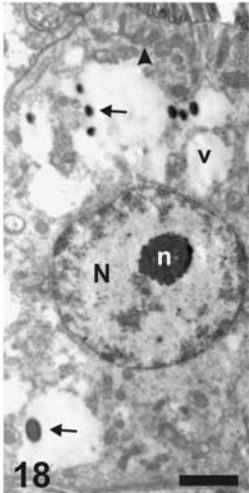
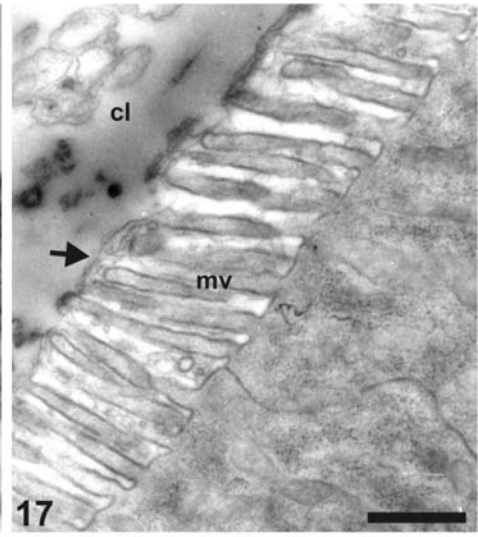
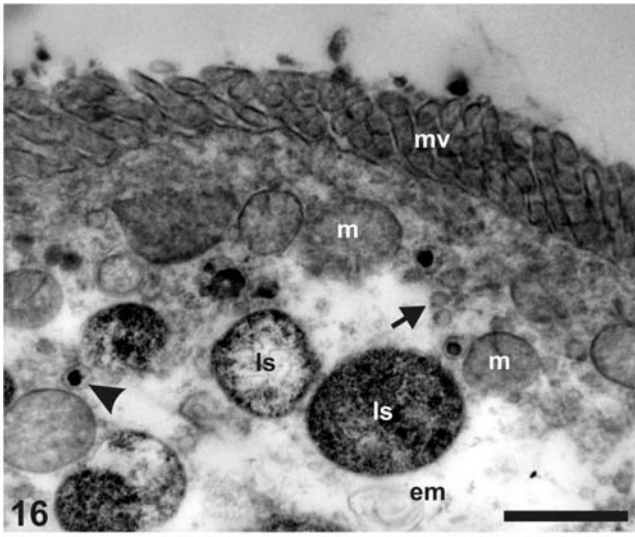
**Figura 18.** Célula principal mostrando núcleo (N) com cromatina descondensada e nucléolo (n) granular e vacúolos eletrôn-lucentes (v) contendo cristais eletrôn-densos (seta). Notar o acúmulo de mitocôndrias (ponta de seta) na base dos microvilos. 3 dias. Barra = 2  $\mu\text{m}$ .

**Figura 19.** Região mediana de uma célula principal mostrando núcleo (N) com cromatina descondensada, inclusões lipídicas (lp), lisossomos (ls) e retículo endoplasmático rugoso (seta). m = mitocôndrias. 5 dias. Barra = 1  $\mu\text{m}$ .

**Figura 20.** Porção basal de uma célula principal mostrando retículo endoplasmático rugoso desenvolvido. m = mitocôndrias. 5 dias. Barra = 0,25  $\mu\text{m}$ .

**Figura 21.** Porção basal de uma célula principal mostrando o labirinto de membranas desenvolvido. mb = membrana basal; ms = célula muscular; ponta de seta = mitocôndrias. 10 dias. Barra = 1  $\mu\text{m}$ .

**Figura 22.** Célula regenerativa mostrando citoplasma denso e granular, com núcleo (N) esférico, mitocôndrias (m) e retículo endoplasmático rugoso (seta). mb = membrana basal; ms = célula muscular. 3 dias. Barra = 1  $\mu\text{m}$ .



**Figuras 23-29. Micrografias eletrônicas de transmissão do epitélio da região posterior do intestino médio (IMP) de *Cimex hemipterus* em diferentes dias após alimentação.**

**Figura 23.** Porção apical de célula principal mostrando microvilosidades (mv), mitocôndrias (m) e lisossomos (ls). 15 dias. Barra = 0,5  $\mu\text{m}$ .

**Figura 24.** Célula principal mostrando microvilosidades (mv), mitocôndrias (m), vacúolos eletrôn-lucentes (v), retículo endoplasmático rugoso (seta) e esferocristais (cabeça de seta). Notar a presença de vacúolo contendo estruturas membranosas (em). 7 dias. Barra = 0,5  $\mu\text{m}$ .

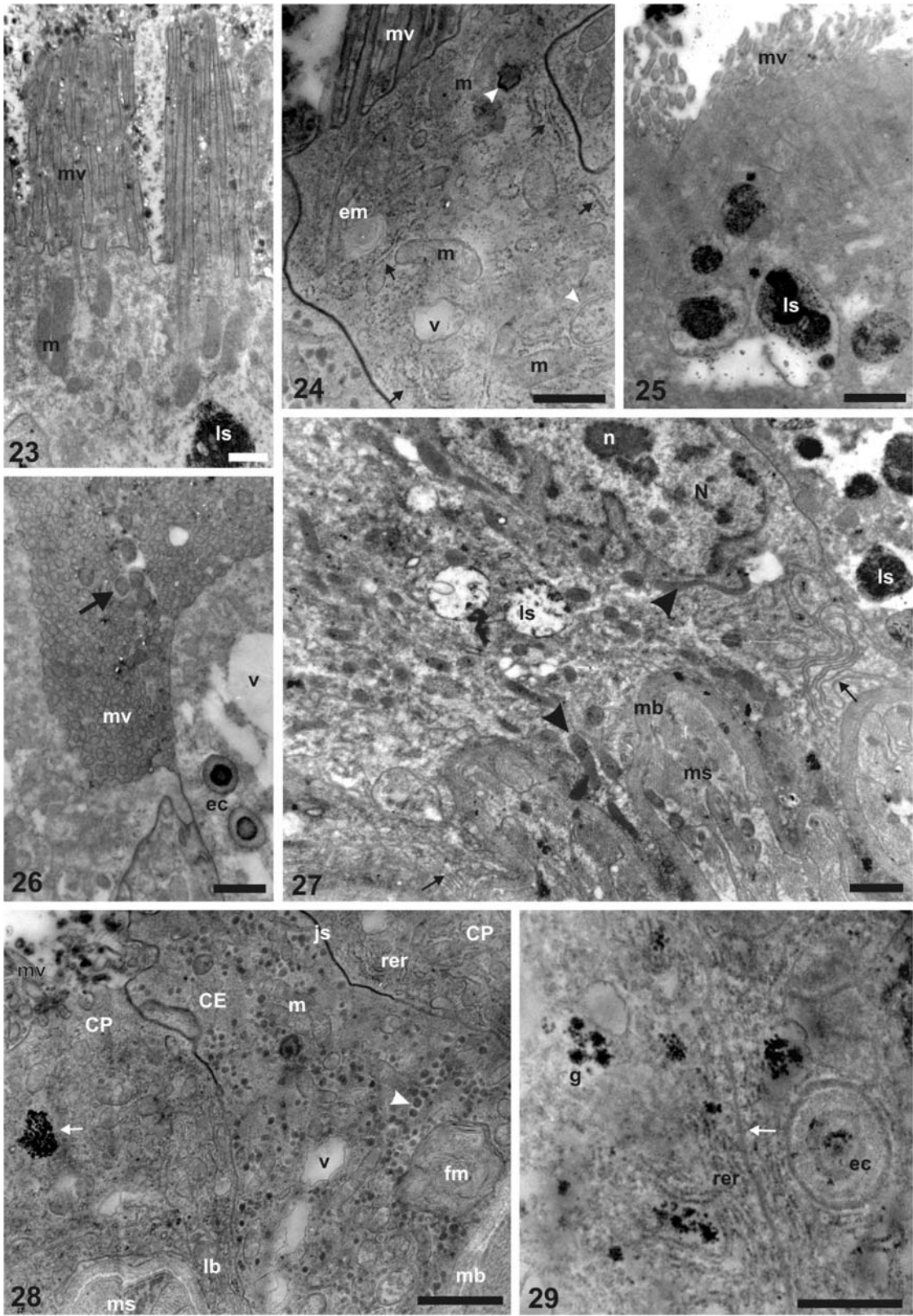
**Figura 25.** Porção apical de uma célula principal mostrando lisossomos (ls). mv = microvilosidades. 7 dias. Barra = 1  $\mu\text{m}$ .

**Figura 26.** Porção apical de células principais mostrando grânulos de eletrôn-densidade média (seta) junto aos microvilos (mv). Notar a presença de esferocristais (ec) e vacúolos eletrôn-lucentes (v). 5 dias. Barra = 1  $\mu\text{m}$ .

**Figura 27.** Porção mediana-basal de uma célula principal mostrando núcleo (N) com cromatina descondensada e nucléolo (n) granular. A membrana basal (mb) é pregueada, associada a células musculares (ms), enquanto o labirinto basal (seta) é desenvolvido. Notar a grande quantidade de mitocôndrias (pontas de seta). ls = lisossomos. 15 dias. Barra = 1  $\mu\text{m}$ .

**Figura 28.** Visão geral do epitélio mostrando célula endócrina (CE) do tipo aberta contendo muitos grânulos de eletrôn-densidade média (ponta de seta) e mitocôndrias (m) por todo o citoplasma, além de vacúolos eletrôn-lucentes (v) e uma figura mielínica (fm) na porção basal. A célula endócrina apresenta-se unida às células principais (CP) por junções septadas (js). As células principais mostram labirinto basal (lb) desenvolvido, retículo endoplasmático rugoso (rer), mitocôndrias, grânulos de eletrôn-densidade elevada concentrados num vacúolo (seta) e vacúolos eletrôn-lucentes. mb = membrana basal; ms = célula muscular. 7 dias. Barra = 1  $\mu\text{m}$ .

**Figura 29.** Região médio-apical de células principais mostrando grânulos de glicogênio (g), retículo endoplasmático rugoso (rer) e esferocristal. seta = membrana plasmática baso-lateral. 1 dia. Barra = 0,5  $\mu\text{m}$ .





## DISCUSSÃO

O intestino médio de *Cimex hemipterus* apresentou-se dividido em três regiões principais, ou primeiro (IMA), segundo (IMM) e terceiro (IMP) ventrículos, conforme observado em outros hemípteros como *C. lectularius* (JORG & NGUMO-NATULA, 1982), *Brontocoris tabidus* (Pentatomidae) (FIALHO, 2007; GUEDES, 2007) e *Dysdercus peruvianus* (Pyrrhocoridae) (SILVA *et al.*, 1995). Não foi encontrada uma quarta região, ou quarto ventrículo, caracterizada como um segmento de transição entre o terceiro ventrículo e a ampola retal, como observado em *B. tabidus* e *D. peruvianus* (SILVA *et al.*, 1995; GUEDES *et al.*, 2007) nem cecos gástricos.

As análises ultra-estruturais mostraram que as microvilosidades e as mitocôndrias concentradas na sua base são as responsáveis pela forte coloração do ápice das células principais das três regiões do intestino médio de *C. hemipterus*, conforme observado nas secções histológicas. Essas estruturas indicam que as três regiões estão envolvidas na absorção ativa de substâncias a partir do lúmen do intestino médio. O maior tamanho das mitocôndrias apicais nos três primeiros dias após a alimentação sugere maiores níveis de absorção de nutrientes e/ou atividade celular nesse período, provavelmente relacionada à maior quantidade de alimento no lúmen.

As três regiões do intestino médio de *C. hemipterus* apresentaram membranas perimicrovilares já no primeiro dia após a alimentação, diferentemente de *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae), onde as membranas perimicrovilares são detectadas a partir do segundo dia após o repasto (BILLINGSLEY e DOWNE, 1985). No fitófago *D. peruvianus* e no zoofitófago *B. tabidus*, as membranas perimicrovilares já se encontram presentes nos insetos em jejum (SILVA *et al.*, 1995; FIALHO, 2007), o que não foi possível observar em *C. hemipterus*.

A origem das membranas perimicrovillares está associada à fusão de vesículas de dupla membrana ou multimembranosas à superfície celular, provenientes do complexo de Golgi e retículo endoplasmático (SILVA *et al.*, 1995; CRISTOFOLETTI *et al.*, 2003). ALBUQUERQUE-CUNHA *et al.* (2004) observaram vacúolos contendo estruturas membranosas em células do IMM e IMP de *R. prolixus* e sugeriram que estas inclusões têm participação na formação das membranas perimicrovillares. Em *C. hemipterus*, estruturas membranosas foram observadas no citoplasma das células das três regiões do intestino médio, sugerindo que possam ter alguma participação na formação das membranas perimicrovillares. Além disso, as membranas perimicrovillares mantiveram-se presentes em todo o período analisado, participando na compartimentalização da digestão ao delimitar dois espaços distintos na superfície do epitélio. De acordo com TERRA (1988), a compartimentalização aumenta a eficiência da digestão de macromoléculas.

O labirinto basal apresentou-se desenvolvido nas três regiões do intestino médio de *C. hemipterus*, indicando que em todo o intestino há intenso intercâmbio de moléculas entre as células epiteliais e a hemolinfa. Um labirinto basal desenvolvido também foi observado nas três regiões do intestino médio de *Glossina morsitans* (Diptera: Glossinidae) (BROWN, 1980) e *B. tabidus* (FIALHO, 2007).

Células regenerativas foram encontradas isoladas e em ninhos nas três regiões do intestino médio de *C. hemipterus*, algumas em estado de diferenciação, mostrando que a renovação do epitélio acontece durante o processo digestivo.

Em *C. hemipterus*, as três regiões do intestino médio apresentaram células principais com características estruturais distintas, indicando diferenças funcionais. Os esferocristais, inclusões lipídicas e depósitos de glicogênio observados nas células do

IMA de *C. hemipterus* sugerem que essa região está envolvida na regulação iônica, absorção de água, e absorção e armazenamento de lipídios e carboidratos.

No IMA de *C. hemipterus*, as mitocôndrias concentradas no ápice celular e junto ao labirinto basal, além dos depósitos de glicogênio, estão provavelmente relacionadas ao fornecimento de energia para os processos de transporte ativo de íons nas membranas, importantes na formação do gradiente osmótico responsável pela absorção de água. Nos hemípteros hematófagos, grandes quantidades de urina são excretadas em seguida ao repasto, ligado à remoção de água contida no sangue ingerido e armazenado no IMA (BILLINGSLEY, 1990). Nos hemípteros, o IMA é o principal sítio de remoção de água do alimento (SILVA *et al.*, 1995; BILLINGSLEY & DOWNE, 1989; BILLINGSLEY, 1990; FIALHO, 2007).

A absorção de água pelo intestino médio está intimamente relacionada ao transporte ativo de íons do lúmen para dentro das células epiteliais e espaços intercelulares, por meio de transportadores existentes nas membranas apicais e basolaterais das células (DOW, 1981; BARRETT, 1982). Solutos podem ser concentrados nos espaços extracelulares do labirinto basal, criando um gradiente osmótico entre a hemolinfa e o lúmen, o que permitirá a absorção de água (CAVALCANTE & CRUZ-LANDIM, 1999; TERRA *et al.*, 2006). Em *R. prolixus*, as dobras da membrana plasmática que forma o labirinto basal das células principais do IMA aparecem largamente espaçadas duas horas após a alimentação, criando grandes cavidades extracelulares junto à membrana basal que auxiliam na remoção de água do lúmen do intestino médio (BILLINGSLEY & DOWNE, 1989). Grandes espaços extracelulares no labirinto basal também foram observados nas células do intestino

médio responsáveis pela absorção de água em fêmeas de *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) seis horas após a alimentação (OKUDA *et al.*, 2002).

A participação do IMA de *C. hemipterus* na absorção de íons, água e carboidratos é suportada também pela presença de grande quantidade de esferocristais no citoplasma das células principais. Esferocristais são concreções minerais formadas por íons inorgânicos associados a uma matriz de polissacarídeos (CRUZ-LANDIM & SERRÃO, 1997). Ao capturar os íons absorvidos do lúmen do intestino médio, eles atuam como importantes centros de armazenamento, além de controlar a osmolaridade interna da célula (BILLINGSLEY & DOWNE, 1989; BILLINGSLEY, 1990; CRUZ-LANDIM e SERRÃO, 1997). Os íons contidos nos esferocristais podem ser mobilizados quando necessário via degradação em lisossomos (BILLINGSLEY & DOWNE, 1989). Esferocristais observados no intestino médio de abelhas contém fosfatos de cálcio, magnésio e potássio, assim como sais de ferro e ácido úrico (CRUZ-LANDIM & SERRÃO, 1997). Em *R. prolixus*, esferocristais podem captar íons de potássio e cálcio (BILLINGSLEY & DOWNE, 1989). Os esferocristais observados em *C. hemipterus* estão envolvidos por membranas do retículo endoplasmático rugoso, sugerindo sua participação na formação destas concreções conforme observado no intestino médio de abelhas (CRUZ-LANDIM & SERRÃO, 1997; LOCKE, 2003).

As células do IMA de *C. hemipterus* apresentaram muito glicogênio e inclusões lipídicas no citoplasma, indicando ser esta região a principal zona de absorção e metabolismo de carboidratos e lipídios. Além disso, a grande quantidade dessas estruturas no citoplasma das células aos 15 dias pós-alimentação sugere que essa região tem importantes funções no armazenamento de energia, conforme observado em *R. prolixus* (BILLINGSLEY, 1988; BILLINGSLEY & DOWNE, 1989) e em

*Panstrongilus megistus* (Hemiptera: Reduviidae) (CANAVOSO *et al.*, 2004), onde o IMA aparece como principal sítio de absorção e armazenamento de carboidratos e lipídios. Os lipídios são armazenados principalmente na forma de diacilgliceróis e triacilgliceróis (RIMOLDI *et al.*, 1985; TURUNEN & CRAILSHEIM, 1996; CANAVOSO *et al.*, 2004). Já os carboidratos são absorvidos pelas células epiteliais na forma de monossacarídeos e dissacarídeos, por meio de difusão e transportadores Na<sup>+</sup>-dependentes, e armazenados na forma de glicogênio (TURUNEN & CRAILSHEIM, 1996; CACCIA *et al.*, 2007).

Os vacúolos membranosos elétron-lucentes observados nas células do IMA de *C. hemipterus* são semelhantes aos encontrados nas células do IMA de *R. prolixus*, sendo relacionadas a inclusões de natureza lipídica e protéica cujo conteúdo foi extraído durante a desidratação do material e denominadas vacúolos de armazenamento (BILLINGSLEY & DOWNE, 1985, 1989). A enzima lisossômica aminopeptidase teve atividade detectada nas membranas dessas estruturas antes e após a alimentação (BILLINGSLEY & DOWNE, 1985), sugerindo que as mesmas têm papel na mobilização de nutrientes, além do possível papel na formação de membranas perimicrovilares (ALBUQUERQUE-CUNHA *et al.*, 2004). Dessa forma, associado ao acúmulo de inclusões lipídicas e glicogênio, o IMA de *C. hemipterus* tem importante papel no armazenamento de energia. Vacúolos eletron-lucentes também foram observados no citoplasma de células do intestino médio em fêmeas de *Lutzomyia intermedia* (Diptera: Phlebotominae) (ANDRADE-COELHO *et al.*, 2001) e larvas de *Apis mellifera* (CRUZ-LANDIM & CAVALCANTE, 2003), porém, a natureza química de seu conteúdo não foi definida.

Os vacúolos e grânulos de diferentes colorações observados nas secções histológicas do IMA de *C. hemipterus* estão relacionados aos esferocristais, depósitos de glicogênio, inclusões lipídicas e vacúolos de armazenamento.

A pouca quantidade de retículo endoplasmático rugoso e a ausência de grânulos de secreção e lisossomos nas células principais do IMA de *C. hemipterus* sugerem que esta região não está envolvida na secreção de enzimas digestivas e digestão intracelular de proteínas do sangue. O mesmo foi observado no IMA de *R. prolixus*, onde a ausência de grânulos de secreção e atividades de proteases nas microvilosidades e membranas perimicrovilares mostram que esta região não está envolvida na digestão de proteínas (BILLINGSLEY & DOWNE, 1985, 1990). O retículo endoplasmático rugoso pode estar envolvido na formação das concreções de íons, transporte e estocagem de ferro e lipídios e desintoxicação de moléculas de heme absorvidos do lúmen do intestino (LOCKE, 2003; SILVA *et al.*, 2006).

A presença de grânulos de secreção, lisossomos e grande quantidade de retículo endoplasmático rugoso sugerem que o IMM de *C. hemipterus* está envolvido na digestão extracelular e intracelular de proteínas do sangue, assim como em *R. prolixus*, onde IMM é o principal sítio de digestão de proteínas, sendo detectada atividade de proteases tanto no lúmen quanto nas membranas perimicrovilares e lisossomos intracelulares (BILLINGSLEY & DOWNE, 1985; BILLINGSLEY, 1988) e em *T. infestans*, no qual o IMM apresentou grande quantidade de grânulos de secreção e lisossomos, sendo ponto chave na digestão de proteínas (BURGOS & GUTIERREZ, 1976).

Em *C. hemipterus*, a ausência de depósitos de glicogênio no IMM indica que a absorção de carboidratos é mínima nessa região. Entretanto, a presença de vacúolos de

armazenamento e inclusões lipídicas, em menor quantidade que no IMA, mostram que esta região também pode ter participação na digestão de lipídios e estocagem de nutrientes. De acordo com BILLINGSLEY (1988), lipídios podem ser digeridos no IMM e armazenados no IMA. Em *R. prolixus*, o IMM tem papel limitado no armazenamento de energia (BILLINGSLEY, 1990), assim como em *T. infestans*, onde se observou vacúolos de armazenamento no IMM de insetos em jejum (BURGOS & GUTIERREZ, 1976).

A presença de grânulos de secreção e lisossomos nas células do IMP de *C. hemipterus* sugere que esta região compartilha funções de digestão protéica com o IMM. Diferentemente do IMM, o IMP apresenta esferocristais, indicando que nessa região ocorre absorção de íons e água. Da mesma forma que nas outras regiões, a membrana plasmática basal apresenta muitas dobras. Todavia, a maior concentração de mitocôndrias junto às membranas sugere que o transporte de substâncias para a hemolinfa é maior nessa região que no IMM. De acordo com BILLINGSLEY (1990), o IMP de hemípteros hematófagos é o maior sítio de absorção de nutrientes, e apresenta funções em comum com o IMM, sendo ativo na secreção de enzimas e digestão intracelular, além de absorção de íons.

As células do IMP de *C. hemipterus* apresentaram depósitos de glicogênio até o primeiro dia após a alimentação, diferentemente de *R. prolixus*, onde o IMP acumula glicogênio até o 20º dia após a alimentação, aparecendo como importante sítio de armazenamento de carboidratos (BILLINGSLEY, 1988). Em *C. hemipterus*, a maior parte do carboidrato presente na alimentação é absorvido no IMA. O carboidrato absorvido pelo IMP pode ser proveniente da digestão de glicoproteínas no IMM e/ou

IMP, conforme sugerido por TERRA (1988), ou carboidratos que não foram absorvidos no IMA. Entretanto, são mobilizados rapidamente, não sendo armazenados.

O IMP de *C. hemipterus* apresentou células endócrinas do tipo aberta. De acordo com BILLINGSLEY (1990), o IMP de hemípteros hematófagos concentra a maior parte das células endócrinas do intestino médio, sugerindo importante papel dessa região no controle da digestão. As células endócrinas secretam peptídeos que podem atuar no controle da secreção de enzimas, peristaltismo e diferenciação de células regenerativas, além de influenciar atividades de outros órgãos como o corpo gorduroso e o sistema nervoso central (SEHNAL & ZITNAN, 1996; CRUZ-LANDIM & CAVALCANTE, 1999).

O conteúdo luminal nas três regiões do intestino médio de *C. hemipterus* diminui sensivelmente ao longo dos dias após a alimentação, não estando, entretanto, totalmente vazio no 15º dia. Os núcleos com cromatina permanentemente descondensada e nucléolo desenvolvido, associados à semelhança estrutural das células nos períodos iniciais e finais estudados, indica que as células principais das três regiões do intestino médio de *C. hemipterus* são ativas no processo de digestão pelo menos até o 15º dia após a alimentação. Entretanto, maiores níveis de atividade celular podem ser inferidos pelo aparente maior volume citoplasmático e nuclear das células até os cinco dias após a alimentação, assim como das mitocôndrias apicais até o terceiro dia pós-alimentação, o que pode estar relacionado a maior quantidade de alimento no lúmen e conseqüente maior nível de absorção e digestão de nutrientes. Análises morfométricas das células do intestino médio de *R. prolixus* sugerem picos de atividade celular por volta do sexto dia após alimentação (BILLINGSLEY, 1988).



A hemoglobina é a proteína de maior abundância no sangue de vertebrados, e sua degradação no intestino médio dos insetos libera altas quantidades de ferro e heme, grupo prostético da hemoglobina que possui um átomo de ferro ligado (GRAÇA-SOUZA *et al.*, 2006). Heme é uma molécula tóxica devido a sua capacidade de gerar espécies reativas de oxigênio e promover danos oxidativos a proteínas, lipídios e DNA. Além disso, em função de sua natureza lipofílica, tem a capacidade de alterar a integridade e a seletividade das membranas celulares (GRAÇA-SOUZA *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2006). Da mesma forma, os íons de ferro podem gerar radicais livres (GRAÇA-SOUZA *et al.*, 2006). Insetos hematófagos desenvolveram mecanismos para neutralizar os efeitos danosos dessas moléculas (OLIVEIRA *et al.*, 2000; LOCKE, 2003; GRAÇA-SOUZA *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2006).

*Plasmodium falciparum*, parasita causador da malária, digere hemoglobina e detoxifica o heme liberado por meio do seqüestro dessa molécula em pigmentos eletrondensos insolúveis conhecidos como hemozina (PAGOLA *et al.*, 2000). A formação de agregados de heme na forma de cristais de hemozina, sob ação enzimática, foi observado no lúmen do intestino médio dos triatomíneos *R. prolixus*, *T. infestans*, *Dipetalogaster maximus* e *Panstrongylus megistus*, aparecendo como um importante mecanismo de proteção contra os efeitos dessa molécula (OLIVEIRA *et al.*, 2000, 2007). Em *C. hemipterus*, cristais eletrondensos foram observados nas três regiões do intestino médio, tanto no lúmen quanto em vacúolos intracelulares, sugerindo serem mecanismos de desintoxicação de heme. Além desses cristais, as células do intestino médio de *C. hemipterus* apresentaram agregados de aspecto granular de alta eletrondensidade e envoltos por membrana, semelhante a estruturas observadas no intestino médio de *R. prolixus*, responsáveis pela desintoxicação de heme e ferro (SILVA *et al.*,

2006). De acordo com esses autores, o heme presente nos hemoxissomos pode vir do conjunto de heme que não foi seqüestrado em cristais de hemozina e atravessou as células epiteliais do intestino médio. Os grânulos elétron-densos, juntamente com lisossomos e esferocristais, podem ser os responsáveis pelos grânulos pigmentados observados nas células do IMP de *C. hemipterus*.

A estrutura do intestino médio não pode ser atribuída à dieta, mas a adaptações adquiridas por ancestrais (RIBEIRO *et al.*, 1990). Hemípteros hematófagos e predadores evoluíram a partir de hemípteros sugadores de seiva, readquirindo a capacidade de digerir polímeros (TERRA *et al.*, 2006). A semelhança entre a ultra-estrutura do intestino médio de *B. tabidus* e *R. prolixus* (FIALHO, 2007) e do intestino médio de *C. hemipterus*, *R. prolixus* (BILLINGSLEY, 1988, 1990; BILLINGSLEY & DOWNE, 1985, 1989), *T. infestans* (BURGOS & GUTIERREZ, 1976) e *B. tabidus* (Fialho, 2007) sugerem origem ancestral comum, reforçando esta teoria.

*Cimex hemipterus* é um inseto que apresenta longos intervalos entre períodos de alimentação, em função da dependência da disponibilidade de hospedeiro (USINGER, 1966; FORATTINI, 1990). O armazenamento de nutrientes como íons, lipídios e carboidratos observado no IMA pode estar relacionado a um estoque de energia para os períodos entre uma alimentação e outra. Em *R. prolixus*, os acúmulos de lipídios no IMA podem ser importantes fontes de energia nos períodos de jejum (BILLINGSLEY & DOWNE, 1989). Além disso, a pouca variação estrutural apresentada pelas células do intestino médio de *C. hemipterus* durante os períodos de alimentação analisados pode estar relacionada a um processo digestivo de longa duração.

## CONCLUSÃO

As características ultra-estruturais das células principais das três regiões do intestino médio de *Cimex hemipterus* sugerem diferenças funcionais entre elas.

As estruturas observadas nas células do IMA de *C. hemipterus* mostram que essa região está envolvida na absorção de água, regulação iônica, absorção e metabolismo de lipídios e carboidratos e armazenamento de nutrientes, não participando dos processos de secreção de enzimas digestivas e digestão intracelular de proteínas do sangue.

O IMM é ativo na digestão extracelular e intracelular de proteínas do sangue, com participação limitada no metabolismo e armazenamento de lipídios.

O IMP também participa da digestão de proteínas, além de absorção de íons e água.

As células das três regiões são ativas na desintoxicação do heme e ferro liberado pela digestão do sangue.

A similaridade estrutural do intestino médio de *C. hemipterus* com a de outros hemípteros hematófagos sugere que o seu hábito alimentar tem origem ancestral comum.

## REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE-CUNHA, J.M.; MELLO, C.B.; GARCIA, E.S.; AZAMBUJA, P.; DE SOUZA, W.; GONZALEZ, M.S.; NOGUEIRA, N.F.S. Effect of blood components, abdominal distension, and ecdysone therapy on the ultrastructural organization of posterior midgut epithelial cells and perimicrovillar membranes in *Rhodnius prolixus*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99(8), p. 815-822. 2004.

AMATO NETO, V.; LOPES, M.H.; UMEZAWA, E.S.; RUOCCO, R.M.S.A.; DIAS, J.C.P. Outras formas de transmissão do *Trypanosoma cruzi*. **Revista de Patologia Tropical**. v. 29(Supl.), p. 115-129. 2000.

ANDRADE-COELHO, C.A.; SANTOS-MALLET, J.; SOUZA, N.A.; LINS, U.; MEIRELLES, M.N.L.; RANGEL, E.F. Ultrastructural features of the midgut epithelium of females *Lutzomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96(8), p. 1141-1151. 2001.

AZAMBUJA, P.; RATCLIFFE, N.A.; GARCIA, E.S. Towards an understanding of the interactions of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* within the reduviid insect host *Rhodnius prolixus*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 77(3): 397-404. 2005.

BARRETT, F.M. Absorption of fluid from the anterior midgut of *Rhodnius prolixus*. **Journal of Insect Physiology**, v. 28, p. 335-341. 1982.

BILLINGSLEY, P.F. Morphometric analysis of *Rhodnius prolixus* Stal (Hemiptera: Reduviidae) midgut cells during blood digestion. **Tissue & Cell**, v. 20, p. 291-301. 1988.

BILLINGSLEY, P.F. The midgut ultrastructure of hematophagous insects. **Annual Review of Entomology**, v. 35, p. 219-248. 1990.

BILLINGSLEY, P.F.; DOWNE, A.E.R. Cellular localization of aminopeptidase in the midgut of *Rhodnius prolixus* Stal (Hemiptera: Reduviidae) during blood digestion. **Cell Tissue Research**, v. 241, p. 421-428. 1985.

BILLINGSLEY, P.F.; DOWNE, A.E.R. Changes in the anterior midgut cells of adult female *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae) after feeding. **Journal of Medical Entomology**, v. 26(2), p. 104-108. 1989.

BILLINGSLEY, P.F.; LEHANE, M.J. Structure and ultrastructure of the insect midgut. In: LEHANE, M.J.; BILLINGSLEY, P.F. **Biology of the Insect Midgut**. London: Chapman & Hall, p. 3-30. 1996.

BROWN, R.P. Ultrastructure and function of midgut epithelium in the tsetse *Glossina morsitans* Westw. (Diptera: Glossinidae). **Journal of Entomological Society of South Africa**, v. 43(2), p. 195-214. 1980.

BURGOS, M.H.; GUTIÉRREZ, L.S. The intestine of *Triatoma infestans*. I. Citology of the midgut. **Journal of Ultrastructure Research**, v. 57, p. 1-9. 1976.

BURTON, G.J. Bedbugs in relation to transmission of human diseases. **Public Health Reports**, v. 78, p. 513-524. 1963.

CACCIA, S.; CASARTELLI, M.; GRIMALDI, A.; LOSA, E.; EGUILEOR, M. DE; PENNACCHIO, F.; GIORDANA, B. Unexpected similarity of intestinal sugar absorption by SGLT1 and apical GLUT2 in an insect (*Aphidius ervi*, Hymenoptera) and mammals. **American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 292, p. 2284-2291. 2007.

CANAVOSO, L.E.; FREDE, S.; RUBIOLO, E.R. Metabolic pathways for dietary lipids in the midgut of hematophagous *Panstrongylus megistus* (Hemiptera: Reduviidae). **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 34, p. 845–854. 2004

CARRERA, M., 1991. **Insetos de interesse médico e veterinário**. Curitiba: Ed. da UFPR, 228 pp.

CAVALCANTE, V.M.; CRUZ-LANDIM, C. Types of cells present in the midgut of the insects: a review. **Naturalia**, v. 24, p. 19-40. 1999.

CHAPMAN, R.F. **The insects: structure and function**. 4<sup>a</sup> ed., Cambridge University Press, 770p. 1998.

COOK, L.F. Hepatitis B and AIDS in Africa. **The Medical Journal of Australia**, v. 142, p. 661. 1985.

CRISTOFOLETTI, P.T.; RIBEIRO, A.F.; DERAISON, C.; RAHBÉ, Y.; TERRA, W.R. Midgut adaptation and digestive enzyme distribution in a phloem feeding insect, the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*. **Journal of Insect Physiology**, v. 49, p. 11-24. 2003.

CRUZ-LANDIM, C.; CAVALCANTE, V.M. Ultrastructural and cytochemical aspects of metamorphosis in the midgut of *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae: Apinae). **Zoological Science**, v. 20, p. 1099-1107. 2003.

CRUZ-LANDIM, C.; SERRÃO, J.E. Ultrastructure and histochemistry of the mineral concretions in the midgut of bees (Hymenoptera: Apidae). **Netherlands Journal of Zoology**, v. 47, p. 21-29. 1997.

CRUZ-LANDIM, C.; SERRÃO, J.E.; MORAES, R.L.M.S. On the ultrastructure of the striated border of midgut digestive cell of *Apis mellifera* and *Melipona quadrifasciata anthidioides* (Hymenoptera, Apidae). **Iheringia, Série Zoologia**, v. 82, p. 127-132. 1997.

DOW, J.A.T. Localization and characterization of water uptake from the midgut of the locust, *Schistocerca gregaria*. **Journal of Experimental Biology**, v. 93, p. 269-281. 1981.

EADS, R.B.; FRANCY, D.B.; SMITH, G.C. The swallow bug, *Oeciacus vicarius* Horvath (Hemiptera: Cimicidae), a human household pest. **Proceedings of the Entomological Society of Washington**, v. 82(1), p. 81-85. 1980.

FIALHO, M.C.Q. Ultra-estrutura do intestino médio do predador *Brontocoris tabidus* (Heteroptera: Pentatomidae) após diferentes períodos de alimentação com presa e planta. **Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa**. 2007.

FLETCHER, M.G.; AXTELL, R.C. Susceptibility of the bedbug, *Cimex lectularius*, to selected insecticides and various treated surfaces. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 7, p. 69-72. 1993.

FORATTINI, O.P. Review: The cimicids and their importance in public health (Hemiptera-Heteroptera: Cimicidae). **Revista de Saúde Pública**, v. 24(Supl.), p. 1-37. 1990.

FREITAS, S.L.P.; MUNHOZ, M.; ABDALA, J.J.; MARTINS, S. Inquérito preliminar sobre a moléstia de Chagas no município de Franca, Estado de São Paulo – Brasil. *Rev. Med.*, São Paulo, v. 30, p. 181-187, 1946, apud in FORATTINI, O.P. Review: The cimicids and their importance in public health (Hemiptera-Heteroptera: Cimicidae). **Revista de Saúde Pública**, v. 24(Supl.), p. 1-37. 1990.



GHORBANI, M.; TAHVILBARE\_BIDRUNE, Gh.; NADIN, A. Observation on the natural mechanical transmission of *Leishmania tropica* by bed bugs (*Cimex lectularius*). **Iranian J. P. H.**, v. 1(3), p. 142-145.

GONZALEZ, M.S.; NOGUEIRA, N.F.S.; MELLO, C.B.; DE SOUZA, W.; SCHAUB, G.A.; AZAMBUJA, P.; GARCIA, E.S. Influence of brain and azadirachtin on *Trypanosoma cruzi* development in the vector, *Rhodnius prolixus*. **Experimental Parasitology**, v. 92, p. 100-108. 1999.

GRAÇA-SOUZA, A.V.; MAYA-MONTEIRO, C.; PAIVA-SILVA, G.O.; BRAZ, G.R.C.; PAES, M.C.; SORGINE, M.H.F.; OLIVEIRA, M.F.; OLIVEIRA, P.L. Adaptations against heme toxicity in blood-feeding arthropods. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 36, p. 322-335. 2006.

GUEDES, B.A.M.; ZANUNCIO, J.C.; RAMALHO, F.S.; SERRÃO, J.E. Midgut morphology and enzymes of the obligate zoophytophagous stinkbug *Brontocoris tabidus* (Signoret, 1963) (Heteroptera: Pentatomidae). **The Pan-Pacific Entomologist**, v. 83, p. 229-235. 2007.

GUNAWARDENA, K. A note on the susceptibility of the tropical bed bug *Cimex hemipterus* to *Wuchereria bancrofti* in Ceylon. **Journal of Medical Entomology**, v. 9(4), p. 300. 1972.

HWANG, S.W.; SVOBODA, T.J.; DE JONG, I.J.; KABASELE, K.J.; GOGOSIS, E. Bed bug infestations in an urban environment. **Emerging Infectious Diseases**, v. 11(4), p. 533-538. 2005.

JARIAL, M.S. Electron microscopy study of the anterior midgut in *Cenocorixa bifida* Hung. (Hemiptera: Corixidae) with reference to its secretory function. **Zoological Science**, v. 22, p. 783-790. 2006.

JONES, S.C. Bed bugs. **The Ohio State University Extension Fact Sheet**. HYG-2105-04. 2004.

JORG, M.E. *Cimex lectularius*, L. (la chinche comum de cama) transmissor de *Trypanosoma cruzi*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 25(4), p. 277-278. 1992.

JORG, M.E.; NGUMO-NATULA, O. *Cimex lectularius*, L. (la chinche comum de cama) transmissor de *Trypanosoma cruzi*. **Prensa Médica Argentina**, v. 69(13), p. 528-533. 1982.

JUPP, P.G.; McELLIGOTT, S.E. Transmission experiments with hepatitis B surface antigen and the common bedbug (*Cimex lectularius* L). **South African Medical Journal**, v. 56, p. 54-57. 1979.

JUPP, P.G. ; McELIGOTT, S.E.; LECATSAS, G. The mechanical transmission of hepatitis B virus by the common bedbug (*Cimex lectularius* L.) in South Africa. **South African Medical Journal**, v. 63(3), p. 77-81. 1983.

JUPP, P.G.; LYONS, S.F. Experimental assessment of bedbugs (*Cimex lectularius* and *Cimex hemipterus*) and mosquitoes (*Aedes aegypti formosus*) as vectors of human immunodeficiency virus. **AIDS**, v. 1(3), p. 171-174. 1987.

KOLLIEN, A.H.; SCHMIDT, J.; SCHAUB, G.A. Modes of association of *Trypanosoma cruzi* with the intestinal tract of the vector *Triatoma infestans*. **Acta Tropica**, v. 70, p. 127-141. 1998.

LANE, N.J.; HARRISON, J.B. An unusual cell surface modification: a double plasma membrane. **Journal of Cell Science**, v. 39, p. 355-372. 1979

LENT, H. Sobre o hematofagismo da *Cherada apicicornis* e outros artropodos; sua importância na transmissão da doença de Chagas. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 34 (4): 583-606. 1939.

LOCKE, M. Surface membranes, golgi complexes, and vacuolar systems. **Annual Review of Entomology**, v. 48, p. 1-27. 2003.

MARTINS, G.F.; NEVES, C.A.; CAMPOS, L.A.O.; SERRÃO, J.E. The regenerative cells during the metamorphosis in the midgut of bees. **Micron**, v. 37, p. 161-168. 2006.

MASETTI, M.; BRUSCHI, F. Bedbug infestations recorded in Central Italy. **Parasitology International**, v. 56, p. 81-83. 2007.

MYAMBA, J.; MAXWELL, C.A.; ASIDI, A.; CURTIS, C.F. Pyrethroid resistance in tropical bedbugs, *Cimex hemipterus*, associated with use of treated bednets. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 16, p. 448-451. 2002.

NAGEM, R.L. Ocorrência de *Cimex lectularius* L., 1758 (Hemiptera, Cimicidae) em algumas habitações humanas de Belo Horizonte e municípios vizinhos. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 29(2), p. 217-220. 1985.

NEGROMONTE, M.R.S.; LINARDI, P.M.; NAGEM, R.L. *Cimex lectularius* L., 1758 (Hemiptera, Cimicidae): sensitivity to commercial insecticides in labs. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 86, p. 491-492. 1991.

NEVES, C.A.; BHERING, C.L.; SERRÃO, J.E.; GITIRANA, L.B. FMRamide-like midgut endocrine cells during the metamorphosis in *Melipona quadrifasciata anthidioides* (Hymenoptera: Apidae). **Micron**, v. 33, p. 453-460. 2002.

NEVES, C.A.; GITIRANA L.B.; SERRÃO J.E. Ultrastructure of the midgut endocrine cells in *Melipona quadrifasciata anthidioides* (Hymenoptera, Apidae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 63, p. 683-690. 2003.

OGSTON, C.W.; WITTENSTEIN, F.S.; LONDON, W.T.; MILLMAN, I. Persistence of hepatitis B surface antigen in the bedbug *Cimex hemipterus* Fabr. **Journal of Infectious Diseases**, v. 140(3), p. 411-414. 1979.

OKUDA, K.; SOUZA CAROCI, A.; RIBOLLA, P.E.M.; BIANCHI, A.G.; BIJOVSKY, A.T. Functional morphology of adult female *Culex quinquefasciatus* midgut during blood digestion. **Tissue & Cell**, v. 34(3), p. 210-219. 2002.

OLIVEIRA, M.A., DE SOUZA, W. An electron microscopic study of penetration by *Trypanosoma rangeli* into midgut cells of *Rhodnius prolixus*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 77, p. 22-26. 2001.

OLIVEIRA, M.F., SILVA, J.R., DANSA-PETRETSKI, M., DE SOUZA, W., BRAGA, C.M.S., MASUDA, H., OLIVEIRA, P.L., 2000. Haemozoin formation in the midgut of the blood-sucking insect *Rhodnius prolixus*. **Feder of European Biochemical Societies Letters**, v. 477, p. 95-98. 2000.

OLIVEIRA, M.F.; GANDARA, A.C.P; BRAGA, C.M.S.; SILVA, J.R.; MURY, F.B.; DANSA-PETRETSKI, M.; MENEZES, D.; VANNIER-SANTOS, M.A.; OLIVEIRA, P.L. Heme crystallization in the midgut of triatomine insects. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part C: Toxicology and Pharmacology**, v. 146, p. 168-174. 2007.

PAGOLA, S.; STEPHENS, P.W.; BOHLE, D.S.; KOSAR, A.D.; MADSEN, S.K. The structure of malaria pigment beta-haematin. **Nature**, v. 404, p. 307-310. 2000.

PIPKIN, A.C. Transmission of *Trypanosoma cruzi* by arthropod vectors: anterior versus posterior route infection. **International review of tropical medicine**, v. 3, p. 1-47. 1969.

REINHARDT, K.; SIVA-JOTHY, M.T. Biology of the bed bugs (Cimicidae). **Annual Review of Entomology**, v. 52, p. 351-74. 2007.

REYNOLDS, E.S. The use of lead citrate at high pM as an electron-opaque stain in electron microscopy. **Journal of Cell Biology**, v. 17, p. 208-212. 1963.

RIBEIRO, A.F.; FERREIRA, C.; TERRA, W.R. Morphological basis of the insect digestion. **Comparative Physiology**, v. 5, p. 96-105. 1990.

RIMOLDI, O.J.; PELUFFO, R.O.; GONZALES, S.M.; BRENNER, R.R. Lipid digestion, absorption and transport in *Triatoma infestans*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 82, p. 187-190. 1985.

RYCKMAN, R.E.; BENTLEY, D.G.; ARCHBOLD, E.F. The cimicidae of the Americas and oceanic islands, a checklist and bibliography. **Bulletin of the Society for Vector Ecology**, v. 6, p. 93-142. 1981.

SEHNAL, F.; ZITNAN, D. Midgut endocrine cells. In: LEHANE, M.J.; BILLINGSLEY, P.F. **Biology of the Insect Midgut**. London: Chapman & Hall, p. 55-85. 1996.

SERRÃO, J.E.; CRUZ-LANDIM, C. A comparative study of digestive cells in different midgut regions of stingless bees (Hymenoptera: Apidae: Meliponinae). **Journal of Advanced Zoology**, v. 17, p. 1-6. 1996.

SILVA, C.P.R.; RIBEIRO, A.F.; GULBENKIAN, S.; TERRA, W.R. Organization, origin and function of the outer microvillar (perimicrovillar) membranes of *Dysdercus peruvianus* (Hemiptera) midgut cells. **Journal of Insect Physiology**, v. 41, p. 1093-1103. 1995.

SILVA, C.P.R.; SILVA, J.R.; VASCONCELOS, F.F.; PETRETSKI, D.A.; DAMATTA, R.R.; RIBEIRO, A.F.; TERRA, W.R. Occurrence of midgut perimicrovillar membranes in paraneopteran insect orders with comments on their function and evolutionary significance. **Arthropod Structure and Development**, v. 33, p. 139-148. 2004.

SILVA, J.R.; GOMES-SILVA, L.; LINS, U.C.; NOGUEIRA, N.F.S.; DANSA-PETRETSKIA, M. The haemoxisome: A haem-iron containing structure in the *Rhodnius prolixus* midgut cells. **Journal of Insect Physiology**, v. 52, p. 542-550. 2006.

STORINO, R.; JÖRG, M.E. Vías de infección y aspectos clínicos. In STORINO, R.; MILEI, J. **Enfermedad de Chagas**. Buenos Aires: Bayma, p. 185-208. 1994.

TER POORTEN, M.C.; PROSE, N.S. The return of the common bedbug. **Pediatric Dermatology**, v. 22(3), p. 183-187. 2005.

TERRA, W.R. Physiology and biochemistry of insect digestion: an evolutionary perspective. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 21, p. 675-734. 1988.

TERRA, W.R.; COSTA, R.H.; FERREIRA, C. Plasma membranes from insect midgut cells. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 78, p. 255-269. 2006.

THOMAS, I.; KIHICZAK, G.G.; SCHWARTZ, R.A. Bedbug bites: a review. **International Journal of Dermatology**, v. 43, p. 430-433. 2004.

TONN, R.J.; NELSON, M.; ESPINOLA, H.; CARDOZO, J.V. Notes on *Cimex hemipterus* and *Rhodnius prolixus* from an area of Venezuela endemic for Chagas disease. **Bulletin of the Society for Vector Ecology**, v. 7, p. 49-50. 1982.

TURUNEN, S.; CRAILSHEIM, K. Lipid and sugar absorption. In: LEHANE, M.J.; BILLINGSLEY, P.F. **Biology of the Insect Midgut**. London: Chapman & Hall, p. 293-322. 1996.



USINGER, R.L. Monograph of Cimicidae (Hemiptera, Heteroptera). College Park, Md., **Entomological Society of America**, v. 7, 583p. 1966.

VALENZUELA, J.G.; CHUFFE, O.M.; RIBEIRO, J.M.C. Apyrase salivary and anti-platelet activities from the glands of the bed bug *Cimex lectularius*. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 21(6), p. 557-562. 1996.

VALL MAYANS, M.; HALL, A.J.; INSKIP, H.M.; UNDSAY, S.W.; CHOTARD, J.; MENDY, M.; WHITTLE, H.C. Do bedbugs transmit hepatitis B? **The Lancet**, v.343, p. 761-763. 1994.

WATTAL, B.L; KALRA, N.L. New methods for the maintenance of a laboratory colony of bed-bug, *Cimex hemipterus* Fabricius, with observations on its biology. **Indian Journal of Malariology**, v. 15(2), p. 157-171. 1961.

WEBB, P.A.; HAPP, C.M.; MAUPIN, G.O.; JOHNSON, B.J.; CY, O.; MONATH, T.P. Potential for insect transmission of HIV: experimental exposure of *Cimex hemipterus* and *Toxorhynchites amboinensis* to human immunodeficiency virus. **Journal of Infectious Diseases**, v. 160(6), p 970-977. 1989.