

HOMEOSTASE DO CÁLCIO E MARCADORES DO METABOLISMO ÓSSEO NO HIPERTIREOIDISMO FELINO - REVISÃO (*Calcium homeostasis markers of bone metabolism in feline hyperthyroidism - a review*)

CARDOSO, M.J.L.¹; MUNIZ, L.M.R.²; GASPARINI, T.J.³; MELUSSI, M.⁴

¹ Clínica Médica e Semiologia de Pequenos Animais - FFALM –UENP - Bandeirantes – PR.

²Radiologia do Depto de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária - FMVZ - UNESP - Botucatu - SP.

³Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária - FFALM –UENP - Bandeirantes – PR.

⁴Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária - FFALM –UENP - Bandeirantes – PR.

RESUMO - O hipertireoidismo é a endocrinopatia mais freqüente em gatos velhos. É uma doença multissistêmica provocada pelo excesso dos hormônios tireoidianos circulantes. O hipertireoidismo provoca alteração no metabolismo ósseo com predomínio da atividade de reabsorção. A avaliação do metabolismo ósseo pode ser feita através da mensuração dos marcadores do metabolismo ósseo no soro ou na urina e, também, pela densitometria mineral óssea. Os osteoblastos são as células responsáveis pela formação óssea enquanto os osteoclastos são responsáveis pela reabsorção. Em situação fisiológica as atividades osteoblástica e osteoclástica estão em equilíbrio. Os marcadores da formação óssea representam a atividade osteoblástica e os marcadores da reabsorção óssea representam a atividade osteoclástica. Os marcadores do metabolismo ósseo são importantes no diagnóstico e no prognóstico de doenças osteomusculares, bem como no acompanhamento da terapia destas doenças. São necessários estudos da influência do hipertireoidismo felino nos marcadores de formação e de reabsorção do metabolismo ósseo para que se possa compreender o mecanismo fisiopatológico das alterações ósseas.

Palavras-chave: tireóide; tiroxina; osteocalcina; ICTP; gatos.

ABSTRACT - Hyperthyroidism is the most frequent endocrine disease in old-aged cats . It is a illness provoked by the excess of circulating thyroid hormones. Hyperthyroidism causes alteration in bone metabolism with predominance of activity resorption. The evaluation of bone metabolism can be made by measuring serum and urinary markers of bone metabolism or bone mineral densitometry. Osteoblasts are responsible cells for bone formation while the osteoclasts are for resorption. In physiological situation osteoblastic and osteoclastic activities are in balance. Markers of bone formation express the osteoblastic activity and markers of the osseous resorption the osteoclástica activity. Markers of bone turnover are important in the diagnosis and prognostic of muscle-skeletal disease, as well as in the accompaniment of therapy. It is fundamental do carry on studies on the influence of feline hyperthyroidism on markers of bone formation and resorption in bone turnover to comprise pathophysiologic mechanism of bone alterations.

Keywords: thyroid; thyroxine; osteocalcin; ICTP; cats.

INTRODUÇÃO

O hipertireoidismo ou tireotoxicose atualmente é considerada a endocrinopatia mais freqüente dos felinos (MOONEY, 2001). É uma alteração clínica multissistêmica resultante de excessivas concentrações dos hormônios tireoidianos (tiroxina e triiodotironina). Tanto a produção endógena dos hormônios da tireóide, como a instituição da terapia convencional com levotiroxina pode proporcionar o aparecimento de sinais clínicos de tireotoxicose (CARDOSO, 2002).

As radiografias ósseas, a densitometria mineral óssea e histomorfometria revelam o balanço ósseo de algum momento, sendo que a histomorfometria é um procedimento invasivo, pois necessita de biópsia óssea (CHAVASSIEUX *et al.*, 2001). Entretanto, existem vários testes bioquímicos para a mensuração sérica ou urinária de marcadores do metabolismo ósseo em humanos e animais (DELMAS, 2001). A base de todos os testes é a correlação da concentração sérica ou urinária destes marcadores com a atividade metabólica das células que formam o osso

(osteoblastos) e as células que reabsorvem o osso (osteoclastos) (ALLEN, 2003).

Os marcadores do metabolismo podem ser mensurados pelo teste radioimunométrico (IRMA), radioimunoensaio (RIA), ELISA, quimioluminescência, eletroforese e cromatografia líquida de alta performance. Os marcadores séricos de formação óssea são a fosfatase alcalina óssea (FAO), osteocalcina (OC), peptídeo carboxiterminal do procolágeno tipo I (PICP), peptídeo aminoterminal do procolágeno tipo I (PINP). Os marcadores séricos da formação óssea são a fosfatase ácida tartarato resistente (TRAP) e telopeptídeo carboxiterminal do colágeno tipo I (ICTP) (DELMAS, 2001).

O objetivo do presente trabalho é descrever as influências do hipertireoidismo felino na homeostase do cálcio e no metabolismo ósseo, bem como ressaltar a importância da mensuração dos marcadores do metabolismo ósseo no acompanhamento das doenças que alteram o metabolismo ósseo.

REVISÃO DE LITERATURA

Tireóide

A tireóide é uma glândula endócrina primordial para a regulação metabólica. Os hormônios tireoidianos metabolicamente ativos são as iodotironinas: triiodotironina (T3) e tiroxina (T4). A tiroxina é o principal hormônio secretório da tireóide. A T3 juntamente com a triiodotironina reversa (rT3) e outros metabólitos desiodinados também são secretados pela tireóide em cães e gatos (PETERSON, 2004).

O hipertireoidismo (tireotoxicose) é uma alteração clínica multissistêmica resultante de excessivas concentrações dos hormônios tireoidianos (tiroxina e triiodotironina) (PETERSON *et al.*, 2001). Atualmente, o hipertireoidismo é tido como a doença endócrina mais comum em gatos domésticos (MOONEY, 2001). Tanto a produção endógena dos hormônios da tireóide, como a instituição da terapia convencional com levotiroxina pode proporcionar o aparecimento de sintomas clínicos de tireotoxicose (CARDOSO, 2002).

As concentrações séricas da T3 total (TT3), T3 livre (FT3), T4 total (TT4) e T4 livre (FT4) elevadas são os principais indicativos de hipertireoidismo felino, na maioria dos casos (PETERSON *et al.*, 2001). BROUSSARD *et al.* (1995) relataram que aproximadamente 25% dos

gatos com hipertireoidismo tinham a concentração de T3 normais e de T4 elevada, fato que mostra a importância que a T4 tem para o diagnóstico (PETERSON, 2004). A concentração de TT4 dentro do padrão de normalidade para gatos normais pode ocorrer no hipertireoidismo, este achado foi descrito em 3% (PETERSON *et al.*, 1983), em 9% (THODAY e MOONEY, 1992), em 29 % (BROUSSARD *et al.* 1995) e em 33,5% dos casos (PETERSON *et al.*, 2001).

Em um estudo com gatos hipertireóides, a concentração da FT4 estava elevada em 98,5% dos gatos e a TT4 em 91,3%. O inconveniente da mensuração é que 6-12% dos gatos eutiróides possuem a FT4 elevada, portanto o seu uso deve ser empregado com cautela, quando utilizada isoladamente. A mensuração de FT4 foi avaliada em gatos hipertireóides e representa um bom teste diagnóstico, particularmente em gatos com TT4 dentro dos valores de referência. A concentração de FT4 permanece elevada nos pacientes que apresentam hipertireoidismo e doença não tireoidiana concomitante (PETERSON *et al.*, 2001).

Homeostase do Cálcio

As glândulas paratireóides são responsáveis pela secreção de paratormônio (PTH), sob estímulo da concentração do cálcio sérico (BARBER, 2004). O PTH felino é um polipeptídeo contendo 84 aminoácidos. A seqüência de aminoácidos do PTH felino é idêntica a dos caninos e há aproximadamente de 84% de semelhança com o PTH humano. A maior parte desta semelhança está na região aminoterminal (aminoácidos 1-34), a porção ativa do hormônio (TORIBIO *et al.*, 2002).

O PTH juntamente com a calcitonina e o calcitriol (vitamina D ativa) são os responsáveis pela regulação da concentração do cálcio nos líquidos extracelulares. A principal função do PTH é manter a concentração plasmática do cálcio dentro de uma pequena margem de variação, via ação no osso e nos rins. Secundária a esta função o PTH regula a concentração do fósforo no plasma (BARBER, 2004). As funções do PTH são estimular a liberação de cálcio e fósforo do osso, aumentar a reabsorção de cálcio e inibir a reabsorção de fósforo no filtrado glomerular, estimular a síntese de calcitriol nos túbulos proximais renais e indiretamente aumentando a reabsorção intestinal de cálcio e fósforo intestinal (ROSOL e CAPEN, 1997).

O principal estimulante da secreção do PTH é a diminuição da concentração do cálcio ionizado

extracelular. A concentração sérica do fósforo e o calcitriol regulam indiretamente a secreção das paratireóides, pois influenciam na concentração de cálcio, além disso, também possuem efeitos diretos (BARBER, 2004).

Estudos em humanos demonstraram secreção pulsátil do PTH com ritmo circadiano bifásico (CALVO *et al.*, 1991) correspondendo com o ritmo para o cálcio, fósforo e renovação óssea. O meio da manhã é o horário indicado para a coleta de sangue em humanos, por corresponder ao momento da secreção do PTH. Enquanto não houver estudos em felinos deve-se adotar o mesmo horário da coleta de sangue dos humanos (BARBER, 2004).

As amostras de sangue para as dosagens do PTH devem ser coletadas, processadas e congeladas a -80°C em menos de duas horas. Pois o PTH é relativamente termolábil e qualquer erro no manuseio pode provocar resultados erroneamente diminuídos (BARBER, 2004).

No organismo, o cálcio sérico total, normalmente mensurado por método colorimétrico, é a somatória de cálcio ligado às proteínas plasmáticas (40%), principalmente à albumina, cálcio quelado (10%), ou seja, formando compostos com o citrato, fosfato ou sulfato; cálcio ionizado (50%) ou a parcela livre do cálcio (BARBER, 2004). O cálcio ionizado é a porção biologicamente ativa do cálcio, a sua diminuição sangüínea é o principal estimulante da secreção de PTH (CHATTOPADNYAY, 2000).

O cálcio pode estar ligado às proteínas plasmáticas, a condição de hipoalbuminemia pode diminuir a concentração total do cálcio, mas não alterar a concentração de cálcio ionizado (FELDMAN, 2004).

A mensuração da fração ionizada do cálcio plasmático é relativamente restrita devido à dificuldade de acesso e disponibilidade de equipamentos, e à necessidade de colheita do material em condições de anaerobiose e da mensuração ter que ser realizada logo após, quando comparada com a maioria dos exames laboratoriais.

Todas essas precauções têm a finalidade de evitar a alteração do pH sangüíneo e, por conseguinte, da fração de cálcio ionizado. Com o recente desenvolvimento de instrumentos semi-automatizados, utilizando-se eletrodos íons seletivos, a mensuração sérica do cálcio ionizado pode ser facilmente realizada (POLLARD *et al.*, 2001). Recomenda-se que os valores séricos de

referência para o cálcio total e cálcio ionizado devam ser determinados pelos próprios laboratórios. Em média os valores variam de 1,02-1,32 mmol/L (FELDMAN, 2004).

O hipertireoidismo é uma causa bem conhecida de alteração do metabolismo ósseo, caracterizado por aumento na atividade osteoblástica e osteoclástica com predomínio da reabsorção óssea e resultando em diminuição na massa óssea (MOSEKILDE *et al.*, 1990). A taxa de renovação óssea é refletida no sangue e na urina com alteração dos níveis de enzimas, minerais e outras substâncias envolvidas na deposição e reabsorção ósseas. (AL-SHOUMER *et al.*, 2006).

A tiroxina tende a diminuir a absorção do cálcio intestinal, entretanto os valores podem estar aumentados devido ao estímulo à osteólise. O excesso dos hormônios tireoidianos exerce um efeito direto sobre o metabolismo ósseo, parecendo estimular diretamente a reabsorção óssea. O aumento da retirada de cálcio do tecido ósseo induz, de forma compensatória, a um decréscimo da secreção do PTH, na tentativa de manter os níveis séricos de cálcio normais (PETERSON *et al.*, 1983).

Segundo MOSEKILDE *et al.* (1990), a diminuição dos níveis séricos do PTH circulante está correlacionada ao aumento na taxa de reabsorção tubular de fosfato. Este parece ser o fator de maior importância para justificar um aumento sérico dos níveis de fósforo; entretanto, um aumento da mobilização de fósforo de origem óssea e dos tecidos moles também pode contribuir para este acontecimento.

PETERSON *et al.* (1983) não evidenciaram a ocorrência de hipercalcemia em nenhum dos 131 gatos com o diagnóstico confirmado de hipertireoidismo. Em todos os animais os valores sempre se mantiveram dentro dos limites normais para a espécie, obtendo-se valores médios de $9,1 \pm 0,1$ mg/dl. Neste mesmo estudo 20% dos 131 gatos hipertireóides apresentaram elevação sérica do fósforo, enquanto a maioria desses animais não apresentava azotemia associada. Este fato é importante, segundo os autores, pois a insuficiência renal é capaz de induzir a hiperfosfatemia devido a um decréscimo da filtração glomerular do fósforo circulante.

Avaliando amostras de sangue de 30 gatos com hipertireoidismo, BARBER e ELLIOT (1996) verificaram que 77% dos animais apresentavam-se com hiperparatireoidismo associado, sendo este fato considerado de ocorrência comum nesta

espécie. Em 43% dos gatos havia elevação dos níveis de fósforo sérico ($1,83 \pm 0,08$ nmol/L) e em 27% dos gatos com tireotoxicose havia baixos valores de cálcio ionizado ($1,22 \pm 0,02$ nmol/L) quando comparado com o grupo-controle. Estas alterações nas concentrações de cálcio e fósforo foram acompanhadas por aumento significativo do paratormônio intacto em gatos hipertireóides ($85 \pm 17,2$ pg/mL) quando comparados com normais ($11,8 \pm 1,2$ pg/mL). Este fato, segundo os autores, não permite explicar o aumento do fósforo plasmático como decorrente de uma elevada taxa de reabsorção óssea mediada pelo paratormônio. A vitamina D ativa ou 1,25-dihidroxicolecalciferol ou calcitriol foi mensurada em oito gatos e três apresentaram aumento, a concentração média nos gatos hipertireóides ($46,9 \pm 8,9$ pg/mL) não apresentou diferença significativa de gatos normais. Neste mesmo estudo observou-se também aumento da fosfatase alcalina total (279 ± 29 UI/L). O PTH não apresentou correlação significativa com TT4 e FA. O PTH apresentou correlação significativa com a concentração do fósforo, onde 20% da variabilidade na concentração do PTH foram devido às alterações do fósforo plasmático.

A indução à tireotoxicose em ratas da raça Wistar, não alterou a concentração de cálcio plasmático total e não foi observada correlação positiva com os valores de T4 livre, entretanto observou-se correlação positiva dos valores de fósforo plasmático e níveis séricos de FT4 (SERAKIDES *et al.*, 2000). GOUVEIA *et al.* (1997) demonstraram que a administração exógena de doses elevadas de levotiroxina potencializa e agrava a osteopenia decorrente do processo de hipogonadismo em ratas castradas. Observou-se significativa diminuição da densidade mineral óssea na coluna, no fêmur e na cauda de ratos hipertireóides (KUNG e NG, 1994).

Segundo BEIGEL *et al.* (1983), o hipertireoidismo é capaz de influenciar no metabolismo do cálcio aumentando a atividade osteoclástica e proporcionando aumento da reabsorção óssea e, também, promover um decréscimo da absorção do cálcio intestinal e hipercalcúria. Entretanto, a maioria dos pacientes tende a apresentar valores dentro dos padrões de normalidade.

Em humanos com hipertireoidismo os aumentos da FA óssea, da osteocalcina, do cálcio e do fósforo, são achados comuns associados ao aumento do metabolismo ósseo secundário aos

efeitos ósseos do T4 (RHONE *et al.*, 1980). Em contrapartida não há sinais clínicos atribuídos a alterações ósseas associados com osteoporose nos relatos de hipertireoidismo felino (BROUSSARD *et al.*, 1995).

Marcadores do Metabolismo Ósseo

Os ossos são continuamente renovados durante toda a vida, como resultado dos processos de formação e reabsorção ósseas realizados por osteoblastos e osteoclastos, respectivamente (RAISZ, 1999). A formação e reabsorção são normalmente balanceados, contudo, podem ocorrer alterações provocadas pela idade, alterações hormonais, atividade física ou doenças músculo-esqueléticas. Em gatos, as doenças músculo-esqueléticas como o hiperparatireoidismo secundário (BARBER e ELLIOT, 1998), hipervitaminose A e neoplasia são importantes causas de morbidade e mortalidade. (LEONARD e TILLSON, 2001).

Uma forma de avaliar a atividade osteoblástica ou osteoclástica dos ossos é através da mensuração dos marcadores do metabolismo ósseo. Os marcadores bioquímicos da remodelação óssea podem ser divididos em marcadores de formação e marcadores de reabsorção óssea (ALLEN, 2003). Esses marcadores podem ser dosados tanto no sangue como na urina (DELMAS, 2001). São métodos simples, sensíveis e acurados de reconhecimento da progressão de doenças metabólicas ósseas ou da resposta à terapia com drogas. Os marcadores do metabolismo ósseo quantificam em tempo real a atividade de formação ou reabsorção das células ósseas enquanto a densitometria mineral e as radiografias ósseas não o faz em tempo real (COLEMAN, 2002). Diferente de biopsias ósseas repetidas, mensurações dos marcadores ósseos séricos ou urinários não interferem no metabolismo ósseo (ALLEN, 2003).

Os marcadores bioquímicos do remodelamento (*turnover*) ósseo são enzimas expressadas por osteoblastos e osteoclastos, ou compostos orgânicos liberados durante a síntese e reabsorção da matriz óssea (SEIBEL, 2000). Vários testes bioquímicos forem descritos para a mensuração da concentração sérica ou urinária dos marcadores do metabolismo ósseo em humanos (DELMAS, 2001).

Os marcadores do metabolismo ósseo podem ser mensurados usando métodos variados, incluindo a cromatografia líquida, RIA, ensaio

radioimunométrico (IRMA), quimioluminescência e ELISA (DELAURIER *et al.*, 2004).

Os marcadores da formação óssea são detectados somente no soro e os marcadores de reabsorção óssea podem ser detectados no soro ou na urina (ALLEN, 2003). Os marcadores da formação óssea são osteocalcina (OC), fosfatase alcalina total (FAT), fosfatase alcalina óssea (FAO), peptídeo carboxiterminal do procolágeno tipo I (PICP), peptídeo aminoterminal do procolágeno tipo I (PINP) enquanto os marcadores de reabsorção óssea são fosfatase ácida tartarato resistente (TRAP) e telopeptídeo carboxiterminal do colágeno tipo I (ICTP), piridinolina (U-PYD), deoxipiridinolina (U-DPD), hidroxiprolina (U-HYP), porção aminoterminal do procolágeno I (U-NTX) e porção carboxiterminal do procolágeno I (U-CTX) (DELMAS, 2001)

A média dos valores e a variabilidade inter-individual para os marcadores de formação e reabsorção são várias vezes maiores em jovens do que em adultos. Os pontos negativos da mensuração dos marcadores do metabolismo ósseo são os custos, a baixa especificidade e sensibilidade, sendo influenciados pela dieta, pelo ciclo circadiano e pela função renal (MORA *et al.*, 1999).

Existem trabalhos em humanos (DELMAS *et al.*, 2001) em bovinos (LIESEGANG *et al.*, 2000; HOLTENIUS e EKELUND, 2005), cães (ALLEN *et al.*, 1998; ALLEN *et al.*, 2000), eqüinos (PRICE *et al.*, 1995; PRICE *et al.*, 2001), ovinos (JOHNSON *et al.*, 1997), ratos (CHAVASSIEUX *et al.*, 2001) e suínos (WEILER *et al.*, 1995) correlacionando os marcadores do metabolismo ósseo com diversas doenças que provocam alterações ósseas e, também, correlacionando com a densitometria mineral óssea (REMES *et al.*, 2004).

Os marcadores do metabolismo ósseo são utilizados, em humanos, no diagnóstico definitivo ou no monitoramento de doenças ósseas metabólicas como osteoporose, hiperparatireoidismo, associados com biópsia óssea e/ou densitometria mineral óssea (CHAVASSIEUX *et al.*, 2001). Também podem ser utilizados no monitoramento da terapia com fármacos e/ou alimentos que possam alterar o funcionamento das células ósseas (DELMAS *et al.*, 2000; SEIBEL, 2000).

Já em animais, os marcadores do metabolismo ósseo podem ser utilizados em estudos da biologia óssea (ALLEN *et al.*, 1998), na avaliação da consolidação de fraturas (FRANCIS e

MILLIS, 2002), em neoplasia esquelética (GARZOTTO *et al.*, 2000), na osteoartrite (FOX e COOK, 2001), na avaliação dos efeitos pré clínicos das dietas e drogas (ALLEN, 2003). Além disso, os marcadores do metabolismo ósseo podem ser utilizados em estudos de doenças que provocam alterações ósseas.

A sensibilidade e especificidade dos marcadores da formação e da reabsorção óssea em animais necessitam de comprovação. Para esta comprovação são necessários trabalhos que correlacionem os valores dos marcadores do metabolismo com os achados de histomorfometria e com a densitometria mineral óssea. O hipertireoidismo felino conforme descrito por COSTA (2002) pode provocar diminuição da densidade mineral óssea, entretanto este trabalho não o correlacionou com os marcadores do metabolismo ósseo.

Foi realizada recentemente a mensuração sérica de marcadores da formação óssea em cães de diversas raças (BREUR *et al.*, 2004) e a mensuração na urina e no soro de marcadores da formação e reabsorção óssea em gatos (DELAURIER *et al.*, 2004).

A fosfatase alcalina óssea (FAO) é um marcador específico da formação óssea, trata-se de uma enzima produzida somente pelos osteoblastos sendo essencial para mineralização óssea (BREUR *et al.*, 2004). A FAO possui importante papel na precipitação de cálcio e fósforo entre as fibras colágenas durante a formação óssea. Níveis elevados da FAO ocorrem, freqüentemente, em pacientes portadores de doenças ósseas, devido ao aumento da atividade osteoclástica, como osteíte deformante, osteomalácia, hiperparatireoidismo, consolidação de fraturas e neoplasias ósseas primárias ou secundárias (ALLEN, 2003).

A osteocalcina (OC), proteína ácida carboxiglutâmico óssea, é uma proteína do colágeno de 46 a 52 aminoácidos arranjados em uma simples cadeia peptídica na matriz extracelular mineralizada do tecido ósseo, dentina e cimento (GUNDBERG *et al.*, 1984). Esta proteína é sintetizada somente por osteoblastos e megacariócitos e é dependente de vitamina K (THIEDE *et al.*, 1994). A função da OC no tecido ósseo ainda não está totalmente elucidada, embora sua estreita associação com a fase mineral, indica algum papel no processo de mineralização (ALLEN, 2003). A osteocalcina é secretada pelos osteoblastos maduros no estágio final de

diferenciação dos osteoblastos, durante o período da mineralização da matriz extracelular. A fração de OC recém sintetizada é liberada na circulação, podendo ser medida por radioimunoensaio. A OC tem mostrado seguir um padrão circadiano e refletir a formação óssea. A quantidade de osteocalcina que entra na circulação sanguínea depende da taxa de secreção individual dos osteoblastos e do número de osteoblastos que secretam a proteína (NIELSEN, 1994).

Cerca de 90% da matriz óssea é colágeno tipo I. O colágeno tipo I é composto por moléculas de ligação do colágeno tipo I, moléculas interligadoras das regiões aminoterminal e carboxiterminal do colágeno tipo I e uma estrutura piridinolínica (ALLEN, 2003).

Os pró-peptídeos do colágeno tipo I são outros marcadores da formação óssea (ALLEN, 2003). A síntese de colágeno tipo I pelos osteoblastos representa o estágio inicial da formação do osso. O colágeno tipo I é sintetizado como uma grande molécula de pró-colágeno, secretada dentro dos espaços extracelulares e depois cindido por proteases que liberam peptídeos (fragmentos) do pró-colágeno. Os fragmentos do pró-colágeno produzidos durante o processo de maturação do colágeno são liberados para a circulação e também podem ser dosados por testes específicos, representando a formação óssea na saúde ou na doença (DELMAS *et al.*, 2000). Os fragmentos do pró-colágeno são os peptídeos carboxiterminal do procolágeno tipo I (PICP) e aminoterminal do procolágeno tipo I (PINP). Esses marcadores ósseos podem ser usados como índices da formação óssea em doenças ósseas metabólicas com a osteoporose (BAUER *et al.*, 2006). Esses fragmentos produzidos pelos osteoblastos são os marcadores de formação óssea clinicamente mais sensíveis e específicos (SWAMINATHAN, 2001). Comercialmente estão disponíveis kits de RIA e ELISA para mensuração sérica do PICP e do PINP em humanos, havendo reação cruzada com o soro de animais (ALLEN, 2003).

O PICP é uma das porções terminais da molécula de pró-colágeno, liberado na circulação sanguínea durante a síntese do colágeno tipo I. Em várias situações, demonstrou-se a relação entre os níveis sanguíneos de PICP e a taxa de formação óssea (MELKKO *et al.*, 1990) e vários estudos descrevem a utilidade desse peptídeo como marcador bioquímico da formação óssea durante o

crescimento normal e em diversas doenças que apresentam alteração do metabolismo ósseo (ERIKSEN *et al.*, 1993). Convém lembrar que esses marcadores procedem de diferentes fases do processo de formação óssea e, portanto, as alterações nos seus níveis podem depender de mecanismos diferentes, dependendo da fisiopatologia de cada doença. Para a determinação desse marcador, está disponível um kit comercial de RIA que utiliza anticorpos policlonais (MELKKO *et al.*, 1990).

O PINP também é liberado à circulação sanguínea durante o processo de síntese de matriz óssea. Uma pequena porção desse fragmento terminal pode ser incorporada durante a formação da matriz óssea e liberada, posteriormente, durante a sua degradação. No entanto, estudos comparativos revelam que os níveis de PINP apresentam uma boa correlação com os níveis de PICP. O PINP também pode ser mensurado por RIA (DELMAS *et al.*, 2001).

Os kits utilizados em humanos para a mensuração sérica do PINP como do PICP não demonstraram reação cruzada com o soro canino (ALLEN *et al.*, 2002). Até o momento não há descrição da utilização destes kits em gatos.

No tecido ósseo, as moléculas de colágeno estão unidas por três resíduos do aminoácido hidroxilisina, lisina ou seus derivados, de maneira que cada duas moléculas de colágeno estão unidas entre si por uma estrutura cíclica fluorescente piridinolina. Os telopeptídeos (extremidades da cadeia protéica) carboxiterminal e aminoterminal do colágeno tipo I, cujas cadeias protéicas estão unidas entre si através da estrutura piridinolínica, são liberados durante a degradação do colágeno tipo I (RISTELI *et al.*, 1993), dando origem ao telopeptídeo carboxiterminal do colágeno tipo I (CTX ou ICTP) e ao telopeptídeo aminoterminal do colágeno tipo I (NTX). O NTX e o CTX ou ICTP são produtos de degradação do colágeno tipo I, sendo mensurados na urina e soro (HANSON, 1992). O CTX e o NTX podem ser mensurados tanto no soro como na urina, enquanto que o ICTP somente no soro (DELMAS *et al.*, 2000) e possui a vantagem de não ser afetado pelo clearance renal (RISTELI *et al.*, 1993). Demonstrou-se, *in vivo* e *in vitro*, uma correlação significativa entre os níveis do ICTP e a taxa de degradação da matriz óssea por meio de histomorfometria (ERIKSEN *et al.*, 1993). Atualmente, dispõe-se de um RIA policlonal (RISTELI *et al.*, 1993) para a determinação do ICTP

no soro e na urina, respectivamente. ALLEN *et al.* (1998) observaram reação cruzada entre o kit humano e soro canino, portanto pode ser usado nesta espécie.

Piridinolina (PYD) e deoxipiridinolina (DPD) também são produtos do metabolismo do telopeptídeo amino e carboxiterminal do colágeno tipo I, liberados durante a reabsorção óssea, e encontrados na urina na forma livre e/ou ligado (ROBINS, 1995). A DPD é um dos mais sensíveis marcadores de reabsorção óssea, pois não está presente no colágeno tipo I da pele (ALLEN, 2003). A fosfatase ácida tartarato-resistente sérica (TRAP) é uma enzima liberada pelos osteoclastos, mas também é derivada de eritrócitos. Seu uso tem sido limitado por se tratar de uma enzima não estável no soro, mesmo quando congelada. No momento, os melhores marcadores da reabsorção óssea são a DPD e o ICTP (SWAMINATHAN, 2001).

Vários fatores como a idade, sexo, exercício, ritmo circadiano de secreção, variação individual e doenças sistêmicas influenciam nas concentrações dos marcadores do metabolismo ósseo (ALLEN, 2003).

Existe na literatura dados da mensuração dos marcadores do metabolismo ósseo em gatos normais (DELAURIER *et al.*, 2004) ou com hipertireoidismo (HORNEY *et al.*, 1995; ARCHER e TAYLOR, 1996).

O hipertireoidismo é uma causa bem conhecida de alteração do metabolismo ósseo, caracterizado por aumento na atividade osteoclástica e osteoblástica com predomínio da reabsorção óssea e resultando em diminuição na massa óssea (MOSEKILDE *et al.*, 1990). O uso dos marcadores do metabolismo ósseo pode ser particularmente interessante nas investigações das alterações ósseas associadas com doença da tireóide. A medida da atividade da fosfatase alcalina óssea é um teste específico e sensível na avaliação do metabolismo ósseo no hipertireoidismo (AL-SHOUMER *et al.*, 2006). A osteocalcina, um marcador específico e sensível da formação óssea, aumenta no hipertireoidismo em humanos, correlacionando-se positivamente com o grau da hiperatividade da tireóide e negativamente com as alterações na densidade mineral óssea (AL-SHOUMER *et al.*, 2006). Os hormônios tireoidianos estimulam diretamente os osteoblastos secretarem osteocalcina (RIZZOLI *et al.*, 1986).

O aumento da FAO foi descrita em gatos hipertireóides por diversos autores sendo também

um achado freqüente no hipertireoidismo felino (HORNEY *et al.*, 1995; ARCHER e TAYLOR, 1996; BARBER e ELLIOTT, 1996). Nenhum dos trabalhos apresentou correlação positiva com o aumento da TT4, diferentemente do que ocorre em humanos. Esses resultados sugerem que a tireotoxicose em gatos pode desencadear alterações nos ossos dos animais com hipertireoidismo. Em ratas com hipertireoidismo experimental não foi observada correlação positiva entre FT4 e a fosfatase alcalina, além de ter ocorrido decréscimo nos níveis da FA (SERAKIDES *et al.*, 2000).

Em humanos com hipertireoidismo os aumentos da FA óssea, da osteocalcina, do cálcio e do fósforo, são achados comuns associados ao aumento do metabolismo ósseo secundário aos efeitos ósseos do T4 (RHONE *et al.*, 1980). Em contrapartida não há sinais clínicos atribuídos a alterações ósseas associados com osteoporose nos relatos de hipertireoidismo felino (BROUSSARD *et al.*, 1995).

ARCHER e TAYLOR (1996) estudando 36 gatos hipertireóides mensuraram a osteocalcina por radioimunoensaio, 44% dos gatos mostrando elevação ($0,32 \pm 0,3$ ng/mL) da osteocalcina quando comparados com o grupo controle (0 a $0,25$ ng/mL), mas não havia diferença significativa entre os grupos. No mesmo trabalho observou-se correlação linear inversa entre FA e a osteocalcina, sem diferença significativa. Em geral, há correlação entre os níveis séricos de osteocalcina e os níveis de formação óssea observados pela histomorfometria e também, com outros marcadores do metabolismo ósseo (JOFFE *et al.*, 1994)

Densitometria Mineral Óssea

A determinação da densidade mineral óssea é um fator fundamental para a definição do quadro de desmineralização, servindo também para o estabelecimento de um protocolo terapêutico e o monitoramento dos pacientes acometidos, podendo desta forma prevenir a ocorrência de fraturas patológicas (SCHARLA *et al.*, 1999). Diferentes técnicas densitométricas são descritas na medicina veterinária e humana, visando proporcionar precisão nos dados e boas condições de trabalho. Inúmeros relatos demonstram que a técnica de densitometria óptica em imagens radiográficas é útil para avaliação da densidade mineral óssea, pois se apresenta com alta precisão, tendo o seu uso uma importância destacada (RAHAL *et al.*, 2002).

A densitometria mineral óssea, em relação à

radiografia simples, além de detectar a osteopenia possui a vantagem de melhorar a identificar e quantificar alterações regionais ou sistêmicas na densidade mineral óssea (ALLEN *et al.*, 2000), porém poucos centros veterinários utilizam este meio diagnóstico na prática clínica. Um dos inconvenientes da densitometria óssea é a incapacidade de distinguir se a alteração na densidade mineral óssea (DMO) foi provocada por efeitos da formação ou da reabsorção óssea. Já os marcadores do metabolismo ósseo mensurados na urina ou soro são específicos para a formação ou reabsorção óssea (ALLEN *et al.*, 2003).

A diminuição da densidade mineral óssea em humanos hipertireóideos foi descrita em diversos estudos (GOUVEIA, 2004; KARGA *et al.*, 2004). Em ratas com hipertireoidismo observou-se osteopenia (GOUVEIA *et al.* (1997) e diminuição significativa da densidade mineral óssea (KUNG e NG, 1994). Em gatos há somente um trabalho descrevendo a diminuição da densidade mineral óssea secundária ao hipertireoidismo (COSTA, 2002); entretanto este trabalho não estabeleceu correlação com os marcadores do metabolismo ósseo.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O hipertireoidismo é uma das doenças endócrinas mais freqüentes em gatos domésticos e promove alterações no metabolismo ósseo. Portanto, são necessários estudos da influência desta doença endócrina nos marcadores de formação e de reabsorção do metabolismo ósseo para que se possa compreender o mecanismo fisiopatológico das alterações ósseas. A utilização dos marcadores do metabolismo ósseo é mais umas ferramentas disponíveis para pesquisa de doenças metabólicas ósseas e na medicina veterinária existem poucos estudos.

REFERÊNCIAS

- ALLEN, L.C., ALLEN, M.J., BREUR, G.J., HOFFAMANN, W.E., RICHARDSON, D.C. A comparison of two techniques for the determination of serum bone-specific alkaline phosphatase activity in dogs. **Research Veterinary Science**, v. 68, p.231-235, 2000.
- ALLEN, M.J. Biochemical markers of bone metabolism in animals: uses and limitations. **Veterinary Clinical Pathology**, v.32, n.3, p.101-113, 2003.
- ALLEN, M.J., HOFFAMANN, W.E., BREUR, G.J., RICHARDSON, D.C. Serum markers of bone metabolism in dogs. **Research Veterinary Science**, v.59, p.250-254, 1998.
- AL-SHOUMER, K.A.S., VASANTHY, B.A., AL-ZAID, M.M. Effects of treatment of hyperthyroidism on glucose homeostasis, insulin secretion, and markers of bone turnover. **Endocrine Practice**, v.12, p.121-130, 2006.
- ARCHER, J.T., TAYLOR, S.M. Alkaline phosphatase bone isoenzyme and osteocalcin in the serum of hyperthyroid cats. **Canadian Journal Veterinary**, v.37, p.735-739, 1996.
- BARBER P. J., ELLIOT, J. Study of calcium homeostasis in feline hyperthyroidism. **Journal of Small Animal Practice**, v.37, p.575-82, 1996.
- BARBER, P.J. Disorders of the parathyroid glands. **Journal Feline Medicine Surgery**, v.6, p.259-269, 2004.
- BARBER, P.J., ELLIOT, J., TORRANCE, A.G. Measurement of feline intact parathyroid hormone: assay validation and sample handling studies. **Journal of Small Animal Practice**, v.34, p.614-620, 1993.
- BAUER, D.C, GARNERO, P., BILEZIKIAN, S.L., GREENSPAN, K.E., ENSRUD, C.J., ROSEN, L., PALERMO, D.M. Short-term changes in bone turnover markers and bone mineral density response to parathyroid hormone in postmenopausal women with osteoporosis. **Clinical Endocrinology Metabolism**, v.91, p.1370-1375, 2006.
- BEIGEL, Y., ARIE, R., WYSENBECK, A. J., HALABE, E., BLUM, I. Hypocalcaemia, a possible manifestation of thyrotoxicosis. **Postgraduate Medical Journal**, v.59, p.317-9, 1983.
- BREUR, G.J., ALLEN, M.J., CARLSON, S.J., RICHARDSON, D.C. Markers of bone metabolism in dog breeds of different size. **Research Veterinary Science**, v. 76, p.53-55, 2004.
- BROUSSARD, J.D., PETERSON, M.E., FOX, P.R. Changes in the clinical and laboratory findings in hyperthyroid cats from 1983 to 1993. **Journal American Veterinary Medical Association**, v. 206, p.302-5, 1995

Homeostase do cálcio e marcadores do metabolismo ósseo no hipertireoidismo felino

- CALVO, M.S., EASTELL, R. OFFORD, K.P., BERGSTRALH, E.J., BURRITT, M.F. Circadian variation in ionized calcium and intact parathyroid hormone: evidence for sex differences in calcium homeostasis. **Journal Endocrinology Metabolism**, v.72, p.69-76, 1991.
- CARDOSO, M.J.L. Avaliação dos efeitos cardíacos, radiográficos, eletrocardiográficos, do hemograma e nos níveis séricos de uréia, creatinina, sódio, potássio e enzimas hepáticas, em gatos com hipertireoidismo experimental. Botucatu: **UNESP, 2002, p.174, Dissertação (Mestrado)**. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.
- CHATTOPADNYAY, N. Biochemistry, physiology and pathophysiology of the extracellular calcium-sensing receptor. **International Journal Biochemistry Cell Biology**, v.32, p.789-804, 2000.
- CHAVASSIEUX, P., GARNERO, P., DUBOEUF, F., VERGNAUD, P., BRUNNER-FERBER, F., DELMAS, P.D., MEUNIER, P.J. Effects of a new selective estrogen receptor modulator (Mdl 103,323) on cancellous and cortical bone in ovariectomized ewes: a biochemical, histomorphometric, and densitometric study. **Journal Bone Mineral Research**, v.16, p.89-96, 2001.
- COLEMAN, R.E. The clinical use of bone resorption markers in patients with malignant bone disease. **Cancer**, v.94, p.2521-2533, 2002.
- COSTA, F.S. Tirotoxicose experimental em gatos: Efeitos sobre o tecido ósseo, níveis séricos de fosfatase alcalina e metabolismo de cálcio e fósforo. **Botucatu, 2002. 101p. Dissertação (Mestrado)** - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista de Botucatu - SP.
- DELAURIER, A., JACKSON, B., PFEIFER, D., INGHAM, K., HORTON, M.A., PRICE, J.S. A comparison of methods for measuring serum and urinary markers of bone metabolism in cats. **Research Veterinary Science**, Saskatoon, v.77, p.29-39, 2004.
- DELMAS, P.D. Bone marker nomenclature. **Bone**, v.28, p.575, 2001.
- DELMAS, P.D., EASTELL, R., GARNERO, P., SEIBEL, M.J., STEPAN, J. Radioimmunoassay for the pyridoline cross-linked carboxyterminal telopeptide of type I collagen: a new serum marker of bone collagen turnover. **Osteoporos International**, v.11(suppl),n.6, S2-S17, 2000.
- ERIKSEN, E.F., CHARLES, P., MELSEN, F. Serum markers of type I collagen formation and degradation in metabolic bone disease: correlation to bone histomorphometry. **Journal Bone Mineral Research**, New York, 8: 127-32, 1993.
- FELDMAN, E.C. Distúrbios das paratireóides. IN: ETTINGER, S.J., FELDMAN, E.C. **Tratado de medicina interna veterinária**. 5ª ed. São Paulo: Editora Guanabara. 2004. p.1454-1474.
- FOSTER, D.J., THODAY, K.L. Tissue sources of serum alkaline phosphatase in 34 hyperthyroid cats: a qualitative and quantitative study. **Research Veterinary Science**, v.68, p.89-94, 2000.
- FOX, D.B., COOK, J.L. Synovial fluid markers of osteoarthritis in dogs. **Journal American Veterinary Medical Association**, v.219, p.756-761, 2001.
- FRANCIS, D.A., MILLIS, D.L. Trends observed in bone metabolism markers from dogs following radial osteotomy. **Veterinary Compendium Orthopaedics Traumatology**, v.2, p.A5, 2002.
- GARZOTTO, C.K., BERG, J., HOFFMANN, W.E., RAND, W.M. Prognostic significance of serum alkaline phosphatase activity in canine appendicular osteosarcoma. **Journal Veterinary Internal Medicine**, v.14, p.587-592, 2000.
- GOUVEIA, C. H. A. O efeito molecular e estrutural do hormônio tireoidiano no esqueleto. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 48, p.183-195, 2004.
- GOUVEIA, C. H. A., JORGETTI, V., BIANCO, A.C. Effects of thyroid hormone administration and estrogen deficiency on bone mass of female rats. **Journal Bone Mineral Research**, v.12, p.2098-107, 1997.
- GUNDBERG, C.M.; HAUSCHKA, P.V.; LIAN, J.B. & GALLOP, P.M. Osteocalcin: isolation, characterization and detection. **Methods in Enzymology**, v. 107, p. 516-44, 1984.
- HANSON, D.A., WEIS, M.A.E., BOLLEN, A.M. et al. A specific immunoassay for monitoring human bone resorption: quantitation of type I collagen cross-linked N-telopeptide in urine. **Journal Bone Mineral Research**, v.7, n.11, 1.251-8, 1992.

HOLTENIUS, K., EKELUND, A. Biochemical markers of bone turnover in the dairy cow during lactation and dry period. **Research Veterinary Science**, v.78, p.17-19, 2005.

HORNEY, B.S., FARMER, A.J., HONOR, D.J., MACKENZIE, A.J., BURTON, S. Agarose gel electrophoresis of alkaline phosphatase isoenzymes in the serum of hyperthyroid cats. **Veterinary Clinical Pathology**, v.23, p.98-102, 1995.

JOFFE, P., HEAF, J.G., HYLDSTRUP, L. Osteocalcin: a non-invasive index of metabolic bone disease in patients treated by CAPD. **Kidney**, v.46, p.838-846, 1994.

JOHNSON, R.B., GILBERT, J.A., COOPER, R.C., DAI, X., NEWTON, B.I., TRACY, R.R., WEST, W.F., DEMOSS, T.L., MYERS, P.J., STRECKFUS, C.F. Alveolar bone loss one year following ovariectomy in sheep. **Journal Periodontology**, v.68, p.864-871, 1997.

KARGA, H., PAPAPETROU, P.D., KORAKOVOUNI, A., PAPANDROULAKI, F., POLYMERIS, A., PAMPOURAS, G. Bone mineral density in hyperthyroidism. **Clinical Endocrinology**, v.61, p.466-472, 2004.

KUNG, A. W., NG, F. A rat model of thyroid hormone-induced bone loss: effect of antiresorptive agents on regional bone density and osteocalcin gene expression. **Thyroid**, v.4, n.1, p.93-98, 1994.

LEONARD, C.A., TILLSON, M. Feline lameness. **Veterinary Clinics North American Small Animal Practice**, v.31, p.143-163, 2001.

LIESEGANG, A., EICHER, R., SASSI, M.L., RISTELI, J., KRAENZLIN, M., RIOND, J.L., WANNER, M., Biochemical markers of bone formation and resorption around parturition and during lactation in dairy cows with high and low standard milk yields. **Journal Dairy Science**, v.83, p.1773-1781, 2000.

MELKKO J, NIEMI S, RISTELI L, RISTELI J. Radioimmunoassay of the carboxyterminal propeptide of human type I procollagen. **Clinical Chemistry**, v.36, p.1328-1332, 1990.

MOONEY, C.T. Feline hyperthyroidism: diagnosis and therapeutics. **Veterinary Clinics North American Small Animal Practice**, v. 31, p.963-983, 2001.

MORA, S. PITUKCHEEWANONT, P., KAUFMAN, F.R., NELSON, J.C., GILSANZ, V. Biochemical markers of bone turnover and the volume and the density of bone children at different stages of sexual development. **Journal Bone Mineral Research**, v.14, p.1664-1671, 1999.

MOSEKILDE, L., ERIKSEN, E. F., CHARLES, P. Effects of thyroid hormones on bone and mineral metabolism. **Endocrinology Metabolism Clinics North America**, v.19, n.1, p.35-63, 1990.

NIELSEN, H.K. Circadian and circatrigean changes in osteoblastic activity assessed by serum osteocalcin. **Danish Medical Bulletin**, v. 41, p. 216-227, 1994.

PETERSON, M. E., KINTZER, P. P., CAVANAGH, P. G., FOX, P. R., FERGUSON, D. C., JOHNSON, G. F., BECKER, D. V. Feline hyperthyroidism: pretreatment clinical and laboratory evaluation of 131 cases. **Journal American Veterinary Medical Association**, v.183, n.1, p.103-110, 1983.

PETERSON, M.E. Hipertireoidismo. In: ETTINGER, S.J., FELDMAN, E.C. **Tratado de medicina interna veterinária**. 5 ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2004; p.1475-1495.

PETERSON, M.E., MELIÁN, C., NICHOLS, R. Measurement of serum concentrations free thyroxine, total thyroxine, and total triiodothyronine in cats with hyperthyroidism and cats with nonthyroidal disease. **Journal American Veterinary Medical Association**, v.218, p.529-536, 2001.

POLLARD, R.E., LONG, C.D., NELSON, R.W., HORNOF, W.F., FELDMAN, E.C. Percutaneous ultrasonographically guided radiofrequency heat ablation for treatment of primary hyperparathyroidism in dogs. **Journal American Veterinary Medical Association**, v.218, n.7, p.1106-1110, 2001.

PRICE, J.S., JACKSON, B., EASTELL, R., GOODSHIP, A.E., BLUMSOHN, A., WRIGHT, I., STONEHAM, S., LANYON, L.E., RUSSEL, R.G. Age related changes in biochemical markers of bone metabolism in horses. **Equine Veterinary Journal**, v.27, p.201-207, 1995.

Homeostase do cálcio e marcadores do metabolismo ósseo no hipertireoidismo felino

- PRICE, J.S., JACKSON, B., GRAY, J.A., HARRIS, P.A., WRIGHT, I., PFEIFFER, D.U., ROBINS, S.P., EASTELL, R., RICKETTS, S.W. biochemical markers of bone metabolism in growing throughbreds: a longitudinal study. **Research Veterinary Science**, v.71, p.37-44, 2001.
- RAHAL, S. C., MORTARI, A. C., CAPORALI, E. H. G., VULCANO, L. C., SANTOS, F. A. M., TAKARIRA, R. K., CROCCI, A.J. Densitometria óptica radiográfica na avaliação do hiperparatireoidismo secundário nutricional induzido em gatos jovens. **Ciência Rural**, v.32, n.3, p.421-425, 2002.
- RAISZ, L.G. Physiology and pathophysiology of bone remodeling. **Clinical Chemistry**, v.45, n.8, p.1353-1358, 1999.
- REMES, T., VÄISÄNEN, S.B., MAHONEN, A., HUUSKONEN, J., KRÖGER, H., JURVELIN, J.S., PENTILÄ, I.M., RAURAMAA, R. The association of bone metabolism with bone mineral density, serum sex hormone concentrations, and regular exercise in middle-aged men. **Bone**, v.34, p.439-447, 2004.
- RHONE, D.P., BERLINGER, F.R., WHITE, F.M. Tissue sources of elevated serum alkaline phosphatase activity in hyperthyroid patients. **American Journal Clinical Pathology**, p.381-386, 1980.
- RISTELI J, ELOMAA S, TRIVEDI P, MÄENTAUSTA O, ROWE DW. Radioimmunoassay for the pyridinoline cross-linked carboxyterminal telopeptide of type I collagen: a new serum marker of bone resorption. **Clinical Chemistry**, v.39, n.4, 635-640, 1993.
- RIZZOLI, R., POSER, J., BARGI, U. Nuclear thyroid hormone receptors in cultured bone cells. **Metabolism**, v.35, p.71-74, 1986.
- ROBINS, S.P. Collagen crosslinks in metabolic bone disease. **Acta Orthopaedica Scandinavica**, v.66, p.171-175, 1995.
- ROSOL, T.J.; CAPEN, C.C.: Calcium-Regulating Hormones and Diseases of Abnormal Mineral (Calcium, Phosphorus, Magnesium) Metabolism. In: KANECO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. (eds.). **Clinical Biochemistry Domestic Animals**. California: Academic Press, 5 ed., p. 619-702, 1996.
- SCHARLA, S. H., WOLF, S., DÜLL, R., LEMPERT, U. G. Prevalence of low bone mass and endocrine disorders in hip fracture patients in Southern Germany. **Experimental Clinical Endocrinology Diabetes**, v.107, p.547-554, 1999.
- SEIBEL, M.J. Molecular markers of bone turnover: biochemical, technical and analytical aspects. **Osteoporos Internacional**, v.11, p.18-29, 2000.
- SERAKIDES, R., NUNES, V.A., NASCIMENTO, E.F., SILVA, C.M., RIBEIRO, A.F.C. Relação tireóide-gônadas e níveis plasmáticos de fósforo, cálcio e fosfatase alcalina em ratas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52, p.579-585, 2000.
- SWAMINATHAN, R. Biochemical markers of bone turnover. **Clinical Chemistry Acta**, v.313, p.95-105, 2001.
- THIEDE, M.A., SMOCK, S.L., PETERSEN, D.N., GRASSER, W.A., THOMPSON, D.D., NISHIMOTO, S.K. Presence of messenger ribonucleic acid encoding osteocalcin, a marker of bone turnover, in bone marrow megacariócitos and peripheral blood platelets. **Endocrinology**, v.135, p.929-937, 1994.
- THODAY, K.L., MOONEY, C.T. Historical clinical and laboratory features of 126 hyperthyroid cats. **Veterinary Record**, v.131, p.257-264, 1992.
- TORIBIO, R.E., KOHN, C.W., CHEW, D.J., CAPEN, C.C., ROSOL, T.J. cloning and sequence analysis of the complementary DNA for feline preproparathyroid hormone. **American Journal Veterinary Research**, v.63, p.194-197, 2002.
- WEILER, H.A., WANG, Z., ATKINSON, S.A. Dexamethasone treatment impairs calcium regulation and reduces bone mineralization in infant pigs. **American Journal Clinical Nutrition**, v.61, p.805-811, 1995.