

# BIOQUÍMICA DO TECIDO ÓSSEO<sup>1</sup>

## 1. Introdução

As primeiras formas de vida desenvolveram-se nos mares, onde eram elevadas as concentrações de potássio e magnésio, e baixas as de sódio e cálcio. Essa composição iônica é observada até hoje no meio intracelular da maioria dos seres vivos, refletindo provavelmente uma herança daquelas formas primitivas de vida. A passagem da vida do meio aquático para o terrestre criou uma dependência desses seres com relação aos minerais do meio ambiente. A regulação dessa dependência passou a se fazer através de órgãos como o intestino, os rins e o osso, bem como de hormônios, como o paratormônio (PTH) e a vitamina D [1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>].

O osso é um tecido multifuncional, metabolicamente muito ativo, constituído por uma população heterogênea de células, em diferentes estágios de diferenciação celular. Está em equilíbrio dinâmico, com regulação da mobilização e deposição mineral, durante a vida do animal. É um tecido metabolicamente que sofre um processo contínuo de renovação e remodelação. Esta atividade é consequência, em sua maior parte, da atividade de dois tipos celulares principais, característicos do tecido ósseo: os osteoblastos e os osteoclastos. Um terceiro tipo celular, os osteócitos, derivados dos osteoblastos, são metabolicamente menos ativos, e sua função menos conhecida. O processo de remodelação óssea desenvolve-se com base em dois processos antagônicos, mas acoplados: a formação e a reabsorção ósseas. O acoplamento dos dois processos permite a renovação e remodelação ósseas e é mantido a longo prazo por um complexo sistema de controle que inclui hormônios, fatores físicos e fatores humorais locais. Uma série de condições como idade, doenças ósteo-metabólicas, mobilidade diminuída, ação de algumas drogas, etc., podem alterar este equilíbrio entre formação e reabsorção, levando ao predomínio de um sobre o outro. Nutrientes presentes em menores quantidades nas dietas, os minerais são fundamentais para o funcionamento das rotas metabólicas. A interação entre estas classes de nutrientes é perfeita e a disponibilidade destes nutrientes determina o melhor desempenho dos animais. Os minerais apresentam uma função estrutural (ex. cálcio e fósforo) e/ou metabólica. No presente trabalho serão

---

<sup>1</sup> Seminário apresentado pelo aluno JOÃO DIONÍSIO HENN na disciplina BIOQUÍMICA DO TECIDO ANIMAL, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, no primeiro semestre de 2010. Professor responsável pela disciplina: Félix H. D. González.

abordados aspectos da estrutura óssea, sua dinâmica de regulação para a manutenção da homeostase animal, mediante os processos de formação e de mobilização de minerais no esqueleto.

## **2. Papel metabólico do tecido ósseo**

O esqueleto contém 99% do Ca do organismo e funciona como uma reserva desse íon, cuja concentração no sangue (calcemia) deve ser mantida constante, para o funcionamento normal do organismo.

Há um intercâmbio contínuo entre o Ca do plasma sanguíneo e o dos ossos. O Ca absorvido da alimentação e que faria aumentar a concentração sanguínea deste íon é depositado rapidamente no tecido ósseo, e, inversamente, o Ca dos ossos é mobilizado quando diminui sua concentração no sangue.

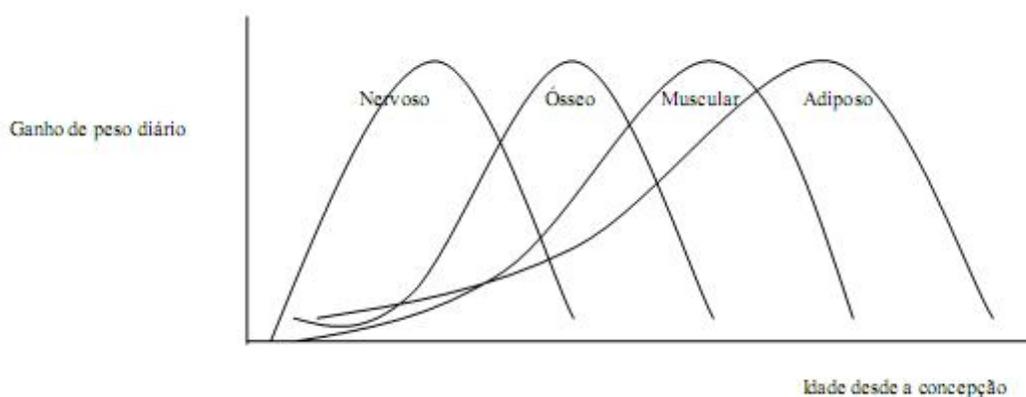
Existem dois mecanismos de mobilização do Ca depositado nos ossos. O primeiro é a simples transferência dos íons dos cristais de hidroxiapatita para o líquido intersticial, do qual o cálcio passa para o sangue. Esse mecanismo, puramente físico, é favorecido pela grande superfície dos cristais de hidroxiapatita e tem lugar principalmente no osso esponjoso. As lamelas ósseas mais jovens, pouco calcificadas, que existem mesmo no osso adulto, devido à remodelação contínua, são as que recebem e cedem o  $\text{Ca}^{++}$ , com maior facilidade. Essas lamelas são mais importantes na manutenção da calcemia do que as lamelas antigas, muito calcificadas e cujos papéis principais são de suporte e proteção.

O segundo mecanismo da mobilização do Ca é de ação mais lenta e decorre da ação do hormônio da paratireóide, ou paratormônio, sobre o tecido ósseo. Este hormônio causa um aumento no número de osteoclastos e reabsorção da matriz óssea, com liberação de fosfato de Ca e aumento da calcemia. A concentração de  $(\text{PO}_4)^{3-}$  não aumenta no sangue, porque o próprio paratormônio acelera a excreção renal dos íons fosfato. O paratormônio atua sobre receptores localizados nos osteoblastos. Em resposta a esse sinal, os osteoblastos deixam de sintetizar colágeno e iniciam a secreção do fator estimulador de osteoclastos.

Outro hormônio, a calcitonina, produzido pelas células parafoliculares da tireóide, inibe a reabsorção da matriz e, portanto, a mobilização de Ca. A calcitonina tem um efeito inibidor sobre os osteoclastos.

### 3. Tecido ósseo

O crescimento do animal ocorre de uma maneira de perfeito sincronismo, isto é, o desenvolvimento do tecido ósseo ocorre mais rapidamente do que o tecido muscular que por sua vez, é mais rápido do que o tecido adiposo (Gonzales & Sartori, 2002) (Figura 1).



**Figura 1: Ordem de deposição dos tecidos nos animais (Gonzales & Sartori, 2002)**

O osso está intimamente relacionado com o crescimento do animal, sofrendo adaptações constantes quanto à sua constituição, podendo estar hipertrofiado quando é mais exigido, ou atrofiado quando em desuso. Serve de reserva metabólica de cálcio e fósforo no organismo, os quais podem ser mobilizados durante alterações da homeostase (Macari et al. 2002). O osso é um tecido dinâmico, complexo, influenciado por fatores fisiológicos, nutricionais e físicos, como estresse mecânico e atividades físicas. Para atender às necessidades de crescimento do organismo os ossos sofrem processo de modelagem, que representa o alongamento longitudinal e do diâmetro. Segundo Macari et al. (1994), há uma variação individual e específica do crescimento de cada osso cujo controle se dá sobre a físe, isto é, cada cartilagem de conjugação tem uma taxa específica de crescimento, em que o controle é geralmente hereditário.

A remodelagem é o termo usado para descrever processos de reabsorção e formação de tecido mineralizado que mantém a massa e a morfologia. A manutenção de concentrações adequadas de cálcio no sangue é prioritária sobre a manutenção da integridade estrutural do osso (Johnson, 2000).

### 3.1 Matriz extracelular

A matriz extracelular é composta por colágeno em sua maior parte e pela substância fundamental. O colágeno é encontrado em todos os tecidos do corpo, sendo uma proteína fibrosa sintetizada por fibroblastos e células relacionadas, tais como os condroblastos da cartilagem e os osteoblastos do osso. A formação de fibrilas de colágeno envolve reações no meio intracelular e extracelular. No interior da célula, ocorre síntese de moléculas de protocólagenos, hidroxilação de resíduos de prolina e lisina e glicosilação dos resíduos de hidroxilisina, para formar monômeros de pró-colágeno, sendo secretado para o exterior da célula, na forma de tríplice hélice de configuração helicoidal. De acordo com Swenson (1988) há no interior da célula uma hidrólise proteolítica limitada do pró-colágeno, para formar o tropocolágeno, sendo necessária a presença de vitamina C para que ocorra a hidroxilação. Estão identificados 19 tipos de colágenos que possuem diferentes especificidades entre os diversos tecidos animais, classificados em função de suas funções e tamanhos. Na cartilagem há predomínio do colágeno fibrilar tipo II, enquanto que o osso é composto por colágeno fibrilar tipo I, podendo os dois tipos ser encontrados em tecidos sujeitos ao estresse de compressão e tensão. Formam uma rede fibrilar na matriz extracelular, estabilizada pela formação de ligações cruzadas intra e intermoleculares, formadas tanto enzimaticamente quanto por condensação de resíduos de aminoácidos. Tais ligações cruzadas são as principais responsáveis pela estabilização da molécula e das fibras de colágeno e pela modulação das propriedades de resistência à tração conferida ao osso pelo colágeno, conferindo força ao tecido para suportar tais pressões. Todos os tipos de colágeno são caracterizados por tripla hélice de cadeias  $\alpha$  contendo de 300 a 3.000 resíduos de aminoácidos. Estas cadeias contêm sequências repetidas de glicina – x – y, onde x e y representam qualquer aminoácido. Segundo Velleman (2000), frequentemente ocorre um grande número de resíduos de prolina e hidroxiprolina.

O osso é constituído aproximadamente por 70% de minerais, 20% de matriz orgânica e cerca de 10% de água, o que o diferencia de outros tecidos conjuntivos menos rígidos (Rath et al. 2000). A matriz mineral ou inorgânica é formada predominantemente por Ca e P, na forma de cristais de hidroxiapatita,  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ , constituindo aproximadamente 60 a 70% do peso do osso e sendo responsável pelas propriedades de rigidez e resistência à compressão. Outros minerais também são encontrados, como 13% de carbonato de Ca ( $\text{CaCO}_3$ ), e 2% de fosfato de magnésio,  $\text{Mg}(\text{PO}_4)_2$  (Field, 2000). Estes constituintes minerais do osso são constantemente trocados com os constituintes do plasma. Já a desmineralização do osso ocorre quando a ingestão de minerais é

inadequada, ou quando sua perda é excessiva (exemplo: período de formação da casca do ovo, nas aves). A ossificação envolve a precipitação dos sais do osso na matriz, por meio de um equilíbrio físico-químico, envolvendo o  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ . Nas condições fisiológicas, o Ca e o fosfato ficam em solução metaestável, isto é, suas concentrações no líquido extracelular seriam suficientemente altas para que se precipitassem em solução, não fosse pela presença de outros constituintes, como o pirofosfato, que estabiliza a solução (Tardin, 1995).

A substância fundamental fica dispersa entre as fibras de colágeno do tecido, contínua ao líquido intersticial e apresenta vários graus de condensação, sendo conhecida como componente amorfo extracelular e interfibrilar de todo tecido conjuntivo. De acordo com Swenson (1988), consistem em polissacarídeos protéicos (sulfato de condroitina), glicoproteínas, proteína não estrutural, eletrólitos e água. Os proteoglicanos são macromoléculas compostas por uma proteína central com carboidratos ligados covalentemente a ela (Velleman, 2000). São carregadas negativamente, amorfas, sulfatadas e se caracterizam por formar géis capazes de reter grandes quantidades de água em suas matrizes (De Robertis, 2003), sendo de fundamental importância na formação, estrutura e função biológica da cartilagem.

As proteínas não colagenosas contribuem para uma variedade de funções no osso, como a estabilização da matriz, calcificação e outras atividades regulatórias do metabolismo (Rath et al, 2000). Algumas dessas proteínas não colagenosas (PNC) são proteínas plasmáticas que foram sequestradas pela matriz mineral e outras são proteínas específicas do osso, sintetizadas por células ósseas. As PNC mais abundantes do osso são a osteonectina e a osteocalcina (Gla proteína). A osteocalcina é uma proteína específica do osso, representando até 20% do total da PNC. Ela contém três resíduos de  $\gamma$ -carboxiglutamato, que é um aminoácido resultante de modificações pós-traducionais por uma reação de carboxilação dependente de vitamina K, que confere à molécula uma alta afinidade pelo Ca nos cristais ósseos. Ela é sintetizada exclusivamente por osteoblastos e se liga tanto à hidroxiapatita quanto ao Ca (Raif e Harmand, 1993). Sua síntese é aumentada pela 1,25-diidroxivitamina D e sua concentração é diretamente proporcional à concentração de Ca. A osteocalcina parece estar envolvida no controle do processo de mineralização do osso, prevenindo a mineralização excessiva (Young, 2003).

### **3.2 Células do tecido ósseo**

A população de células que inclui condrócitos, osteoblastos, osteócitos, células endoteliais e células hematopoiéticas, entre outras, produzem diversos hormônios cálcio-tróficos sistêmicos,

como o hormônio da paratireóide (PTH), estrógeno, 1,25(OH)<sub>2</sub> colecalciferol (vitamina D<sub>3</sub>), uma variedade de reguladores biológicos que controlam o metabolismo ósseo local, autócrinos e parácrinos, incluindo citocinas, prostaglandinas (PGs) e fatores de crescimento que atuam em conjunto, regulando as atividades celulares de remodelamento do osso.

### **3.2.1 Osteoblastos**

São células diferenciadas que produzem a matriz óssea, secretando colágeno e a substância fundamental, que constituem o osteóide e situam-se em aposição ao osso em formação. Essas células também participam da calcificação da matriz, através da secreção de pequenas vesículas ricas em fosfatase alcalina para o interior desta, durante o período em que a célula está produzindo a matriz óssea. A fosfatase alcalina cliva o pirofosfato e assim remove sua influencia estabilizadora, ao mesmo tempo em que aumenta o fosfato local para a cristalização. Além disso, durante o crescimento ósseo e talvez durante a remodelagem do osso adulto, os osteoblastos secretam vesículas ricas em Ca para o osteóide em calcificação (Jonhson, 2000). Pela sua solubilização no sangue, o nível sanguíneo da fosfatase alcalina óssea é geralmente usado como indicador da taxa de remoção óssea.

### **3.2.2 Osteoclastos**

São responsáveis pela reabsorção óssea. São células grandes (figura 2), que surgem pela fusão de células mononucleadas e podem ter até 50 núcleos. Acredita-se que os precursores dos osteoblastos se originam na medula óssea e migrem pela circulação, a partir do timo e outros tecidos retículo-endoteliais, para os sítios do osso destinados à reabsorção. Os precursores mononucleados dos osteoclastos são provavelmente atraídos para os sítios de reabsorção óssea por produtos parcialmente degradados do osteóide. A parte do osteoclasto que entra em contato com o osso se apresenta altamente pregueada e é chamada de borda estriada. Esta varre a superfície do osso, continuamente alterando sua configuração, à medida que libera ácidos e enzimas hidrolíticas que dissolvem a matriz protéica e os cristais de minerais. Quando a reabsorção é completada, os osteoclastos são inativados e perdem alguns de seus núcleos. A inativação compreende a fissuração da célula polinucleada gigante, de volta a células mononucleadas (Johnson, 2000).

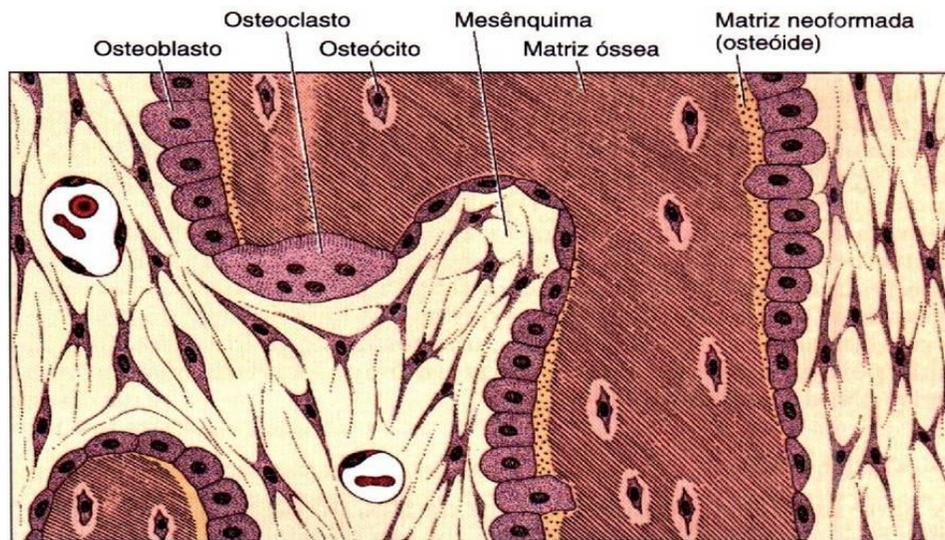


Figura 2: Células da matriz óssea. Fonte: Junqueira & Carneiro, 2004.

### 3.2.3 Células osteoprogenitoras

São consideradas células em repouso ou de reserva que podem ser estimuladas para se transformar em osteoblastos e produzir matriz óssea. Compõe a população celular presente na camada mais interna do periósteo, as células endósteas de revestimento das cavidades medulares e as células de revestimento dos canais de Haves e de Wolkmann (Ross & Rowrell, 1993) (Figura 3).

## Sistema de Havers e osteócito

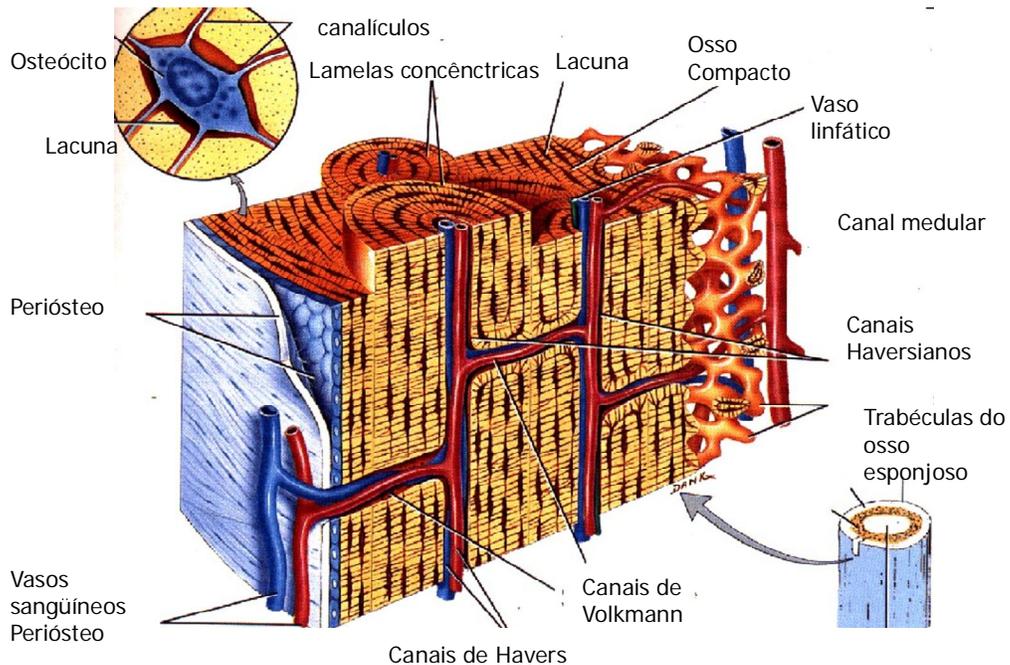


Figura 3: Canais de Haves e de Wolkmann (Ross & Rowrell, 1993).

## 4. Ossificação

Há dois processos básicos de formação de tecido ósseo: a ossificação endocondral e a intramembranosa. O desenvolvimento do osso é classificado como endocondral, no caso de um modelo de cartilagem servir de precursor do tecido ósseo que será formado, ou intramembranosa, se o osso for formado sem a intervenção de um precursor cartilaginosa. Conforme Macari (1994), nos ossos chatos predomina o desenvolvimento por ossificação intramembranosa e os curtos e longos se desenvolvem por processo endocondral.

## **4.1 Ossificação endocondral**

Durante o desenvolvimento fetal, a maior parte do esqueleto desenvolve-se primeiro como um padrão ou modelo cartilágneo, e então a cartilagem deste modelo é gradualmente substituída por osso. Esse processo é denominado de ossificação endocondral.

Os principais eventos fisiológicos da ossificação endocondral podem ocorrer em menos de 24 horas, durante o pico de crescimento dos frangos de corte, sendo estes a proliferação dos condrócitos, calcificação da matriz, invasão vascular, degradação da matriz e formação primária dos ossos. Os condrócitos ativos passam pelos estágios de proliferação, diferenciação e apoptose, antes dos vasos sanguíneos penetrarem nas lacunas remanescentes (Murakami, 2000).

Na sequência de eventos ocorrem proliferação e agregação de células mesenquimais no local do futuro osso, para que ocorra crescimento longitudinal na placa epifisária que liga as regiões da epífise e diáfase dos ossos. Primeiramente as células do pericôndio passam a dar origem a células formadoras de osso, recebendo então a denominação de perióstio. Tendo formado o perióstio, os condrócitos dessa região do modelo cartilaginoso tornam-se hipertróficos e à medida que essas células vão crescendo, sua matriz cartilaginosa circundante vai ficando alongada, formando placas cartilaginosas finas e irregulares entre as células hipertróficas, que começam a sintetizar fosfatase alcalina e, concomitantemente, a matriz cartilaginosa vai sofrendo calcificação. A matriz, quando calcificada, impede a difusão de nutrientes, causando, por fim, a morte dos condrócitos. À medida que os vasos sanguíneos penetram e crescem na cavidade, outras células provenientes do perióstio migram ao longo deles. Algumas dessas células primitivas tornam-se osteoprogenitoras enquanto outras originam a medula óssea. Quando a cartilagem é decomposta, parte dela permanece como espículas irregulares. As células osteoprogenitoras entram em aposição com as espículas da cartilagem calcificada remanescente, transformando-se em osteoblastos e passando a depositar matriz óssea sobre a estrutura espicular (Ross & Rowrell, 1993).

## **4.2 Ossificação intramembranosa**

Neste processo, há um centro de ossificação que é circundado pelos osteoblastos para a deposição de osso. O processo progride deste centro para a periferia do futuro osso, produzindo uma rede de trabéculas ósseas que se espessam e fundem-se formando uma lâmina óssea que é separada dos ossos adjacentes por tecido fibroso persistente. A parte superficial do tecido original

torna-se periosteó; sobre a face profunda deste, camadas sucessivas de osso periosteó são formadas pelos osteoblastos até que o osso atinja sua espessura definitiva. O aumento na circunferência resulta da ossificação do tecido fibroso circunjacente, que continua a crescer até o osso atingir seu tamanho definitivo (Guyton, 1997).

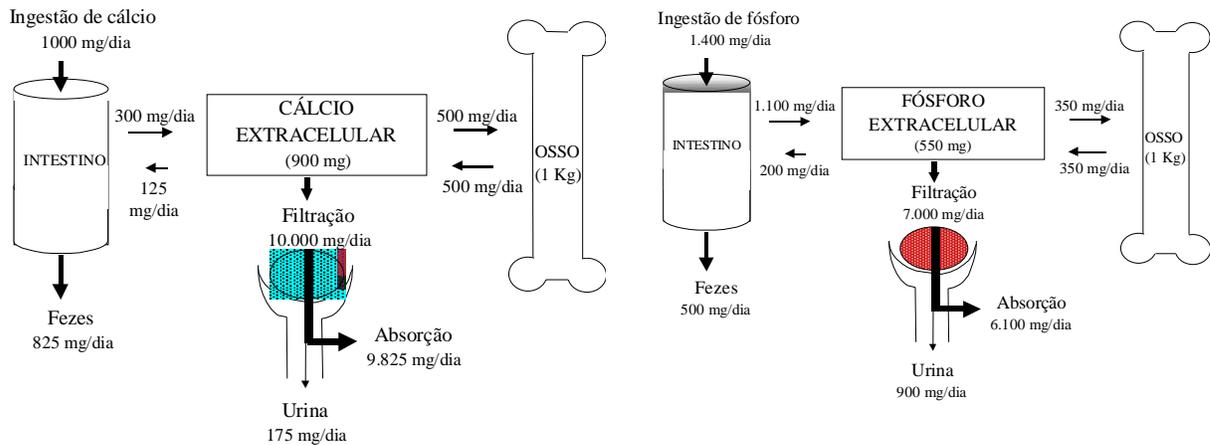
## 5. Balanço de minerais nos animais

O Ca é o 5<sup>o</sup> elemento mais comum no universo, o principal mineral do esqueleto e um dos cátions mais abundantes no organismo, representando cerca de 2% do peso corporal, ou seja, de 1000 a 1500 g no indivíduo adulto. Aproximadamente 99% do Ca corporal encontra-se no esqueleto, principalmente sob a forma de cristais de hidroxiapatita  $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ . O restante (1%) encontra-se nos dentes, tecidos moles e no fluido extracelular. Cerca de 1% do Ca ósseo é livremente intercambiável com o cálcio do fluido extracelular. O Ca é absorvido no intestino delgado e sua concentração plasmática é medida pela ação dos hormônios 1,25-diidrôxicolecalciferol (vitamina D<sub>3</sub>), calcitonina e hormônio da paratireóide (PTH), onde controlam sua absorção, excreção e o metabolismo ósseo (Henry, 1995).

A resistência óssea é dependente dos níveis de cálcio plasmáticos, pois, a homeostase de Ca é fundamental para a manutenção das funções vitais em que participa. Caso não se tenha níveis adequados de Ca, ocorrerá estímulo da secreção de PTH e síntese de vitamina D, que estimularão a reabsorção óssea (Rath et al, 2000).

Embora a porcentagem de cinzas dos ossos varie com a idade, o teor de Ca, que é o seu maior constituinte, se mantém relativamente constante, variando pouco entre espécies e localização anatômica dos ossos (Field, 2000).

O P juntamente com o Ca forma a hidroxiapatita, que é o principal componente da matriz inorgânica do osso. Também participa das funções celulares como componentes de fosfolipídeos da membrana celular, dos ácidos nucléicos, do transporte de energia e da regulação da atividade de varias enzimas (Henry, 1995). A absorção do P ocorre no intestino delgado, principalmente no duodeno. Seus níveis sanguíneos, assim como os do Ca, são controlados pelo PTH, vitamina D e calcitonina e a relação Ca e P da dieta parece ter influência na absorção deste mineral (Macari, 2002).



**Figura 4: Balanços neutros de cálcio e de fósforo de um suíno em crescimento.**

Existe um intercâmbio lento, mas contínuo, de Ca e de P entre o seu principal reservatório, o esqueleto, e o meio extracelular. Além disso, há um balanço constante entre a absorção intestinal de Ca e sua excreção pelos rins. Essas relações estão representadas de forma esquemática, na figura 4.

## 6. Regulação da bioquímica óssea

Para a homeostase do Ca, três hormônios estão envolvidos com grande importância no controle do seu metabolismo: a vitamina D ativa, o paratormônio (PTH) e a calcitonina. As concentrações aproximadas de Ca no sangue variam entre 8,2 mg/dL a 12 mg/dL entre as espécies animais, podendo também ter a mesma variação dentro da espécie. Exceção para a galinha poedeira, que apresenta de 20 a 40 mg/dL.

## 6.1 Vitamina D

A vitamina D foi descoberta em 1919. Em 1932 determinou-se a estrutura química da vitamina D<sub>2</sub> (de origem vegetal) e 4 anos mais tarde a da vitamina D<sub>3</sub> ou calciferol, de origem animal. Em 1971, identificou-se o 25 hidroxicolecalciferol (25OHD<sub>3</sub>) e, em 1976, o 1,25 dihidroxicolecalciferol [1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>], considerado o metabólito ativo da vitamina D, responsável, entre outras funções, pela absorção intestinal de cálcio e fósforo.

A vitamina D na forma de ergocalciferol (D<sub>2</sub>) é encontrada no feno, por exemplo, e o colecalciferol (D<sub>3</sub>) é produzida por tecidos animais. A vitamina D ativa é originada do colecalciferol formado na pele pela ação não enzimática a partir do precursor 7-dehidrocolesterol, através dos raios solares ultravioletas. A partir daí, a vitamina D deve sofrer duas hidroxilações em sequência, sendo uma na posição 25 ocorrida no fígado através da 25-hidrolase e outra na posição 1, nos rins, através da 1- $\alpha$ -hidrolase, sendo que então a vitamina está ativa (Andriguetto et al, 1990; Gonzalez e Silva, 2003). Nos ruminantes, o metabolismo da vitamina D ocorre no rúmen, onde os microorganismos convertem grande quantidade da vitamina D em 10-ceto-19nor-vitamina D.

Segundo Gonzalez e Silva (2003), a luminosidade é imprescindível para a síntese de vitamina D. Portanto, locais onde a radiação solar é reduzida os animais devem receber suplementação via dieta. A vitamina D está relacionada com a absorção de Ca e P na luz intestinal, promovendo a síntese de uma proteína carreadora de Ca. Atua sobre a paratireóide, estimulando a liberação do PTH. Já os rins estimulam a reabsorção de Ca e de P. As baixas concentrações de Ca estimulam a síntese de vitamina D através da ativação da enzima 1- $\alpha$ -hidrolase presente nos rins. Dessa forma, eleva-se a síntese de vitamina D ativa e aumenta a absorção de Ca no lúmen intestinal. A ação sobre os ossos promove a mobilização de Ca e P, pela ativação dos osteoclastos. Nos rins, a ação da 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> é controversa e atua diminuindo a reabsorção tubular de P. No tecido ósseo, uma das funções da 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> é a de induzir a diferenciação dos osteoclastos, que proliferam e aumentam a reabsorção óssea. Sabe-se que os osteoclastos não apresentam receptores para 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>. Sua ação é provavelmente indireta, ativando inicialmente os osteoblastos (células envolvidas na formação óssea), os quais, através de fatores locais, ativam os osteoclastos. A 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> atua também nas glândulas paratireóides através de receptores específicos, diminuindo a secreção de PTH.

Estudos mostram que, se os animais recebem dietas ricas em Ca, mais de 50% do Ca será absorvido por difusão passiva. Entretanto, quando o Ca dietético estiver baixo ou a demanda muito elevada, a absorção ocorrerá por transporte ativo através das células epiteliais. Este processo requer

1,15-(OH)<sub>2</sub> vitamina D. As concentrações de Ca dentro dos enterócitos são cerca de 100 vezes mais baixas do que do lúmen intestinal (mesmo em animais com dieta pobre em Ca). Por isso, a entrada de Ca na célula epitelial ocorre imediatamente a favor de um gradiente de concentração. A 1,15-(OH)<sub>2</sub> vitamina D estimula a síntese da proteína ligadora do Ca, a qual transporta o Ca do lado luminal dos enterócitos para a membrana basolateral. O Ca é extrusado para fora do enterócito, no fluido extracelular, pelas bombas dependentes de cálcio-magnésio ATPase.

## 6.2 Paratormônio

É um hormônio secretado pela glândula paratireóide. Atua no aumento da calcemia, sendo que a secreção do PTH promove a desmineralização óssea, aumentando os níveis de Ca no sangue. Atua sobre os rins diminuindo a excreção de Ca e estimula a síntese de vitamina D ativa. De acordo com McDowel (1992), o metabolismo do PTH é sensível aos níveis de Ca ou alterações na relação Ca:P quando estas ficam reduzidas. Esta relação liberada no sangue é de aproximadamente 1,5:1. Cerca de 50% do Ca sanguíneo está ligado a proteínas, principalmente (70%) à fração albumina, e os 50% restantes encontram-se na forma difusa (ionizada). O principal fator regulador da secreção do PTH pelas paratireóides são os níveis sanguíneos de Ca. A secreção do hormônio varia inversamente com a concentração sérica de Ca.

A relação entre Ca e o PTH é inversa e sigmoideal (Figura 5). Portanto, pequenas alterações de Ca sérico produzem grandes variações na secreção de PTH, especialmente dentro da faixa fisiológica.

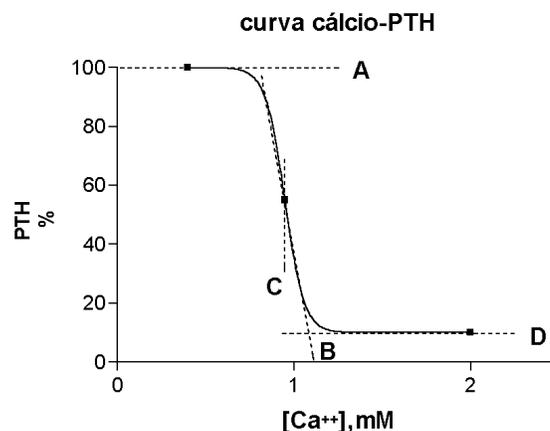


Figura 5. Curva cálcio-PTH. A = PTH máximo; B = “slope”; C = “set point”; D = PTH mínimo.

É esse mecanismo sensível que permite manter constante a concentração plasmática de Ca, mesmo diante de situações que alteram bastante os fluxos de Ca no organismo, tais como flutuações na dieta, alterações no metabolismo ósseo e disfunção renal.

### **6.3 Calcitonina**

A calcitonina é um peptídeo com 32 aminoácidos, descoberta no início dos anos 60. Trata-se de um hormônio sintetizado nas células parafoliculares ou células C da tireóide. Nos peixes, anfíbios, répteis e pássaros a calcitonina é sintetizada pela glândula branquial. Seu principal efeito biológico é o de reduzir os níveis plasmáticos de Ca. A calcitonina atua nos osteoclastos, diminuindo sua atividade e conseqüentemente, a reabsorção óssea. Poucos minutos após sua administração experimental, observa-se que essas células reduzem seu tamanho, e tal fato é acompanhado de um aumento do Ca citosólico e da produção de AMP cíclico. Acredita-se também que esse hormônio inibe a atividade dos osteócitos e estimula os osteoblastos.

A calcitonina é degradada na própria tireóide, no fígado, rins e tecido ósseo. Sua vida média no plasma é curta e a sua principal via de excreção é renal.

## **7. Marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo**

Marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo são empregados na prática há muitas décadas, como a fosfatase alcalina total sérica, a caliúria e a hidroxiprolinúria. A falta de especificidade destes marcadores tradicionais levou seu uso a ser restrito ao estudo de patologias ósseas, onde as alterações são muito marcadas. Avanços recentes no isolamento e caracterização das células e dos componentes extracelulares da matriz óssea resultaram no desenvolvimento de métodos para a medida sérica ou urinária de novos marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo. Podemos definir marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo como substâncias que retratam a formação ou a reabsorção óssea. Como a formação é dependente da ação dos osteoblastos, os marcadores de formação, na realidade, medem produtos decorrentes da ação destas células; da

mesma maneira, os marcadores de reabsorção medem a ação dos osteoclastos, o principal tipo celular envolvido na reabsorção da matriz óssea.

## **8. Dinâmica óssea na galinha poedeira**

O ovo chega ao útero em aproximadamente 6 horas após a ovulação e permanece neste segmento durante 18 a 20 horas. A calcificação ocorre de uma maneira muito lenta. Logo no início da entrada do ovo em formação no útero, ocorre a deposição de água através das membranas para dentro do albúmen. A taxa de deposição de cálcio (formação da casca) atinge um máximo dentro de 14 horas de formação do ovo, reduzindo durante as duas horas finais. A casca dos ovos é composta por carbonato de cálcio, sendo a fonte de bicarbonato obtida pelo trato respiratório. O bicarbonato passa do sistema vascular para a glândula da casca e precipita na forma de sais inorgânicos de cálcio na casca dos ovos. Em torno de 2 a 3% das camadas calcificadas são formadas por matriz orgânica, principalmente de origem protéica (Taylor, 1970). Poros estão presentes para permitirem a difusão de gases (Burley e Vadehra, 1989)

O fornecimento de cálcio necessário para a formação da casca é influenciado de duas formas pela estroídogenese ovariana na galinha. Inicialmente, estrogênios e androgênios estimulam osteoblastos a depositar Ca no osso medular e depois os níveis de Ca no plasma aumentam de 100 para 250 mg/ml devido a um aumento de estrogênio no início da maturidade sexual. Grande parte deste aumento nos níveis circulatórios de Ca, entretanto, está ligada a precursores na gema, uma vez que eles são transportados a partir do fígado. A exigência de Ca pela matriz é muito elevada, particularmente durante o período ativo de formação da casca. O cálcio utilizado para a formação da casca é oriundo diretamente do duodeno e jejuno e indiretamente do osso medular, através de um processo de resorção óssea. A proporção de Ca derivada destas duas fontes varia conforme o período do dia. Durante a noite, quando fontes dietéticas de Ca não estão disponíveis, a ave mobiliza Ca dos ossos, enquanto que durante o dia, a maior parte do Ca é oriundo da dieta. É importante registrar que quanto maior a contribuição do Ca do esqueleto para a formação da casca do ovo, pior é a qualidade da casca (Farmer et al., 1983).

O osso medular passa por períodos de deposição e resorção óssea. A resorção óssea pode ser amenizada ao fornecer partículas de maior granulometria, tal como de ostras, que é digerida mais lentamente durante o período noturno, prolongando o suprimento de Ca diretamente do trato gastrointestinal. Em poedeiras, Zhang e Coon (1997) concluíram que o maior tamanho de

partícula de calcário (> 0,8 mm) com menor solubilidade *in vitro* (30 a 50%) é retida na moela por um maior período de tempo, resultando em um aumento da solubilidade *in vivo* (94%).

O aumento na incidência de ovos de casca fina e de ovos sem casca com a idade é um grande problema na indústria avícola. A ocorrência deste problema é bem documentada, mas poucas respostas existem para explicar as causas. A formação da casca depende da interação de dois sistemas endócrinos que são a  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  e da produção de estrogênio. Uma causa poderia ser a redução na síntese da  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ , que é essencial para o metabolismo normal do Ca e na deposição da casca do ovo. Galinhas que produzem ovos de casca mais espessa apresentam níveis mais elevados de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  do que aves que produzem ovos com casca mais fina. A síntese de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  e a sua ação é regulada pelo estrogênio. Portanto, a redução na produção de estrogênio ao avançar a idade pode resultar em níveis mais baixos de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  e na formação de casca fina.

Na muda forçada, ao retirar Ca da dieta de matrizes durante 4 dias, a ave ainda vai continuar a postura, caso o Ca (na forma de carbonato) ser dado como único nutriente (Garlich e Parkhurst, 1982). Isto sugere que o Ca é o nutriente mais limitante durante a muda forçada induzida pela retirada de ração. O Ca está envolvido com a liberação do LH. Além disso, o Ca é necessário para a produção de progesterona a partir da granulosa (Jonhson, 1990). A retirada de ração atua na redução de Ca extracelular. Uma deficiência relativa de Ca pode explicar a redução na sensibilidade da liberação de LH pela hipófise em aves não arraçadas (Tanabe et al., 1981). O possível mecanismo de ação envolvendo o Ca é através da calmodulina.

## 9. Considerações finais

1. A manutenção de concentrações adequadas de Ca no sangue é prioritária sobre a manutenção da integridade estrutural do osso.

2. O nível de Ca no plasma sanguíneo da maioria das espécies é bastante constante, entre 8 a 12 mg/dL. Nas galinhas poedeiras é de 20 a 40 mg/dL.

3. A absorção de Ca no intestino diminui com a idade. Animais mais velhos sofrem redução na capacidade de mobilizar reservas de Ca quando ocorrem desequilíbrios. São mais suscetíveis à hipocalcemia.

4. A absorção de Ca no intestino também é afetada por outros fatores, como: relação Ca:P nos alimentos (a ideal é entre 1,5 a 2:1); a quantidade de proteína da dieta, uma vez que a deficiência de proteína causa diminuição da absorção de Ca; ingestão excessiva de Mg, que interfere na absorção do Ca, por competição por transportador; dietas deficientes em Mg, que reduzem a disponibilidade de Ca.

5. Nos animais de produção, as repostas às concentrações dos minerais da dieta, podem ser de 3 maneiras: níveis muito baixos podem acarretar em sinais de deficiência; quantidades intermediárias resultam em manutenção da homeostase e podem proporcionar alguma reserva nos tecidos; e, finalmente, níveis muito acima dos requerimentos podem acarretar em sinais de toxicidade, com redução do crescimento. O conhecimento do limite entre esses dois extremos deve ser constantemente observado quando se busca manter equilíbrio fisiológico animal.

6. Hipocalcemia é frequente nas vacas de leite em alta produção e nas galinhas poedeiras. No entanto, a hipercalcemia é rara. Pode ocorrer por intoxicação com vitamina D, neoplasias, hiperparatioidismo e dietas ricas em Ca.

## 10. Bibliografia

- BURLEY, R. W. AND D. V. VADEHRA. 1989. Pages 68-71, 372 in: **The avian egg: Chemistry and Biology**. John Wiley and Sons, New York, NY.
- DE ROBERTIS (Jr.), H.I.B, PONZIO. **Biologia celular e molecular**. 1° Ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, p. 147-148, 2003.
- FIELD, R.A. Ash and calcium as measures of bone in meat and bone mixtures. **Meat Science**, v. 55, n.3, p. 255-264, 2000.
- GARLICH, J. D. AND C. R. PARKHURST. Increased egg production by calcium supplementation during the initial fasting period of a forced molt. **Poultry Science** 61:955-961, 1982.
- GONZÁLEZ, F.H.D.; SILVA, S.C. Introdução à bioquímica clínica veterinária. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006.
- GONZALES, E.; SARTORI, J.S. Crescimento e metabolismo muscular. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal:FUNEP/UNESP, 2002. p.279-298.
- GUYTON, A.C. **Tratado de fisiologia médica**. 11° Ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1014p, 1997.
- HENRY, J.B. **Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais**. 18ª Ed. Brasil: Editora Manole LTDA, 1678 p. 1995.
- JOHNSON, A. L. Steroidogenesis and actions of steroids in the hen ovary. **CRC Crit. Rev. Poultry Biology**. 2:319-346, 1990.
- JOHNSON, L. R. **Fundamentos de fisiologia médica**. 2ª Ed., Ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, p. 502-511, 2000.
- JUNQUEIRA E CARNEIRO. **Histologia Básica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. Décima edição. 488 p.
- LILBURN, M. Skeletal growth of commercial poultry especies. **Poultry Science**, v.73, p.897-903, 1994.
- MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, p. 246, 1994.
- MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, p. 375, 2002.
- McDOWELL, L.R. **Minerals in animal and human nutrition**. San Diego: Academic, 1992. 524 p.
- MURAKAMI, A.E. Balanço eletrolítico da dieta e sua influência sobre o desenvolvimento dos ossos. **IN: Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícola**, p. 33-61, 2000.
- PATTISON, M. Impacts of bone problems on the poultry meat industry. **IN: WHITEHEAD, C.C. (ED). BONE BIOLOGY ON SKELETAL DESORDERS IN POULTRY**, England: Carfax Publishing Company, p.329-338, 1992.
- RATH, N.C.; HUFF, G.R.; HUFF, E.W. BALOG, J.M. Factors regulating bone maturing and strenght in poultry. **Poultry Science**. 79:1024-1032, 2000.
- RAIF, E.M. ; HARMAND, M.F. Molecular interface characterization in human bone matrix. **Biomaterials**, v. 14, n.13, p. 978-984, 1993.
- ROSS, M.H.; ROWRELL, L.J. **Histologia – Texto e Atlas**. 2ª Ed, São Paulo: Média Panamericana, 779 p, 1993.
- SPEEERS, J.W. **Optimizing mineral levels and sources for farm animals**. Pages 259-275 in **Nutrition Management of Food Animals to Enhance and Protect the Enviromment**. E.T. Kornegay, ed. CRC Press, Inc., Boca Taton, FL.1966.

- SWENSON, M.J. (Ed.) **DUKES**. Fisiologia dos animais domésticos. 10ª Ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 799p. 1988.
- TANABE, Y., T. OGAWA AND T. NAKAMURA. The effect of short-term starvation on pituitary and plasma LH, plasma estradiol and progesterone, and on pituitary response to LH-RH in the laying hen (*Gallus domesticus*). **Gen. Comp. Endocrinol.** 43:392-398, 1981.
- TANDIN, A.C. **Visão nutricional dos problemas locomotores em frangos de corte**. Conferência APINCO 1995 de ciência e tecnologia avícolas. Campinas: SP, p. 71-83, 1995.
- VELLEMAN, S.G. The role of the extracellular matrix in skeletal development. **Poultry Science**. V. 79, n.7, p.985-989, 2000.
- YOUNG, M.F. Bone matrix proteins: their function, regulation and relationship to osteoporosis. **Osteoporosis Int**, v.14, n.3, p.35-42, 2003.
- ZHANG, B., AND C. N. COON. The relationship of calcium intake, source, size, solubility in Vitro and in vivo, and gizzard limestone retention in laying hens. **Poultry Science**. 76: 1702-1706, 1997.