



Universidade de Brasília
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

NÍVEIS DE 25(OH)VITAMINA D ENTRE PRIMATAS
DA ESPÉCIE *CALLITHRIX PENICILLATA*, EXPOSTOS
E NÃO EXPOSTOS A LUZ SOLAR.

DANILO SIMONINI TEIXEIRA

Brasília, junho de 2008.



Universidade de Brasília
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

DANILO SIMONINI TEIXEIRA

NÍVEIS DE 25(OH)VITAMINA D ENTRE PRIMATAS
DA ESPÉCIE *CALLITHRIX PENICILLATA*, EXPOSTOS
E NÃO EXPOSTOS A LUZ SOLAR.

Dissertação apresentada para
seleção junto ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências da
Saúde da Universidade de
Brasília, como requisito parcial a
obtenção de grau de Mestre

Orientador: Prof. Dr. Riccardo Pratesi

Brasília, junho de 2008.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais (Antônio Raphael Teixeira Filho e Maria Amélia Torres Simonini Teixeira), pelo amor transmitido, pela paciência e por acreditar nos meus sonhos;

Aos meus irmãos (Breno, Marla, Daniela, Rafael e Ramona) pela força, amizade e pelo companheirismo nos momentos difíceis da vida;

Ao meu grande orientador, Prof. Dr. Riccardo Pratesi, pois além de ser um pesquisador e orientador, se tornou um amigo e o responsável por abrir meus olhos para o mundo da ciência, compartilhando sua paixão na vida acadêmica;

Ao Prof. Luís Cláudio, por todo apoio, ajuda e empenho para que este trabalho fosse realizado da melhor maneira possível;

Aos amigos e companheiros de laboratório e de trabalho (Profa. Lenora, Profa. Clotilde, Prof. Tomaz, Rodrigo, Ritinha...) todos que contribuíram com o andamento da presente pesquisa;

Ao amigo Carlos Uribe, por ajudar de forma essencial nos cálculos estatísticos que foram utilizados no trabalho;

A grande companheira Fernanda, por me acompanhar, sempre de forma paciente, as viagens, congressos, trabalhos de campo na preparação para esta pesquisa;

Ao Centro Nacional de Primatologia – UnB – DF, ao Centro Nacional de Primatas - Ananindeua – PA. Agradeço a todos os funcionários que participaram efetivamente do trabalho;

Aos primatas, por serem fundamentais para o desenvolvimento da pesquisa. Minha enorme gratidão.

Ao grande e inesquecível
amigo Pedro Davison,
obrigado pelo curto mais
intenso convívio durante
seus anos de vida.

“O futuro dependerá daquilo que fazemos no presente” (Mahatma Gandhi)

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS-----	v
LISTA DE GRÁFICOS-----	vi
LISTA DE TABELAS-----	vii
RESUMO-----	vii
ABSTRACT-----	viii
1 INTRODUÇÃO-----	2
2 REVISÃO DA LITERATURA-----	8
2.1 METABOLISMO DA VITAMINA D-----	8
2.2 FISILOGIA DA VITAMINA D-----	12
2.3 A ESPÉCIE-----	19
2.4 METABOLISMO DA VITAMINA D EM PRIMATAS-----	23
3. OBJETIVOS-----	27
4.METODOLOGIA-----	29
4.1 LOCAIS DO ESTUDO-----	29
4.2 ALIMENTAÇÃO-----	41
4.3 MÉTODOS-----	44
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO-----	48
5.1 Análise estatística dos valores da 25(OH)D dos animais em estudo-----	48
5.2 Análises gráficas e numéricas-----	48
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS-----	58
7. CONCLUSÃO-----	62
8. REFERÊNCIAS-----	65

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - <i>Emiliana huxleyi</i> -----	9
FIGURA 2 - Estruturas químicas dos principais precursores da Vitamina D----	10
FIGURA 3 - Metabolismo da vitamina D-----	11
FIGURA 4 - Molécula de 7-deidrocolesterol radiação UVB-----	12
FIGURA 5 - Molécula instável da pré-vitamina D3 originando Vitamina D3--	12
FIGURA 6 - Funções não-calcêmicas da 1,25(OH) ₂ D-----	16
FIGURA 7 - Mecanismo de ação da Vitamina D contra doenças auto-imunes--	17
FIGURA 8 - <i>Callithrix penicillata</i> -----	19
FIGURA 9 - Centro Nacional de Primatas – Ananindeua – PA-----	29
FIGURA 10 - Planta baixa do galpão de reprodução (CENP - PA)-----	32
FIGURA 11 - Croqui da gaiola de manutenção dos calitriquídeos no CENP---	33
FIGURA 12 e 13 - Centro de Primatologia – UnB (CP-UnB)-----	35
FIGURA 14 - Galpão do Centro de Primatologia – UnB-----	37
FIGURA 15 - Planta baixa dos recintos dos <i>Callithrix penicillata</i> do CP-UnB---	38
FIGURA 16 - Frente do galpão dos <i>Callithrix penicillata</i> do CP-UnB-----	39
FIGURA 17 - Parte interna dos recintos e visão da porta de acesso ao recinto----	40

LISTA DE GRÁFICOS

- GRÁFICO 1 Comparações entre os três grupos de *Callithrix penicillata*-----50
GRÁFICO 2 Comparação entre o gênero nos diferentes grupos analisados ---51
GRÁFICO 3 Comparação entre os níveis de 25(OH)D entre todos os animais--52

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Formulação da ração de CP - UnB Brasília – DF-----	42
TABELA 2 - Formulação da ração do CENP – Ananindeua – PA-----	43
TABELA 3 - Distribuição dos níveis de 25(OH)D e os grupos de animais--	49
TABELA 4 - Análise das médias de todos os grupos e valores de IC-95%--	53

LISTA DE SIGLAS

VDR -
ALS - Esclerose Lateral Amiotrófica
UVB - Radiação Ultravioleta β
NADPH - Adenina Nicotidina Dinucleotídeo Fosfato
ECaC - Ephithelial Calcium Channel
1,25(OH)₂D - Calcitriol
25(OH)D - Calcidiol
IL2 - Interleucina 2
IL4 - Interleucina 4
IL5 - Interleucina 5
IL10 - Interleucina 10
IFN- γ - Interferon γ
TGF- β -
CD40L -
TNF -
TH1 -
TH2 -
PTH - Paratôrmonio
RANK-L -
CENP-PA - Centro Nacional de Primatas
CP-UnB - Centro de Primatologia da Universidade de Brasília
LC-HUB - Laboratório Central – Hospital Universitário de Brasília
RLU - Unidade Relativa de Luz
EPI - Equipamento de Proteção Pessoal
FAL - Fazenda Água Limpa

Resumo

Dependendo das condições de infra-estrutura local, primatas que vivem em cativeiro podem ter diferentes frequências de exposição à luz solar. Este fato é importante, uma vez que os raios ultravioletas desempenham papel importante na ativação da vitamina D, a qual é essencial à manutenção da qualidade óssea dos vertebrados e nos seres humanos participa ativamente da regulação de vários aspectos metabólicos, como competência imunológica e proteção contra doenças auto-imunes e alguns tipos de câncer.

Neste estudo participaram os animais do Centro Nacional de Primatas (Pará), os quais por viverem em galpões totalmente cobertos em sua parte superior não recebem a incidência de luz solar, ou a recebem apenas no início e término do dia; e animais do Centro de Pesquisa da Universidade de Brasília (Distrito Federal), que tem em seu recinto uma área descoberta, possibilitando assim, maior acesso dos animais aos raios solares.

Os objetivos deste estudo foram: avaliar a concentração de 25(OH) vitamina D sérica presente nos dois grupos de animais, estudar se há correlação entre os valores de 25(OH)D obtidos com o gênero ou com a intensidade de exposição solar; reconhecer valores de base da 25(OH) vitamina D para esta espécie para se construir uma curva de normalidade.

Os resultados foram transferidos para o programa estatístico SPSS, versão 13 e correlacionados entre si.

Os animais foram divididos em três grupos distintos de acordo com a disposição dos mesmos em relação aos raios solares: o grupo A, representado por 29 animais que

recebiam contato direto dos raios solares em todo o período do dia (manhã e tarde); o grupo B, composto com 34 animais fazendo parte dos animais que apresentavam uma exposição limitada ao sol, ou seja, apenas nas primeiras horas do dia e nas últimas horas da tarde; o grupo C, composto por 21 animais, que por estarem na área voltada para a parte interna dos galpões não recebiam nenhum tipo de contato com a luz solar.

A análise comparativa dos níveis de 25(OH)D dos três grupos (sem exposição ao sol, exposição limitada e com exposição plena ao sol) mostrou diferenças estatisticamente significativas. Entre os níveis de 25(OH)D do grupo de indivíduos sem exposição ao sol (grupo 3) e com exposição ao sol (grupo 1) ($p < 0,001$) e entre os grupos sem exposição ao sol (grupo 3) e com exposição limitada ao sol (grupo 2) ($p < 0,001$). Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos com exposição normal (grupo 1) e exposição limitada ao sol (grupo 2) ($p = 0,605$). Quando comparados o gênero dos animais, não houve diferenças estatisticamente significativas nem em relação aos grupos e nem em relação ao conjunto de animais como um todo.

Abstract

Primates in captivity, depending on the local infrastructure, may be subject to different periods of exposure to sunlight. This is an important fact since the ultraviolet rays have an important function in the vitamin D activation. Vitamin D is essential for the maintenance of the bone health and, in human beings, takes an active part in the regulation of various metabolic functions as, for example, in immunologic defenses and in the protection against autoimmune disorders and cancer. In the present study were included primates originating from National Primates Center (Para) and from the Primates Research Center of Brasilia (DF). In the former center, the installations for housing these simians are completely covered not allowing any exposure to sunlight or, warranting, during few morning or afternoon hours, only a partial exposure. In contrast, in the Primates Research Center of Brasilia the simians are housed in habitats providing open areas that allow an unrestricted exposure to sun.

The aim of the present study was to evaluate the 25(OH) vitamin D concentrations in both simian groups and correlate the vitamin D concentrations found with the degree of sunlight exposure and with the simian genre and to establish a curve of normal values for animals in captivity. Three groups of simians were formed: group 1 with 29 animals, with unlimited exposure to sun; group 2 with 34 animals, with partial exposure to sunlight; and group 3 with 21 animals with null access to sunlight. Blood samples were obtained from the 84 simians and 25(OH) vitamin D concentrations were determined utilizing (kit e fabricante). Statistical analysis was performed using the soft SPSS, version 13. The difference in 25(OH)D blood levels between group 3 (null exposure to sun) and group 1 (partial exposure to sun) showed a p value of $<0,001$. The difference

between group 3 and group 2 (with partial exposure to sun) showed a p value of $<0,001$. No significant statistical difference was observed between the group with unlimited exposure to sun (group 1) and group with partial exposure (group 2) ($p=0,605$) and also between the genres.

Introdução

1. Introdução

Estudos sobre a fisiologia da vitamina D realizados nestas últimas duas décadas, tanto no campo da biologia molecular como em pesquisas clínicas, vêm desvendando aspectos importantes deste hormônio à manutenção da integridade metabólica dos organismos animais, em especial de seres humanos. O conhecimento adquirido a partir destes trabalhos mostra que as ações da vitamina D não se restringem à regulação do metabolismo ósteo-mineral, no controle dos níveis de cálcio e do fósforo do organismo. Ela também participa ativamente na regulação do sistema imunológico, como modulador nos processos de auto-imunidade (inibindo o aparecimento de doenças auto-imunes) (Cantorna et al, 2005); estimulador de síntese de antibióticos naturais (como a catelicidina, defensina- α e defensina- β) pelas células de defesa dos mamíferos, protegendo-os contra agressão por agentes infecciosos, vírus, bactérias, e parasitas (Segaert S. 2008; van-Etten et al, 2007; Schwartz et al. 2007) e tem atividade anti-oncogênica, suprimindo o desenvolvimento de células neoplásicas (Schwartz et al, 2007; Windelinckx et al, 2007). A Vitamina D ainda desempenha papel no controle da força e no tônus muscular (Maestro et,al. 2003; Mathieu et, al. 2005) está envolvida no controle glicêmico, pois age na regulação de síntese e secreção da insulina (Giulietti, et al, 2004) e no controle da pressão arterial (Judd et al, 2008; Rostand et al, 2008).

A vitamina D, apesar de ser classicamente conhecida como uma vitamina é sabidamente um hormônio, com funções osteo-minerais (relacionadas ao controle de cálcio e fósforo) e extra-esqueléticas (imunológicas, musculares, controle da pressão arterial e no metabolismo da insulina). No entanto, para que este hormônio atue no desenvolvimento, crescimento e à manutenção da qualidade dos ossos dos vertebrados e

nos demais aspectos do metabolismo sistêmico, é preciso que o organismo receba uma adequada exposição solar, pois é a incidência da luz ultra-violeta na pele do indivíduo que inicia o processo de ativação deste hormônio a partir de seus precursores inertes. Desta forma, uma exposição insuficiente à luz solar pode comprometer o metabolismo da vitamina D, predispondo à hipovitaminose D e, conseqüentemente, a disfunções orgânicas, como hipocalcemia, hipofosfatemia, hiperparatireoidismo secundário (decorrente da hipocalcemia), raquitismo e osteomalácia (Halloran & DeLuca, 1981). Esta hipovitaminose pode desencadear também alterações imunológicas, como predisposição ao desenvolvimento de doenças auto-imunes, diminuição da resistência imunológica e maior predisposição à alguns tipos de cânceres.

Além das atividades referidas, a Vitamina D parece ter funções neuroprotetoras (Kalueff, et al, 2005). Alguns estudos sugerem efeitos positivos com a suplementação vitamínica e mineral na função cognitiva (Benton, 2001). Experimentos realizados com ratos de laboratórios demonstraram que existe relação entre vitamina D e fisiologia do cérebro, sugerindo efeitos regulatórios deste hormônio em determinadas funções cognitivas e comportamentais nestes animais (Chia, et al, 2005). Vieth et al, 2000, demonstraram algumas semelhanças fisiológicas e histológicas no metabolismo da vitamina D entre ratos e humanos: ambos sintetizam a vitamina D a partir da pele e a distribuição dos receptores de Vitamina D (VDR –estrutura protéica encontrada no núcleo celular, à qual se liga a vitamina D para exercer seu efeito biológico) no cérebro e nos demais tecidos é muito parecida. Efeitos da 1,25(OH)₂ Vitamina D (também chamado calcitriol, que é o metabólito ativo da Vitamina D) em células cerebrais gliais parecem ser semelhantes entre ratos e humanos (Naveilhan, et al, 1994). A distribuição dos VDRs no cérebro é similar quando comparada a de roedores (Eyles, et al, 2005). O VDR tem sido encontrado no núcleo de vários tipos de células do sistema nervoso

central, incluindo células da microglia, astrócitos, oligodendrócitos e as células de Schwann. (Langub et al, 2001)

O calcitriol parece ainda atuar na expressão de vários genes que agem em diferentes tipos celulares do cérebro: está relacionado à síntese de ocitocina e de enzimas como a colina-acetiltransferase que está envolvida na síntese do neurotransmissor acetilcolina. É responsável também por funções bioquímicas e celulares cerebrais, como na estruturação das formações sinápticas, no mecanismo de memória e no controle de radicais livres. Existem, também, algumas funções cerebrais do tipo comportamental, relacionadas ao calcitriol, como a aprendizagem e memória, controle motor, comportamento maternal e social e o envelhecimento. (Joyce et al, 2008). A partir destes dados, infere-se que existe uma ação de integração da vitamina D, ou até mesmo seus metabólitos, com diversas funções cerebrais neuro-cognitivas.

O cálcio depende da vitamina D para ser absorvido no trato intestinal e este elemento também apresenta um importante papel no funcionamento normal do cérebro. Age na mielinização dos neurônios, na sinaptogenese, neurogenes e na liberação de neurotransmissores. (Berridge, et al, 2006). Distúrbios da homeostase do cálcio podem levar a neurotoxicidade e desordens neurodegenerativas, como esclerose lateral amiotrófica (ALS) (Alexianu et al, 1998). Dois estudos compararam a associação de níveis baixos de 25(OH)Vitamina D (ou calcidiol, que é o precursor do calcitriol), e a esquizofrenia humana. O primeiro observou que a suplementação com vitamina D levou a uma significativa redução dos riscos de homens desenvolverem esquizofrenia, enquanto que em mulheres não se constatou diferenças. (McGrath, et al, 2004). O segundo estudo analisou variantes genéticas no VDR de uma população de 100 pessoas com esquizofrenia. Dois dos 14 afro-americanos pertencentes ao estudo possuiu

variações genéticas no VDR, enquanto os afro-americanos controles não apresentaram nenhum tipo de variação (McGrath, et al, 2003).

Apesar da 1,25(OH)₂Vitamina D ser o metabólito ativo da Vitamina D, a reserva desta vitamina de um organismo é avaliada pela dosagem da 25(OH)Vitamina D, que é o pré-hormônio imediatamente precursor daquela.

Este trabalho visa determinar os níveis da 25(OH)Vitamina D de animais da espécie *Callithrix penicillata* e estudar se estes níveis sofrem variação de acordo com o gênero e com a intensidade e frequência de exposição destes animais à luz solar .

O foco principal deste estudo é chamar a atenção para o bem-estar e à manutenção da qualidade de vida daqueles animais que vivem em cativeiro, disponibilizando, sempre que possível, um recinto adequado à criação dos mesmos, onde seja possível sua comparação com a vida natural do animal, uma vez que uma adequada exposição solar é fundamental para a síntese da vitamina D e, conseqüentemente, para um adequado desenvolvimento do esqueleto, do metabolismo do cálcio e fósforo e da competência imunológica destes primatas.

Quanto à nutrição dos animais de cativeiro existe uma série de fatores que devemos levar em consideração, principalmente quando possuímos diferentes espécies. Crissey et al, 2003 afirmaram que devemos levar em consideração as informações sobre a alimentação de cada espécie em seu ambiente natural, para que exista a possibilidade de fazer a mesmas ofertas para os animais cativos, buscar informações sobre as exigências nutricionais apresentadas por esses animais em publicações científicas, determinar a disponibilidade dos alimentos nas regiões em que os animais ocupam e por fim a preferência de alimento de cada uma das espécies.

Atualmente encontram-se mais informações qualitativas, que são mais dirigidas aos tipos de alimentos consumidos na natureza, em relação às quantitativas, que dão ênfase aos detalhes nutricionais. Desta forma, diversas generalidades sobre dieta têm sido aplicadas à vida em cativeiro. (Crissey, 2003).

Rosenberger, 1992, notou que na época da seca os calitriquídeos podem perder até 15% do peso corporal. Para suprir essas perdas alguns podem consumir mais de 38 espécies de insetos. Também se alimentam de pererecas, pequenos mamíferos, e ocasionalmente passarinhos (Heymann e Smith. 2000). Há também investigações a respeito da alimentação viva destes animais demonstrando a captura de invertebrados como tetigonídeos, proscopídeos, aracnídeos, anurídeos e squamatas, presas consumidas pelos sagüis, micos e micos-leões. A dieta pode variar consideravelmente dentro da espécie e essas mudanças podem ser conseqüências de mudanças sazonais, da disponibilidade de alimento e distribuição. Alguns sagüis e micos-leões podem consumir terra como fonte de mineral (Heymann. 2000)

Smith et al, 2000, analisaram gomas ingeridas por *Saguinus mystax* e *Saguinus fuscicollis*, animais selvagens pertencentes à família dos calitriquídeos, e encontraram alta concentração de cálcio, sugerindo que este elemento é importante para o balanço geral das altas concentrações de fósforo em sua dieta.

Alguns calitriquídeos possuem superfície externa do ceco com presença de sulcos profundos e superfície interna rugosas em formas arredondadas, já animais como o *Leothopithecus chrysomelas* possuem superfície externa lisa com sulcos discretos, superfície aveludada e poucas cristas (Coimbra-Filho, et al, 1980). Todas estas diferenciações anatômicas podem influenciar no tipo de alimentação a ser distribuída para os animais e a necessidade de alimento para cada espécie. Existem alimentos que para uma espécie podem ser mais satisfatórios quando comparadas a outras espécies.

2. Revisão da Literatura

2.1 Metabolismo da Vitamina D

Inicialmente, a vitamina D foi classificada como uma vitamina *-vital amina*, ou amina vital, termo cunhado pelo cientista polonês Casimir Funk em 1912, designando uma substância que não pode ser produzida pelo organismo, mas essencial ao seu metabolismo, sendo necessária sua aquisição através da dieta. Estudos posteriores mostraram que esta substância pode ser produzida endogenamente e seu processo de síntese, atividade e catabolismo permitem classificá-la como um hormônio, uma vez que é sintetizada em células com uma maquinaria enzimática específica, liberada na circulação sanguínea, reconhecida por receptores específicos, aos quais se acopla e induz a uma resposta biológica.

Um fato interessante é que a vitamina D é encontrada nos seres atualmente vivos mais primitivos na escala da evolução e que se expõem ao sol, como a *Emiliana huxleyi*, que é um organismo unicelular do fitoplancton que apresenta uma carapaça de carbonato de cálcio e que manteve sua estrutura preservada nos últimos 750 milhões de anos (Holick et al, 2003).



Figura 2: *Emiliana huxleyi*

Sob a denominação de Vitamina D, englobam-se vários pré-hormônios e hormônios secoesteróides, que são derivados da molécula do colesterol e que tiveram um dos anéis do ciclo pentanofenantreno quebrado. Os pré-hormônios precursores naturais são a Vitamina D₂ e a Vitamina D₃, sendo os demais (vitaminas D₁, D₄ e D₅) substâncias artificiais. Os membros deste grupo são:

- vitamina D₁: formada por uma proporção equimolecular de vitamina D₂ e lumisterol.
- vitamina D₂ (ergocalciferol): derivada do ergosterol, que é um esteróide vegetal
- Vitamina D₃ (colecalfiferol): derivada do colesterol, que é um esteróide animal
- Vitamina D₄ (22, 23 diidroergocalciferol): derivada do ergocalciferol
- Vitamina D₅ (sitocalciferol): derivado do 7-deidrositosterol
- 25(OH)Vitamina D (calcidiol): precursor imediato do calcitriol; representa a reserva de Vitamina D do organismo
- 1,25(OH)₂Vitamina D (calcitriol): forma ativa da Vitamina D

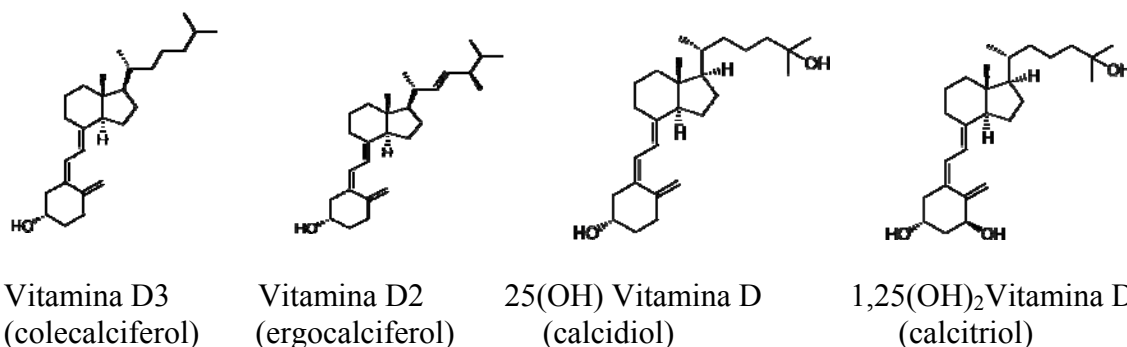


Figura 2: Estruturas químicas dos principais precursores e do metabólito ativo da Vitamina D.

A vitamina D é um hormônio essencial ao desenvolvimento, crescimento e à manutenção da qualidade dos ossos dos vertebrados, pois é um importante regulador de níveis de cálcio e fósforo no organismo. Entretanto, para que a vitamina D exerça sua função é preciso que os pré-hormônios precursores sofram processos de ativação em diferentes tecidos do organismo. O conhecimento destes processos é fundamental para se entender a fisiopatologia das doenças associadas à hipovitaminose D.

Em humanos, cerca de 80 a 90% da vitamina D necessária ao metabolismo é sintetizada endogenamente a partir de reações iniciadas em camadas profundas da derme. Os 10 a 20% restantes são adquiridos através da dieta (St-Arnaud et al, 2003).

Os precursores da forma ativa da vitamina D provêm de duas fontes:

- (1) da vitamina D3 (colecalciferol), a qual é sintetizada na pele dos animais a partir da ação dos raios solares ultravioleta sobre o 7-deidrocolesterol armazenado na derme.
- (2) da ingestão de vitamina D2 (ergocalciferol) e D3, obtidas de alguns peixes gordurosos, fungos e vegetais.

A figura 3 ilustra os principais processos metabólicos envolvidos na ativação da vitamina D e os tecidos nos quais ela atua.

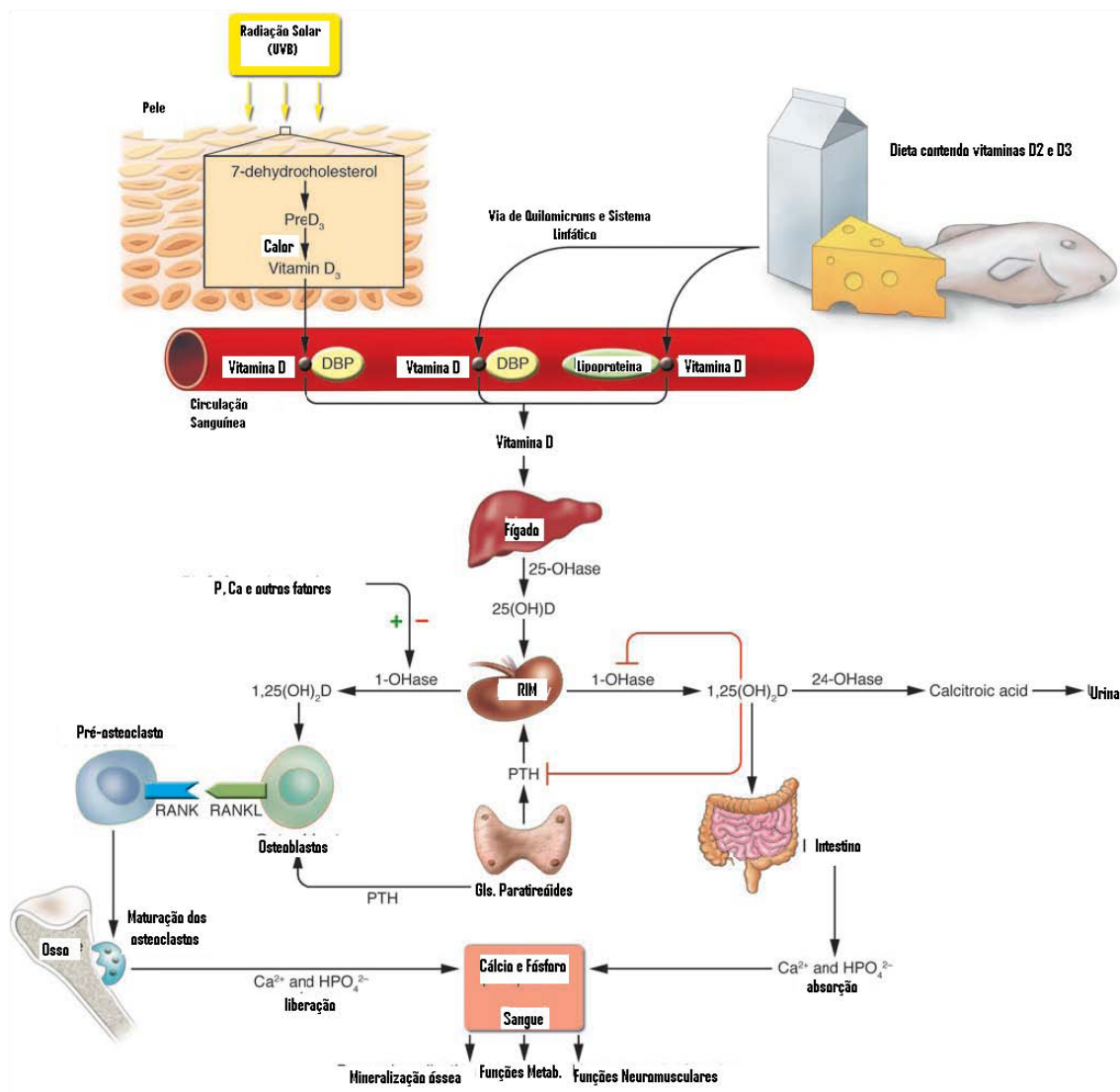


Figura 3: A figura acima esquematiza o metabolismo da vitamina D e apresenta alguns elementos como minerais e hormônios que são afetados pela ação da vitamina D. Demonstra desde suas primeiras hidroxilações até o seu envolvimento na absorção de cálcio e sua ação em vários outros tecidos do corpo. Observa-se o caminho fisiológico da vitamina D, desde sua ativação na pele até o seu destino final, cujo objetivo é aumentar e auxiliar a absorção de cálcio intestinal para a corrente sanguínea, e seu transporte para os principais órgãos envolvidos em seu metabolismo: fígado, rins, glândulas paratireóides e osso. Fonte: Adaptado de Holick, 2006.

2.2 Fisiologia da Vitamina D:

A seguir, explica-se o mecanismo de ativação dos precursores da vitamina D até chegar na forma ativa, o calcitriol.

Os fótons da radiação solar ultravioleta B (UVB) penetram na epiderme e promovem uma reação fotolítica na molécula do 7-deidrocolesterol (colesterol com uma ponte dupla adicional no anel B), que é sintetizado a partir do acetato e armazenado na pele. O 7-deidrocolesterol sofre clivagem desta ponte dupla entre os carbonos nas posições 9 e 10, convertendo-se em pré-vitamina D, que é uma molécula instável, a qual se transforma em seguida em uma molécula mais estável termodinamicamente, a vitamina D₃, que é biologicamente inerte (figura 4).

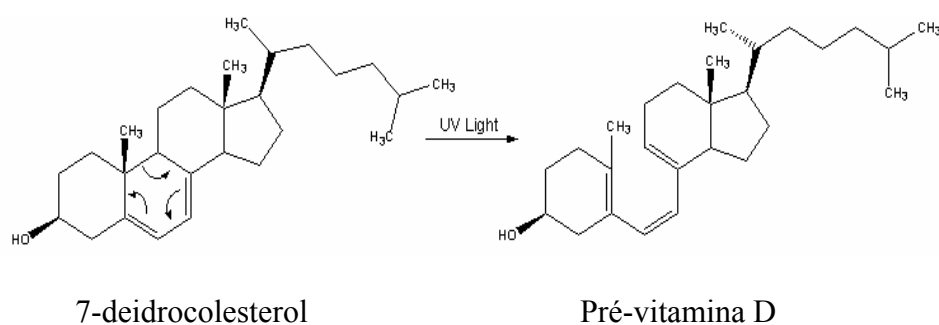


Figura 4: Molécula de 7-deidrocolesterol absorvendo o fóton da radiação UVB, ocorrendo uma reação con-rotatória electrocíclica no anel B com quebra posterior deste anel, originando a pré-vitamina D₃

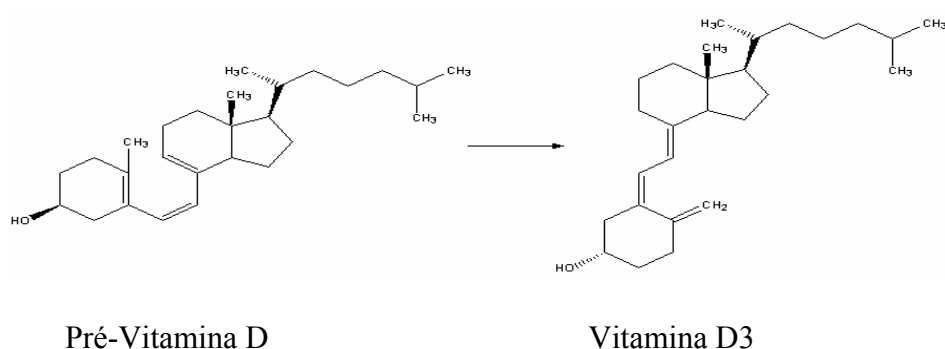


Figura 5: Molécula instável da pré-vitamina D₃ sendo isomerizada por uma reação sigmatrópica, originando uma molécula mais estável, a Vitamina D₃

A vitamina D₃ é eliminada dos queratinócitos para a circulação sanguínea. Como é uma substância lipofílica, ela está ligada à proteína ligadora da vitamina D (DBP, do inglês *Vitamin D binding protein*) ou transcalfiferina, e transportada ao fígado, onde sofrerá sua primeira hidroxilação pela enzima 25-hidroxilase, que é uma enzima da super família das enzimas do citocromo P450 (CYPP450). Esta enzima introduz um grupo hidroxila (OH) no carbono 25, transformando a vitamina D₃ em 25(OH)vitamina D₃ [também chamada 25(OH)D ou calcidiol]. As enzimas do CYP450 são oxidases que contêm um grupo heme e que utilizam o oxigênio molecular como receptor final de elétrons. Elas requerem proteínas acessórias para a transferência de elétrons, ferridoxina e ferridoxina redutase, para receber os equivalentes reduzidos da adenina nicotinamida dinucleotídeo fosfato (NADPH) e hidroxilar os metabólitos da vitamina D (figura 5). A 25(OH)D é a forma circulante mais abundante dessa vitamina e serve como substrato para a segunda etapa na ativação da vitamina D (St-Arnaud et al, 2003).

Posteriormente, a 25(OH)D ganha novamente a circulação sanguínea, ligada à transcalfiferina, e é transportada para os rins, onde nos túbulos renais sofre nova hidroxilação pela enzima 1- α -hidroxilase, também componente da superfamília CYP450, convertendo 25(OH)D em sua forma ativa, a 1,25(OH)₂-Vitamina D (ou calcitriol). Nos rins a 25(OH)D também pode sofrer hidroxilação no carbono 24, produzindo 1,24,25(OH)₃ vitamina D, que é um metabólito inativo. Esta hidroxilação no carbono 24 funciona como um mecanismo de controle, para evitar a síntese excessiva de calcitriol, que culminaria com efeitos de hipervitaminose D.

Enquanto a idéia clássica é de que 24,25(OH)₂D seja um metabólito inativo da vitamina D cujo objetivo é inativar a 25(OH)D circulante e regular a síntese de calcitriol, há

trabalhos que sugerem que este metabólito tenha importante ação no reparo de fraturas ósseas (Norman, 1994).

A principal função da vitamina D é manter os níveis séricos de cálcio em um nível aceitável para maximizar uma ampla variedade de funções metabólicas, funções de transdução e funções relacionadas a atividades neuromusculares. No intestino o $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ faz com que a absorção de cálcio seja estimulada através do canal epitelial de cálcio (ECaC – *Epithelial Calcium Channel*), presente nos enterócitos do intestino delgado, e este elemento é então lançado na circulação sanguínea. Existem várias proteínas presentes para a iniciação deste mecanismo de penetração do cálcio na corrente sanguínea, dentre elas se destaca a calbidina-D, proteína obrigatória para que a passagem seja realizada. Tanto o transporte do cálcio e do fósforo ocorre no intestino delgado, mais precisamente, a absorção de fósforo ocorre no jejuno e íleo, diferentemente do cálcio que possui como local principal de transporte a região do duodeno. O resultado disto é que há uma diferença entre as proporções de cálcio e fósforo absorvidas. Quando há uma situação de deficiência de vitamina D não mais de 10 a 15% da dieta rica em cálcio e 60% da dieta rica em fósforo é absorvida no trato gastrointestinal. Em situações de hipocalcemia, a $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ age nos osteoblastos, resultando em um sinal de transdução que induz a expressão de RANK-L (ligante do receptor ativador do fator nuclear kappa B), presente nos pré-osteoclastos. Com este sinal os pré-osteoclastos se fundem formando os osteoclastos maduros, que são células multinucleadas. Os osteoclastos liberam ácido hidrocloreídrico e enzimas proteolíticas na matriz óssea, dissolvendo os cristais de hidroxapatita e liberando cálcio para o espaço extracelular.

A $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ não tem uma ação direta no processo de mineralização óssea, estando apenas responsável por manter os níveis de cálcio e fósforo no sangue em um nível que

permita uma mineralização adequada. A $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ tem efeitos diretos na atividade dos osteoblastos, aumentando a expressão da fosfatase alcalina, da osteocalcina e uma ampla variedade de citocinas.

Análogos da vitamina D vêm sendo desenvolvidos com poderes anabólicos e estão sendo avaliados para o tratamento de osteoporose (Schwartz, et, al 2003). A primeira observação feita por Apperly (1941) foi confirmada por vários pesquisadores. Mais recentemente Grant relatou que o aumento da exposição solar diminui mortalidade por câncer em ambos os sexos (Grant e Holick, 2005). Estas observações são também apoiadas por Luscombe et al, 2001, que relatam que homens que tinham pouca exposição solar desenvolveram câncer de próstata 3-5 anos mais cedo do que os homens que tiveram uma maior exposição a luz solar.

Na figura 6, podemos observar um esquema que mostra a ação da $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ em órgãos diferentes: no pâncreas, estimulando a produção de insulina; nos rins, promovendo a regulação negativa da produção de renina para o controle da pressão arterial; nos linfócitos, modulando a imunidade; e no mecanismo de controle de proliferação e diferenciação celular na próstata, na mama e no cólon. A forma ativa da vitamina D (calcitriol) não é sintetizada exclusivamente no tecido renal, podendo também ser sintetizada em outros tipos celulares como, macrófagos, células da mama, do cólon e na próstata, regulando os processos de diferenciação e proliferação destas células. Especialmente nos macrófagos dos mamíferos, a $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ estimula a produção de um antibiótico natural, a catelicidina, que destrói alguns agentes infecciosos, como o *Micobacterium tuberculosis*. Por isso, no início do século passado, antes da descoberta dos antibióticos anti-tuberculose (que aconteceu na década de 1940), as pessoas que tinham tuberculose eram encaminhadas para sanatórios

localizados em regiões serranas e ensolaradas (como Campos do Jordão-SP), onde a exposição ao sol fazia parte do tratamento (Bertolli, 2003).

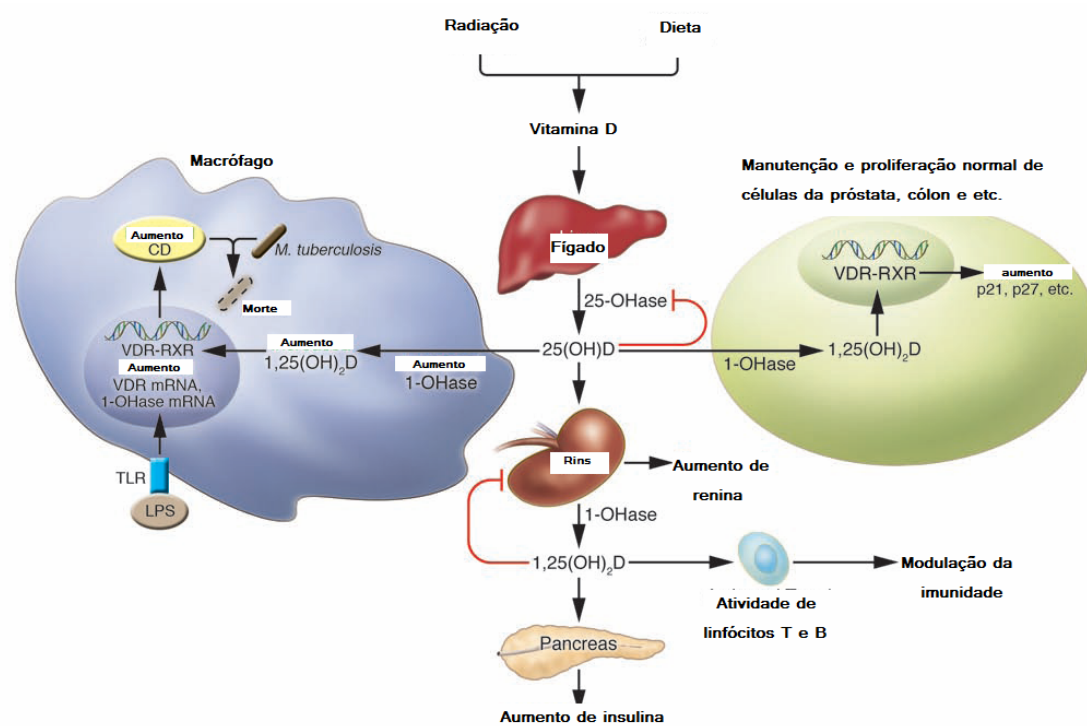


Figura 6: Funções não-calcêmicas da 1,25(OH)₂D. Adaptado de Hollick. 2006.

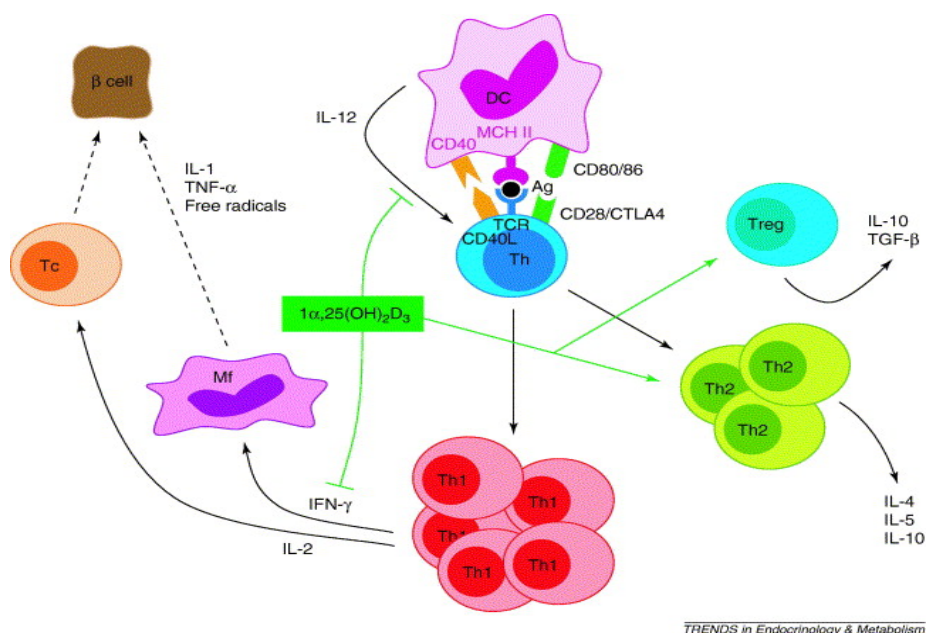


Figura 7: Mecanismo de ação da Vitamina D na proteção contra doenças auto-imunes, incluindo o diabetes mellitus tipo 1. Nas células apresentadoras de antígeno (tais como as células dendríticas – DC), o calcitriol inibe a expressão de superfície dos antígenos complexados MHC da classe II e das moléculas co-estimulatórias. Além disso, promove a produção de IL-12 (interleucina 12), mudando indiretamente a polarização das células T precursoras de uma modulação Th1 para Th2. A $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ apresentam efeitos imunomodulatórios diretos nas células T, inibindo a produção de citocinas Th1 (IL-2 e IFN- γ) e estimulando a produção de citocinas Th2 (IL-4, IL-5 e IL-10). A $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ainda favorece a indução de células T regulatórias. Tanto as células Th2 e regulatórias podem inibir as células Th1 através da produção de citocinas inibitórias. Juntos, estes efeitos imunomodulatórios da $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ podem auxiliar na proteção de tecidos-alvo, tais como as células β do pâncreas, em doenças auto-imunes e em transplantes. CD40L, ligante do CD40; macrófago, célula T citotóxica; TGF- β , fator de crescimento transformante β ; Th1, célula T auxiliar tipo 1; TNF-, fator de necros tumoral ; T, célula T regulatória. TRENDS 2005.

O calcitriol exerce um efeito particular sobre o metabolismo ósteo-mineral do corpo: aumenta a absorção do cálcio e do fósforo, estimula a reabsorção renal do cálcio e inibe a reabsorção renal de fósforo. A produção do calcitriol é intimamente ligada ao requerimento de cálcio pelo corpo, isto é, situações de hipocalcemia estimulam a liberação do paratormônio-PTH pelas glândulas paratireóides que é a substância que sinaliza diretamente a síntese da vitamina. Alguns estudos *in vitro* demonstram que o calcitriol tem um efeito antiproliferativo nas células paratireóides (Ishimi et al, 1990). Nas últimas décadas tornou-se crescentemente claro que o calcitriol não é meramente

um hormônio que circula no corpo e regula o metabolismo do cálcio e osso, mas que também é um fator para-endócrino que é ativo em mais de 30 tipos de tecidos (Norman et al, 1994). Receptores para o calcitriol são encontrados não apenas nos tecidos-alvos clássicos (enterócitos intestinais, osteoblastos e nas células dos túbulos renais distais), mas também em vários outros tecidos (macrófagos, células T, células beta-pancreáticas) indicando que o calcitriol intervém no crescimento celular e na diferenciação de outras células (Reichel, et al, 1991).

Como a maior parte da vitamina D circulante nos organismos se origina da síntese na pele, a exposição à luz solar é fundamental para sua biossíntese adequada. Uma exposição solar insuficiente pode comprometer o metabolismo da vitamina D e, conseqüentemente, outras funções orgânicas, predispondo ao raquitismo, à osteomalácia e à queda da competência imunológica dos animais.

A reserva de vitamina D de um organismo é avaliada através da dosagem da 25-(OH)D. Atualmente ainda não há na literatura veterinária um valor normal estabelecido de 25(OH)D para primatas da espécie *Callithrix penicillata*.

2.3 A espécie

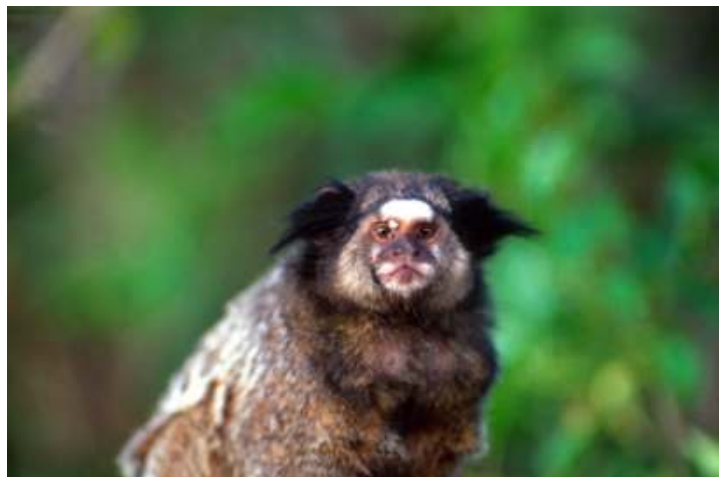


Figura 08: *Callithrix penicillata*

Nos últimos 30 anos, o estudo dos primatas tem recebido grande atenção, talvez devido à sua semelhança anatômica, fisiológica e etológica com a espécie humana, conhecimento que certamente auxiliou nosso próprio crescimento cultural. À medida que estes estudos foram se desenvolvendo, muito se descobriu acerca da fragilidade em que se encontram a maioria das espécies, devido principalmente, à destruição do ambiente onde vivem (Auricchio, 1995).

A diversidade na estrutura (variedade de tamanhos e formas), comportamento e ecologia dos primatas é refletida pelas diferenças no hábitat, dieta, hábitos locomotores e organização social. Autores têm classificado os primatas na subordem Prosimii (próssimios) e Anthropoidae (macacos), esta última dividida nas infra-ordens Platyrrhini (macacos do novo mundo) e Catarrhini (macacos do velho mundo e humanóides).

Os macacos do Novo Mundo compreendem as espécies que vivem exclusivamente nas florestas tropicais das Américas do Sul e Central. São macacos de tamanho pequeno a

médio (100g a pouco mais de 10 kg), arborícola, que possuem locomoção predominantemente quadrúpede, com algumas espécies apresentando cauda preênsil.

Eles compartilham algumas características comuns como; a presença de três dentes pré-molares, anel timpânico fusionado a bula auditiva (Fleagle, 1999). O nome do táxon (platis ou platus = achatado, largo e rhis ou rhino = nariz) indica o formato do nariz destes animais, largo e achatado com narinas dispostas mais lateralmente, em oposição aos macacos do Velho Mundo e humanóides. Esta infra-ordem possui quatro famílias: Cebidae, Aotidae, Pitheciidae e Atelidae (Grooves, 2001).

O *Callithrix penicillata* é um animal de pequeno porte, com o peso variando entre 300 a 400 gramas, de fácil manejo, pois se alimentam pouco e necessita de um espaço não muito amplo para sua criação e ainda por apresentar índices de reprodução em cativeiro, podendo ter até duas gestações por ano e na maioria das vezes gestações múltiplas com até três filhotes. Por estas características vem chamando a atenção para se tornar um grande modelo experimental para pesquisas científicas. A característica mais marcante para esta opção se deve à sua similaridade com o homem genética e fisiologicamente.

Os sagüis são pequenos primatas neotropicais que se adaptam bem à vida em cativeiro. A subfamília Callitrichinae é um grupo que abriga seis gêneros, de acordo com a classificação de Rylands et al. 2000: *Callimico*, *Callithrix*, *Cebuella*, *Leontopithecus*, *Mico* e *Saguinus*. Os calitriquídeos têm um tamanho corporal reduzido, com adultos pesando de 120g, no gênero *Cebuella*, a mais de 600g, nos gêneros *Callimico*, *Leontopithecus* e *Saguinus* (Garber et al, 1996). Possuem unhas em forma de garras; redução (*Callimico*) ou ausência do terceiro molar, caudas longas e não-preênsis. Com exceção de *Callimico*, a gestação é gemelar, um aspecto fundamental da

evolução de um complexo de comportamento sócio-sexual que subsidia a criação cooperativa da prole.

Para criação em cativeiro, os calitriquídeos levam vantagem em comparação com outros primatas maiores, por demandar menor espaço físico, menor custo de manutenção, fácil manejo e menor risco ao manipular os animais. Além disto, têm reprodução e crescimento rápidos, podendo ter dois partos por ano e chegar à idade reprodutiva no segundo ano de vida.

Algumas sugestões têm sido apresentadas em relação às formas de melhorias do bem-estar de primatas em cativeiro, através do enriquecimento físico e social (Bercovitch et al, 1990), embora nenhum consenso exista sobre a quantidade e variedade de enriquecimento ambiental físico necessário para se alcançar um nível aceitável de bem estar psicológico entre primatas cativos. Um dilema ainda mais desafiador é equilibrar o sistema de manejo, que possibilite o bem estar dos animais, com os protocolos de pesquisa (Reinhardt et al, 1988; Bloom & Cook, 1989 e Bercovitch et al, 1990).

O gênero *Callithrix* apresenta seis espécies (Rylands et al, 2000) todas endêmicas do Brasil. Para este estudo trabalhou-se com a espécie *Callithrix penicillata* (Geofroy, 1812) que vivem na Mata Atlântica, na caatinga e no cerrado brasileiro. Os micos ou sagüis são animais de pequeno porte, com peso entre 300 e 450g. Sua coloração é um misto cinza/preto/avermelhado, caracterizando-se pela presença de tufos auriculares e por uma mancha branca na testa (Stevenson & Rylands, 1988; Vivo, 1991). São primatas arborícolas que habitam várias fisionomias florestais (Stevenson & Rylands, 1988) podendo ocorrer inclusive em vegetação secundária, perturbada e fragmentada (Rylands & Faria, 1993). Sua dieta inclui frutos, insetos, néctar e exsudatos de plantas (goma, resina e látex), podendo alimentar-se também de flores,

sementes, moluscos, ovos de aves e pequenos vertebrados (Stevenson & Rylands). Formam grupos de compostos por 2 a 13 indivíduos, com mais de um casal de adultos, jovens e infantes, mais normalmente com apenas uma fêmea reprodutora (Rylands, 1989; Stevenson & Rylands, 1988).

Os sagüis do gênero *Callithrix* podem viver em grupo poliândricos, poligínicos e monogâmicos (Digby e Ferrari, 1994), apresentando como característica social o cuidado da prole, particularmente pelos machos adultos. Isto tem sido considerado uma estratégia da fêmea dominante para minimizar o alto gasto de energia da reprodução e, assim, aumentar o sucesso reprodutivo. O período de gestação é de aproximadamente 5 meses, com cio pós-parto, levando a um intervalo entre nascimentos de 5 a 6 meses (Biccamarques et,al. 2003). Os nascimentos em cativeiro de *C. jacchus* e *C. penicillata* concentram-se entre setembro–outubro e março–abril. Normalmente dão a luz a gêmeos dizigóticos, mas também pode ocorrer nascimento de um ou três filhotes (Sussman, 2000).

2.4 Metabolismo da Vitamina D em Primatas

Ao contrário de outros antropóides, os primatas do novo mundo são incapazes de utilizar eficientemente a vitamina D proveniente de plantas (vitamina D₂ - ergocalciferol) fazendo com que a vitamina D deva ser oferecida junto à sua dieta de cativeiro (Marx et al, 1989). Estes animais são extremamente tolerantes a níveis muito altos de vitamina D em sua dieta, sem nenhum efeito adverso aparente, enquanto para a maioria de outras espécies estes níveis poderiam ser tóxicos. Níveis circulantes de metabólitos da vitamina D como a 25(OH)D e 1,25(OH)₂ vitamina D são de duas a dez vezes maiores quando comparamos primatas do novo mundo em cativeiro com humanos saudáveis (Gacad et al, 1992). No entanto, níveis séricos de 25(OH)D são muito variáveis entre primatas do novo mundo aparentemente saudáveis. Alguns calitriquídeos sem sinais de patologias aparentes podem ter concentrações de 25(OH)D que em humanos seriam consideradas como hipervitaminose D (Yamaguchi et al, 1986).

Recentemente tem sido dada uma atenção a espécie para uma enfermidade clínica, o raquitismo dependente de vitamina D tipo II. A doença se caracteriza por uma desordem da atividade da 1- α hidroxilase comprometendo a síntese da forma ativa da vitamina D. Na busca de um modelo animal para o estudo da patogênese do raquitismo vitamina D-dependente tipo II descobriu-se que os calitriquídeos, primata do novo mundo, têm um elevado nível sérico de 1,25(OH)₂ D, não apresentando um quadro de hipercalcemia, servindo como um modelo experimental para a doença (Toshimasa et al, 1983).

A prevenção de doenças osteometabólicas em primatas cativos, especialmente calitriquídeos, é uma tarefa importante, pois estas estão entre as principais enfermidades que aparecem nas colônias.

A quantidade de colicalciferol para calitriquídeos é de 110UI por dia para cada 100 gramas de peso vivo do animal. Alguns trabalhos vem demonstrando que a quantidade de 1,25(OH)₂D em calitriquídeos é muito maior quando comparadas a humanos e a macacos *Rhesus sp.* sem que os calitriquídeos apresentem uma reação de hipercalcemia. (Toshimasa et al, 1983).

Outra diferença importante quanto ao metabolismo da vitamina D nos primatas do novo mundo reside no fato de que estes animais são extremamente tolerantes a níveis muito altos de vitamina D em sua dieta, sem nenhum efeito adverso aparente, enquanto para a maioria de outras espécies estes níveis seriam tóxicos. Níveis circulantes de metabólitos da vitamina D como 25(OH)D e 1,25(OH)₂- vitamina-D são de duas a dez vezes maiores quando comparamos primatas do novo mundo em cativeiro com humanos saudáveis (Gacad et al, 1992). No entanto, níveis séricos de 25(OH)D são muito variáveis entre primatas do novo mundo aparentemente saudáveis. Alguns calitriquídeos sinais de patologias aparentes podem ter concentrações de 25(OH)D que em humanos seriam consideradas hipervitaminoses (Yamagushi et al, 1986). A prevenção de doenças osteometabólicas em primatas cativos, especialmente calitriquídeos, é uma tarefa importante, pois estão entre as principais enfermidades que aparecem nas colônias.

O desenvolvimento de pesquisas sobre fisiologia da vitamina D é importante para o reconhecimento dos níveis normais deste hormônio e permitiria o diagnóstico precoce de sua insuficiência ou de doenças ligadas a distúrbios da vitamina D. No

entanto, definir a variabilidade normal dos níveis séricos da vitamina D em primatas do novo mundo torna-se difícil devido a falta de informações sobre níveis normais para esta espécie.

Adams et al, 1985, comparou os níveis da $1,25(\text{OH})_2$ Vitamina D entre primatas do velho mundo da sub-ordem Platyrrhini (chipanzés, gorila, orangotangos e outros) e primatas do novo mundo da sub-ordem gênero Catharrhini (macacos-prego, micos, macacos-aranha, e outros) sendo ao todo 44 animais, 23 do novo mundo e 21 do velho mundo. Como resultado observou que primatas do novo mundo apresentam índices bem mais elevados de $1,25(\text{OH})_2$ Vitamina D quando comparados aos primatas do velho mundo. Dentro do grupo de primatas do novo mundo foram avaliados seis *Callitrix jacchus*, animal apenas com diferenças na coloração dos pêlos auriculares, quando comparados ao *Callitrix penicillata*. Estes 6 animais apresentaram níveis de $1,25(\text{OH})_2$ Vitamina D compreendidos entre 300 pg/ml e 800 pg/ml. O valor médio da $1,25(\text{OH})_2$ Vitamina D e da $25(\text{OH})\text{D}$ foram, respectivamente, entre os primatas do novo mundo de 810 ± 119 pg/ml e $134,0 \pm 23,8$ ng/ml enquanto entre os primatas do velho mundo foi de 61 ± 5 pg/ml e $33,8 \pm 5,3$ ng/ml.

Objetivos

3. Objetivos

1- Dosar os níveis séricos da 25(OH) vitamina D em grupos de primatas da espécie *Callithrix penicillata* em condições diferentes de cativeiro quanto à exposição à luz solar: com exposição plena, exposição parcial e ausência de exposição.

2- Determinar se os níveis séricos da 25(OH)Vitamina D encontrados nestes animais mostram correlação com diferenças quanto à intensidade e frequência de exposição solar.

3- Determinar se os níveis da 25(OH)Vitamina D destes animais são dependentes do gênero dos mesmos.

4- Discutir a proposta de uma faixa de valores normais de 25(OH) Vitamina D para animais da espécie *Callithrix penicillata* criados em cativeiro.

Metodologia

4. Metodologia

4.1 Locais do Estudo

A) Centro Nacional de Primatas (CENP)



Figura 09: Centro Nacional de Primatas – Ananindeua – PA.

O Centro Nacional de Primatas – CENP é uma Instituição que foi criada em 15 de março de 1978, através da Portaria Ministerial 115/BSB por intermédio de convênio firmado entre o Ministério da Saúde, da Agricultura, Organização Pan-Americana da Saúde e a Organização Mundial da Saúde, e está entre os dez maiores Centros de Primatologia do mundo, ocupando uma área de 25 hectares no município de Ananindeua – Pará. Sua criação deve-se entre outras razões à racionalidade apresentada na época pelos países africanos e asiáticos, responsáveis pela manutenção de macacos para pesquisas.

A instituição conta atualmente em seu plantel com primatas não-humanos pertencentes à Região Amazônica, Mata Atlântica e uma espécie exótica (*Clorocebus aethiops*, oriunda do continente africano). Dentre as espécies presentes no centro de pesquisa

estão alguns representantes da família Cebidae (calitriquideos, cebídeos, saimiris, micos entre outros), da família Pitheciidae e da família Atelidae, todos estes fazendo parte de fauna brasileira. Com cerca de 700 animais distribuídos em galpões de reprodução e experimentos e uma área própria para visitação e destinada   área de conserva o de várias espécies de primatas não humanos, o centro   considerado a maior estrutura criada no Brasil para estes fins. A grande variedade de espécie presente no centro, cerca de 30 espécies  , de forma geral, de grande interesse tanto para pesquisadores como para eventuais visitantes. Na  rea técnica existem galpões de reprodu o, quarentena, experimento, complexo clínico-cirúrgico, laboratorial, cozinha de manipula o de alimentos, lavanderia, dique e inset rio.

Os animais são mantidos em galpões de alvenaria com aproximadamente 70x15 metros abrigoando cerca de até 100 animais. De acordo com a pesquisa que esta sendo desenvolvida. Neles estão presentes sempre animais dos mesmos g neros e estado de saúde. Para isso, existem dois tipos de galpões distintos, os galpões para experimenta o e os galpões de reprodu o. Nos galpões de experimenta o s    permitida a entrada com autoriza o da dire o pelo fato de serem realizadas pesquisas com efeitos zoonóticos ou pesquisas que possui grande risco de contamina o humana. Caso haja a presença de um animal com estado de saúde comprometido, este   encaminhado até a clínica veterinária, onde recebe cuidados específicos, sendo alojado em um viveiro separado até sua melhora e retorno para o galpão. Todos os galpões possuem a mesma estrutura física com uma mudança para os galpões de experimenta o, o qual   vedado por completo impedindo o contato do ambiente interno com o ambiente externo. Nos galpões de reprodu o, em sua parte lateral, existem telas para que seja possível a entrada de corrente de ar, deixando desta forma o ambiente mais arejado e com um menor grau de infec o. Todos estes galpões possuem uma ante-

sala para a paramentação de veterinários e tratadores, sendo indispensável o uso de equipamento de proteção individual (EPI) neste setor. Cada galpão possui quatro tratadores responsáveis pela alimentação, higienização e observação de todos os animais presentes no galpão.

Todos os galpões seguem a mesma conformação do modelo ilustrado na figura 10 logo abaixo, sendo todos os galpões dispostos em um mesmo sentido, sendo suas partes laterais voltadas para leste e oeste, a porta de acesso ao galpão voltado para o sul e os fundos voltados para o lado norte. Esta disposição faz com que as partes laterais dos galpões, onde estão localizados os animais das gaiolas externas, recebam uma quantidade maior de raios solares no início da manhã e no final da tarde. As gaiolas voltadas para parte interna do galpão, por sua vez, não recebe nenhum tipo de contato com a luz solar, não permitindo com que os animais localizados nesta área recebam raios ultravioletas.

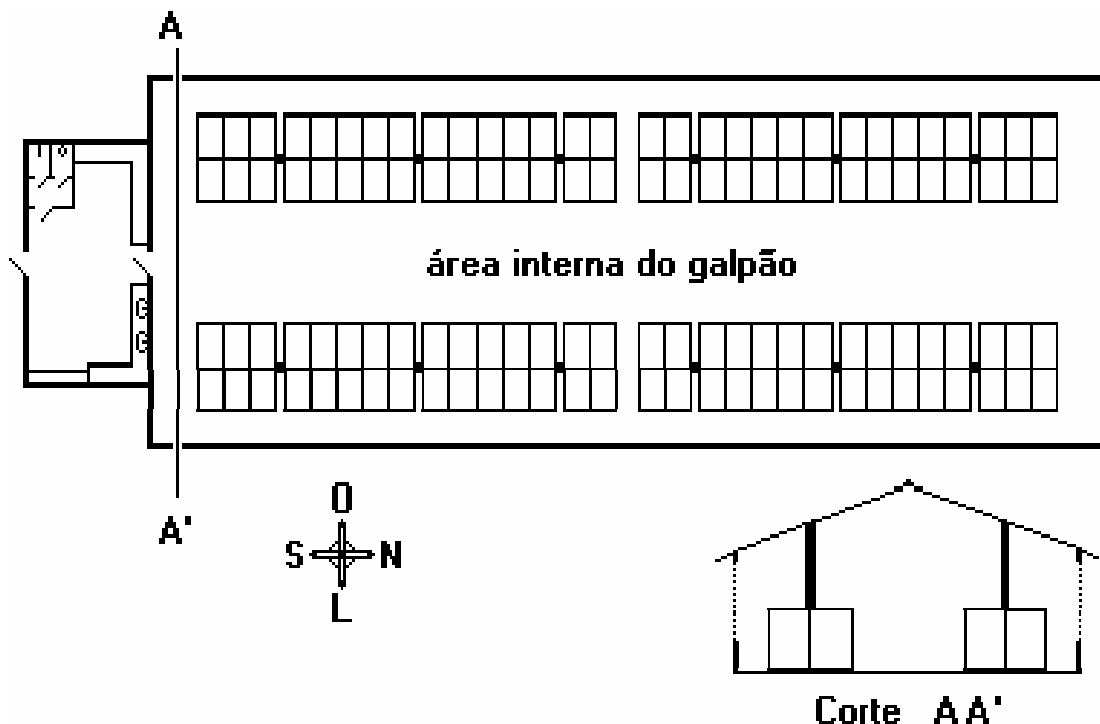


Figura 10: Planta baixa do galpão de reprodução (CENP - PA). Nela observamos a disposição do galpão em relação ao sol. Pode-se observar que as gaiolas voltadas para parte externa do galpão apresentam um maior contato com os raios do nascer do sol e os raios solares poentes. As gaiolas voltadas para a parte interna do galpão ficam impossibilitadas do contato com a luz solar, como consequência, a ausência de raios UV com animais presentes nestes recintos.

Na parte interna dos galpões os animais são alocados em gaiolas geralmente com um casal e sua cria, podendo encontrar até mais de uma cria por viveiro. As gaiolas são de chapa de aço inox sendo gradeada na parte da frente e em suas laterais com chapas de aço para evitar brigas entre famílias vizinhas. Cada viveiro possui em sua parte frontal um espaço para que sejam colocadas as vasilhas com frutas, uma parte onde é colocado o bebedor, que é abastecido com água rotineiramente e uma terceira parte onde se encontra a caixa-abrigo. Existe ainda na parte frontal do recinto uma porta de acesso para os funcionários por onde se tem acesso a todo o viveiro, permitindo a limpeza na parte interna ou ainda, se necessário, fazer a captura de um dos indivíduos. Na parte interna do viveiro observa-se o chão com azulejos cobertos por serragem, sendo usado como substrato e propiciando um aumento da temperatura no recinto. Esta é substituída quinzenalmente por serragens novas que antes de ir para os recintos são

esterilizadas. São colocados troncos de madeiras nos sentidos verticais e horizontais para que os animais aproveitem todo o espaço que o recinto oferece. A parte superior da gaiola também recebe um gradeado inoxidável permitindo a lavagem diariamente.

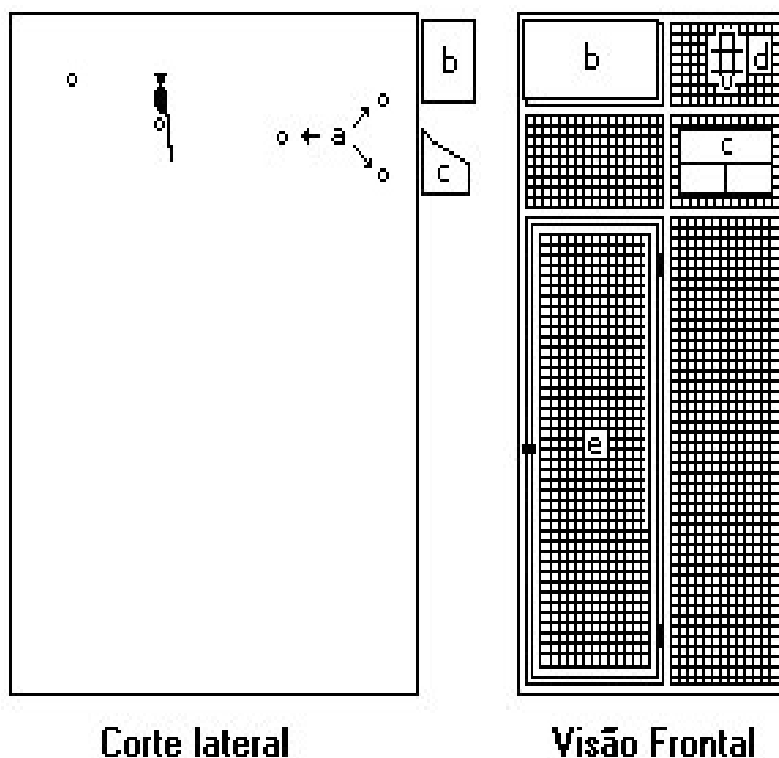


Figura 11 - Croqui da gaiola de manutenção dos calitriquídeos no CENP. No corte lateral observa-se o posicionamento dos cinco poleiros de madeira dispostos no terço superior da gaiola (a), assim como o posicionamento da caixa-abrigo (b) em nível acima do suporte do comedouro (c), colocado ao lado de fora à frente da gaiola. Na visão frontal observa-se a disposição da caixa-abrigo (b), suporte dos comedouros (c) e do bebedouro (d), e a porta de acesso (e).

Animais recém chegados ao centro são levados para o galpão de quarentena. Neste galpão ele permanece por um período de até quarenta dias para que seja feita uma análise geral da saúde do animal. São analisados materiais biológicos como, urina, fezes, sangue entre outros, dependendo dos sintomas apresentado pelo primata. Além destes exames os animais recebem um “chip” contendo um número específico. Este “chip” é colocado por meio de uma seringa específica entre as escápulas do animal,

mais precisamente entre o tecido subcutâneo e o músculo. Após todo o procedimento de quarentena realizado e após a confirmação de normalização dos exames, estes animais são encaminhados para os galpões de reprodução e distribuídos em uma família. Todas as trocas de animais são anotadas pelos tratadores dos recintos para que se evite um alto grau de consangüinidade, sendo pareados sempre indivíduos que possuam diferentes locais de captura.

B) Centro de Primatologia UnB (CP-UnB)



Figura 12 e 13 – Centro de Primatologia da UnB (CP-UnB).

O Centro de Primatologia da Universidade de Brasília (UnB) está localizado na Fazenda Água Limpa (FAL), a cerca de 30 km do centro da cidade (16°30" S, 46°30" W). Esta fazenda de 4.340 ha. é uma estação de experimentos para pesquisas em agronomia, engenharia florestal, ecologia e botânica. Ao lado da FAL, há duas outras reservas ecológicas (Jardim Botânico de Brasília e Reserva Ecológica do IBGE) e juntas elas cobrem uma área de preservação de 10 mil ha.

É constituído por uma sede, onde se localiza a cozinha e escritórios de professores, veterinários, biólogos e alunos. Na cozinha há uma câmara fria onde são armazenadas as frutas, legumes, folhas entre outros componentes da dieta dos animais. Possui também um galpão onde funciona a parte da quarentena. Animais que são enviados para o Centro passa por este local onde são feitos exames de rotina (parasitológicos e sanguíneos) antes que seja inserido no plantel.

Os animais se concentram em três tipos de galpões respeitando sua espécie. Um galpão para *Callitrix sp.* e para *Leothopitecus crysomelas*, sendo as duas espécies pertencentes a mesma subfamília, que possuem 24 viveiros com uma família em cada

recinto (pai, mãe e filhotes). Cada viveiro possui uma caixa ninho feito de madeira, vedada por todos os lados e com uma entrada na parte frontal que o animal utiliza para proteção contra o frio e predadores externos. Para a distribuição da água utilizam-se sistemas de bebedouros automáticos de água, distribuídos para cada um dos viveiros. Este sistema facilita o manejo dos animais e se torna economicamente viável, pois para que ocorra a liberação da água o animal deve entrar em contato com o bebedouro. Ainda presente na parte interna do recinto há um comedouro, onde é distribuída a parte da dieta. Para que os tratadores não entrem em contato com os animais, a porta dos recintos dispõe de portinholas acopladas à porta central, não permitindo a saída do animal no momento da distribuição da comida e fazendo a distribuição da comida sem haver contato direto com os animais. Há também a presença de poleiros feitos de madeira presos junto ao teto dos recintos, este também feito de grade, para a locomoção dos animais por todo o viveiro, grades de ferro em frente e aos fundos e alvenaria em suas laterais, evitando o contato entre as famílias vizinhas. Este galpão possui duas áreas distintas, uma totalmente coberta com telhas transparentes e outra área desprovida de telhas para que haja um contato maior com o meio externo, chuvas, raios solares, umidade relativa, entre outros fatores climáticos. A outra parte do galpão é coberta por telhado oferecendo uma maior proteção para os animais. Este esquema de recinto é um modelo ideal para primatas cativos, pois fornecem a eles a possibilidade de contato maior com o meio externo e também lhes permitem uma proteção contra os fatores climáticos. Junto ao galpão, está presente uma anti-sala que possui uma torneira e armários onde são estocados medicamentos, equipamentos de proteção pessoal entre outros objetos de uso rotineiro nos galpões. Nas partes laterais da ante-sala, estão presentes duas salas de depósitos onde são guardados ferramentas para projetos de pesquisas.



Figura 14: Galpão do Centro de Primatologia – UnB. Observam-se cada um dos recintos do galpão e a área desprovida de telha para facilitar a entrada de luz solar em parte do recinto. Pode-se observar também o momento de alguns animais sob as incidências dos raios ultravioletas.

O segundo galpão é utilizado para a espécie *Saimiri sp.*, animais proveniente da floresta amazônica e um último um terceiro recintos onde estão presente as espécies de *Cebus sp.* Todos os galpões recebem as mesmas conformações descritas no primeiro sendo modificado apenas o tamanho das estruturas devido aos tamanhos das populações das duas últimas espécies mencionadas serem maiores que a espécie *Callithrix sp.*

As ilustrações da figura 14 demonstram um esquema do galpão onde estão presentes os animais do CP-UnB. Nele podemos observar a parte dos viveiros que não são cobertos, permitindo desta forma um maior contato com dos animais com o ambiente externo, além de propiciar um maior contato com raios solares em todo o período do dia. Junto a esta parte não coberta foi criado um tipo de plataforma de aço inox onde os animais a

utilizam como uma plataforma para banho de sol. No início da manhã é possível observar o uso desta plataforma por todos os indivíduos do viveiro.

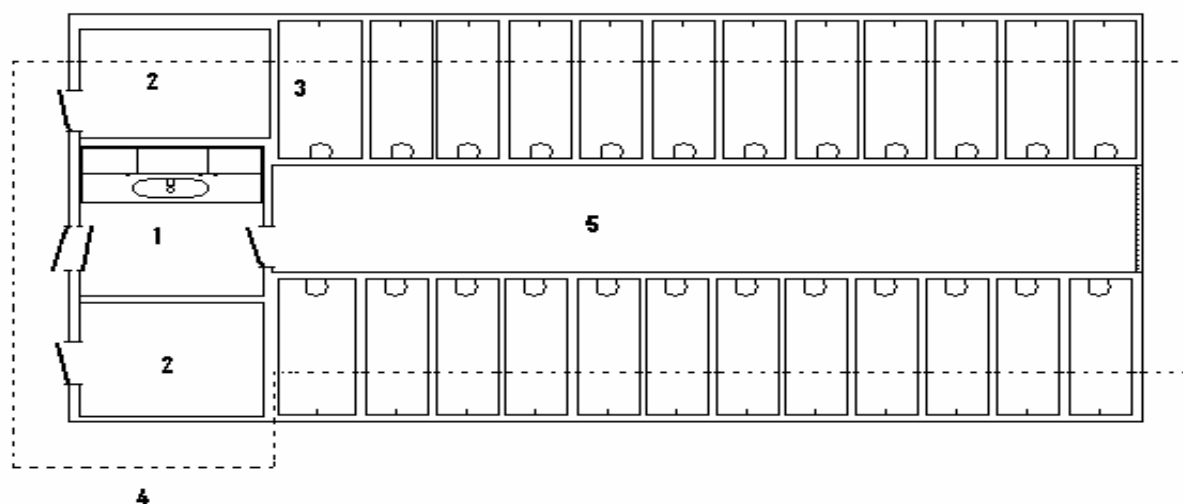


Figura 15: A figura a esquerda demonstra a planta baixa dos recintos dos *Callitrix penicillata* do CP-UnB. O número (1) representa a anti-sala que permite o acesso a entrada principal do recinto. Nela estão presentes armários onde são guardados medicamentos e uma pia para higienização. Em (2) podemos observar duas salas onde são guardadas matérias utilizadas para fins de pesquisas. Em (3) observamos a área interna do viveiro. Em (4) esquematizado em linhas pontilhadas está representado o telhado. Nele nota-se a parte do recinto que não possui cobertura, permitindo a passagem de luz solar. Em (5) observa-se o corredor de acesso a todos os viveiros do galpão.

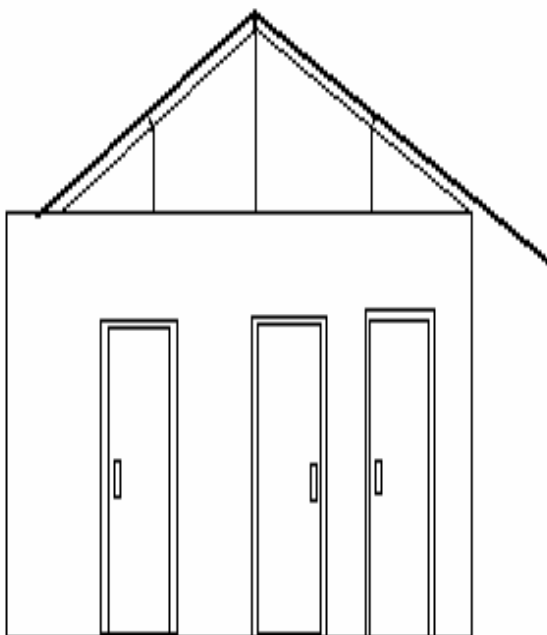


Figura 16: Demonstração da entrada do galpão onde estão presentes os recintos dos animais da espécie *Callithrix penicillata* do Centro de Primatologia – UnB. A porta central dando acesso aos recintos. As portas laterais dão entradas para salas de depósito, onde são guardados materiais para experimentos desenvolvidos pelo centro.

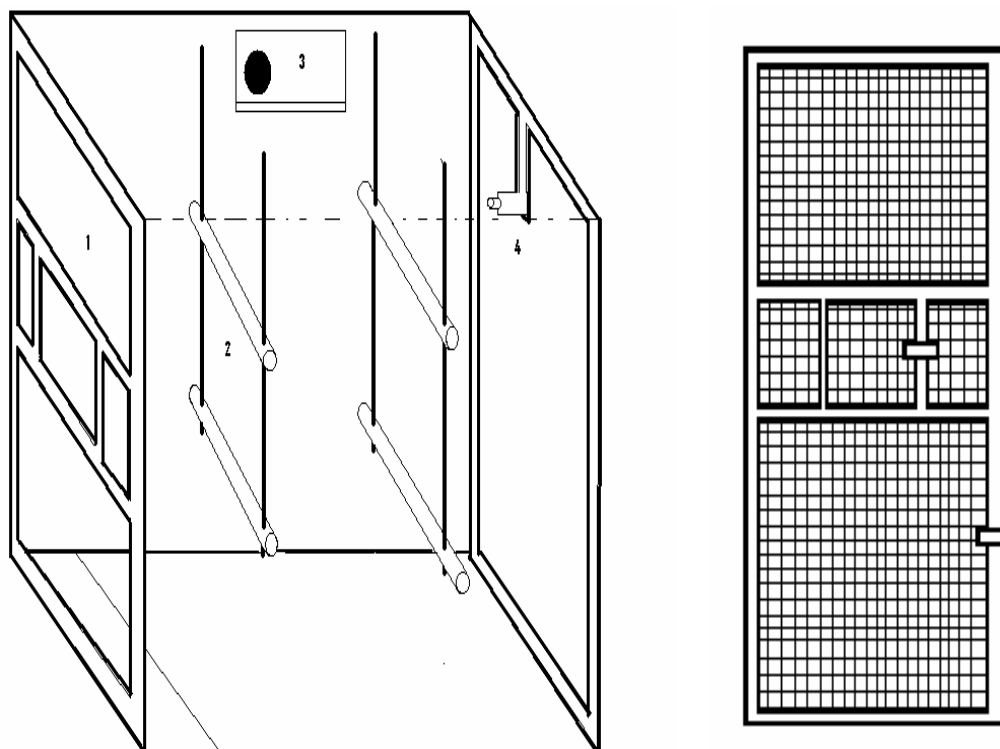


Figura 17: Esta figura demonstra a parte interna dos recintos, à esquerda, e a porta de acesso de cada um dos recintos, à direita. Em (1) temos a visão da porta de acesso ao recinto. Em (2) observamos estruturas feitas de corda e madeira similar a um trapézio que permite um aproveitamento espacial de todo o recinto. Em (3) a representação da caixa-abrigo com uma área circular localizada frontalmente, dando acesso a entrada do animal. Em (4) observa-se um esquema do bebedor automático dos animais presentes, também, em todos os recintos.

4.2 Alimentação

Em ambos os locais os animais são alimentados na parte da manhã com frutas, legumes, ração, insetos e água *ad libitum*. A distribuição é feita logo nas primeiras horas do dia, por volta de sete horas da manhã. As frutas são lavadas com água corrente e após a lavagem, cortadas e distribuídas em vasilhas circulares de aço inox, evitando desta forma o aparecimento de ferrugens, proporcionando uma alimentação mais saudável. O corte das frutas também segue um padrão de acordo com as espécies que estão sendo alimentadas. Para espécies de maior tamanho são feitos cortes maiores e para os calitriquídeos são necessários cortes maiores, pois pedaços grandes de frutas acarretam em um maior desperdício de frutas. Após o corte das frutas elas são distribuídas respeitando o número de animais por recinto. A cada semana é feito um cardápio com diferentes tipos de frutas, podendo assim, ter a possibilidade de ter uma dieta balanceada de acordo com a necessidade de cada animal. As frutas mais utilizadas em ambos os centros é de acordo com as frutas de época no local, onde sempre estão presentes a banana, laranja, mamão, melancia, abacaxi, goiaba, manga entre outras. Além das frutas são distribuídos aos animais alguns legumes como, pepino, abobrinha, batatas, cenoura, tomate e alguns tipos de folhosos como alface, couve-flor, couve, almeirão e repolho. A quantidade das frutas colocada é distribuída de acordo com o número de animais no recinto ocorrendo uma defasagem, pois não há uma quantidade correta para cada tipo de alimento sendo distribuídas de forma aleatória quando as relacionamos com o peso.

Animais que apresentam perda de peso, fêmeas gestantes, ou com qualquer outro problema, são isolados e recebe uma dieta a parte. A pesagem dos animais é feita mensalmente, podendo sempre acompanhar o desenvolvimento do animal. A sobra das

frutas é retirada ao final do dia, fazendo o recolhimento de cada bandeja e retirando restos de frutas de cada um dos recintos. Além de frutas também esta presente na dieta dos animais a ração. Esta é a mesma utilizada na alimentação de animais domésticos (cão e gato), sendo de preferência a de maior valor protéico. Além de seus valores protéicos altos, as rações recebem complementos como sais minerais, antioxidantes e vitaminas. As tabelas abaixo demonstram os valores nutricionais de cada ração utilizada na dieta dos dois grupos de animais dos diferentes centros de primatologia. Esta ração é industrializada e comprada pelos centros de primatologia.

Tabela 1. Formulação da ração de CP - UnB Brasília – DF.
Quantidade dos nutrientes por quilo de ração.

Vitamina A	10000UI
Vitamina. E	50UI
Vitamina. K	0,34mg
Vitamina. B1	7mg
Vitamina. B2	7mg
Vitamina. B6	8mg
Vitamina. B12	25mcg
Ácido Fólico	1mg
Ácido. Pantotênico	11mg
Biotina	0,15 mg
Niacina	70mg
Cloro	6500mg
Sódio	3000mg
Zinco	130mg
Ferro	90mg
Manganês	10mg
Cobre	17mg
Iodo	2mg
Selênio	0,15mg

Tabela 2. Formulação da ração do CENP – Ananindeua – PA.
Quantidade dos nutrientes por quilo de ração.

Vitamina A	20000 UI,
Vitamina D3	2000 UI,
Vitamina E	50mg,
Vitamina K3	0,5mg,
Vitamina B1	20mg,
Vitamina B2	20mg,
Vitamina B6	10mg,
Vitamina B12	30mcg,
Ácido Fólico	0,2mg,
Ácido Pantotênico	30mg,
Niacina	60mg,
Biotina	0,25mg,
Colina	1500mg,
Ferro	300mg,
Cobre	19mg,
Iodo	2,5mg,
Zinco	160mg,
Manganês	50mg,
Cobalto	0,3mg,
Selênio	0,11mg.

A ração é dada diariamente e sempre recolocada, evitando sua ausência na dieta. Utilizam-se também como fonte riquíssima de proteína animal larvas de besouro vivas (tenébrios) e grilos produzidos em biotérios da própria instituição, e oferecidos duas vezes por semana. Estes insetos têm um papel fundamental na dieta destes animais porque quando comparados animais de vida livre, observamos que a maior parte da proteína adquirida por esta espécie vem da predação de invertebrados como, moluscos, baratas, grilos, moscas, besouros entre outros.

4.3 Métodos

O presente projeto foi apresentado e aprovado pelo Comitê de Ética em pesquisa animal do Instituto de Biologia da Universidade de Brasília. Foram selecionados para o estudo 84 indivíduos da espécie *Callitrix penicillata* vivendo em cativeiro, do Centro de Primatologia de Brasília, DF (N=29) e do Centro Nacional de Primatas de Belém, PA (N=55). Estes dois centros foram escolhidos por apresentarem diferentes instalações para alojamento dos animais, permitindo as instalações do centro de Brasília exposição dos animais a luz solar *ad libitum*, enquanto que no centro de Belém a exposição é parcial ou nula.

Os 84 animais foram distribuídos em três grupos de acordo com a sua localização nos galpões. Existiam animais que em determinado galpão recebiam raios solares por todo o período do dia, enquanto outros animais recebiam quantidade parcial de sol no período do dia, havendo ainda animais que, devido à sua localização, não recebiam quantidade alguma de raios ultravioletas. Com isso a distribuição dos grupos ficou da seguinte forma:

- **Grupo 01:** Composto por 29 animais do Centro de Primatologia da Universidade de Brasília, clinicamente saudáveis, que tinham acesso à luz solar durante todo o período do dia. Os recintos onde vivem são viveiros semi-abertos.
- **Grupo 02:** Constituído 34 animais do Centro Nacional de Primatas (Ananindeua - PA) que apresentavam uma exposição limitada à luz solar. Isto porque a estrutura do galpão não permitia a penetração dos raios solares durante todo o dia, por ser quase totalmente coberto. Este grupo de animais tinha seus recintos dispostos para o lado externo dos galpões, de forma que era possível o contato dos mesmos com poucas horas de sol, ou sol nascente ou sol poente.

- **Grupo 03:** Constituído por 21 animais do Centro Nacional de Primatas (Ananindéua-PA) que não possuíam nenhum tipo de contato com os raios solares, devido à disposição de seus recintos, os quais estavam dirigidos para a parte interna do galpão.

Dos 55 animais examinados no CENP, 14 deles apresentavam alterações clínicas como alopecia (2), diarreia (2), problemas ósseos (fraturas, fissuras), perda de peso (3) e aborto. Os animais que apresentaram alguns dos problemas descritos eram levados até a clínica veterinária onde ficavam isolados com tratamento específico até sua melhora. Já os 29 animais do CP-UnB não apresentavam problemas clínicos aparentes.

Foi confeccionada uma ficha clínica para a identificação de cada amostra de sangue e de cada animal. Nessa ficha eram anotados dados do animal como nome e número do seu “chip”, data da coleta, número da tatuagem (utilizada geralmente em centro de pesquisas onde há um número elevado de animais no plantel), nome dos pais, data de nascimento e quaisquer tipo de problema que o animal apresentava ou vinha apresentando nos últimos meses.

É importante salientar que a coleta das amostras de sangue dos animais pertencentes aos dois centros foi realizada na mesma estação do ano, no período de julho a agosto de 2006, descartando desta forma um possível viés em relação à qualidade de exposição a luz solar nas duas regiões, uma vez que a transmissão dos raios ultravioletas pelo sol é distribuída de forma simétrica devido as duas cidades estar em posições equivalentes em relação à latitude e longitude.

Para a obtenção de amostra sanguínea para a dosagem da vitamina D plasmática dos animais foi realizada punção femoral através de uma seringa estéril e com agulha de 70x25mm sendo coletados aproximadamente dois mililitros de sangue total, acondicionados em tubos de ensaio para análises bioquímicas. Após 10 minutos de

centrifugação à 5000rpm, o soro foi estocado á -20°C até o seu posterior uso. Em seguida as amostras foram encaminhadas ao Laboratório Central do Hospital Universitário de Brasília (LC-HUB).

O setor de Imunologia do LC-HUB realizou as dosagens de vitamina D no aparelho Liaison (Diasorin®), utilizando a metodologia de quimioluminescência. A quimioluminescência é uma reação de antígeno e anticorpo, marcada com uma enzima. Esta reação hidrolisa o substrato quimioluminescente gerando um produto instável, que depois de ser estabilizado gera a emissão de fótons de luz que são amplificados e medidos por um fotomultiplicador, que tem a função de transformar a luz emitida pelos fótons em impulsos elétricos. Esses impulsos são lidos em contagens de luz por segundo (CPS) ou unidade relativa de luz (RLU) e convertido em ng/ml gerando o valor obtido na dosagem da 25(OH) vitamina D.

Na análise dos resultados, correlacionou-se os valores da 25(OH)D com a intensidade de exposição solar a que estes animais tinha acesso e com o gênero intra e inter-grupos.

Resultados e Discussão

5. Resultados e Discussão

5.1 Análise estatística dos valores da 25(OH)D dos animais em estudo

A análise exploratória desta variável demonstrou distribuição anormal, por tanto, foram utilizados teste não-paramétricos na análise estatística entre grupos (teste de Kruskal-Wallis) e entre sexos (teste de Mann-Whitney). Para a análise de interações entre variáveis foi utilizado a teste de ANOVA de duas vias, devido à impossibilidade de usar um teste não-paramétrico para este tipo de análise. A análise de ANOVA de duas vias confirmou os efeitos encontrados nas análises anteriores para a variável Grupo ($F_{2,78}=38,858$, $p<0,001$) e para a variável Sexo ($F_{1,78}=0,338$, $p=0,563$). O método de Bonferroni para a correção do nível de significância estatística foi usado quando necessário nas comparações múltiplas.

5.2 Análises gráficas e numéricas

A análise comparativa dos níveis de 25(OH)D dos três grupos (sem exposição ao sol, exposição limitada e com exposição plena ao sol) mostrou diferenças estatisticamente significativas. O procedimento de comparações múltiplas demonstrou diferença significativa ($p<0,001$) entre os níveis de 25(OH)D do grupo de indivíduos sem exposição ao sol (grupo 3) e com exposição ao sol (grupo 1). Também foi significativa a diferença encontrada entre os grupos sem exposição ao sol (grupo 3) e com exposição limitada ao sol (grupo 2) ($p<0,001$). Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos com exposição normal (grupo 1) e exposição limitada ao sol (grupo 2) ($p=0,605$). Na tabela 3 podem ser observados os valores encontrados nos três grupos estudados (com exposição ao sol, com exposição limitada e sem exposição

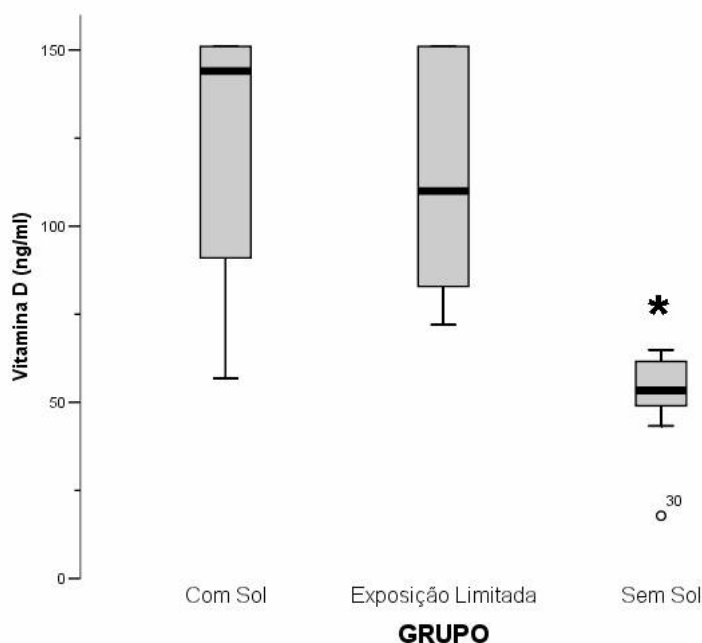
ao sol) em relação aos níveis de vitamina D encontrados em cada grupo e em relação ao gênero dos animais.

Tabela 3. Distribuição dos níveis de 25(OH)D e os grupos de animais da pesquisa.

	EXPOSIÇÃO		
	EXPOSIÇÃO PLENA	LIMITADA	NÃO EXPOSTOS
TOTAL	121,24 ± 33,28	115,21 ± 32,24	53,32 ± 10,37
25(OH)D (ng/ml)	N=29	N=34	N=21
MACHOS	121,51 ± 33,09	112,6 ± 32,20	52,63 ± 13,36
25(OH)D (ng/ml)	N=16	N=26	N=11
FÊMEAS	120,91 ± 34,87	123,69 ± 33,00	54,09 ± 6,29
25(OH)D (ng/ml)	N=13	N=8	N=10

O gráfico 1, a seguir, demonstra as comparações entre os grupos analisados. Nele podemos observar que os animais com exposição à luz solar apresentam, em sua maioria, níveis de 25(OH)D superiores aos outros dois grupos. Apesar dos níveis de 25(OH)D entre os animais do grupo com exposição limitada (grupo 2) e o grupo de expostos a luz solar (grupo 1) não apresentarem diferenças estatisticamente significativas entre si, observamos que a maior parte dos animais do grupo 2, representado pela mediana, tem seus níveis de 25(OH)D próximo a 100ng/ml enquanto a mediana dos valores do 25(OH)D do grupo exposto ao sol (grupo 3) está próxima a 150ng/ml. Demonstramos ainda que os animais que não receberam luz solar (grupo 3) estão com seus níveis de 25(OH)D bem mais abaixo dos valores médios quando comparados aos outros grupos. Observa-se também que no grupo de animais não

expostos a luz solar há um indivíduo que teve seu valor de calcidiol de 17,8 ng/ml, bem abaixo do valor médio do próprio grupo (53,32ng/ml).

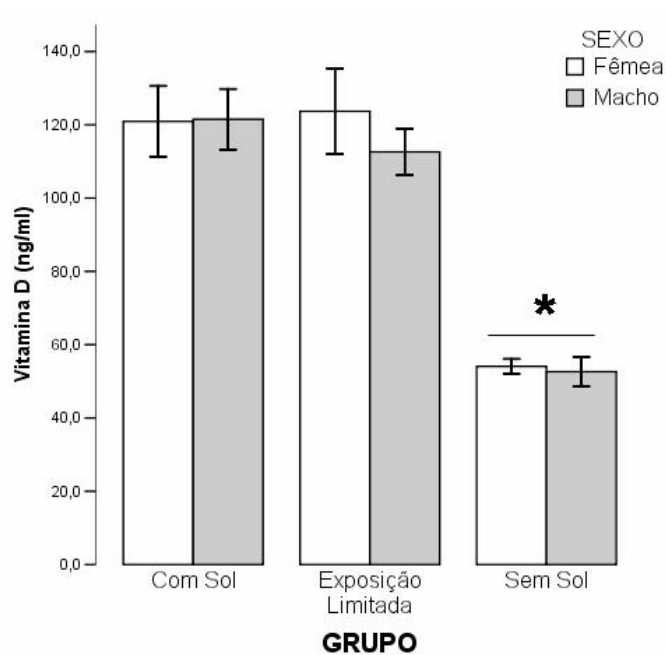


(*) = diferença estatisticamente significativa entre grupos com exposição plena ou exposição limitada ao sol e grupo sem exposição ao sol; (°) = símbolo com o valor mais baixo de 25(OH)D.

Gráfico 1. Comparações entre os três grupos de *Callithrix penicillata*.

É importante também chamar a atenção que o método de quimiluminescência utilizando o aparelho Liaison (Diasorin) apresenta limite superior de aferição equivalente a 150ng/ml. Seria possível, se valores mais elevados pudessem ser evidenciados pelo aparelho que a diferença encontrada entre o grupo de exposição plena ao sol e o grupo com exposição limitada viesse a se tornar estatisticamente significativa.

Comparando-se os animais pertencentes a cada grupo em relação ao gênero notou-se que não houve diferenças estatisticamente significativas ($p=0,596$) entre os animais (gráfico 2).



(*) = diferença estatisticamente significativa entre grupos com exposição plena ou exposição limitada ao sol e grupo sem exposição ao sol;

Gráfico 2. Comparação entre o gênero nos diferentes grupos analisados.

Ainda em relação ao gênero, à mesma conclusão chegou-se quando foi comparado o somatório dos machos e das fêmeas pertencente aos três grupos ($p=0,563$). Os valores numéricos para machos foram de $102,84\text{ng/ml}$ ($\pm 39,20\text{ng/ml}$) e de $100,07\text{ng/ml}$ ($\pm 42,35\text{ng/ml}$) para fêmeas, não demonstrando desta forma diferenças estatisticamente significativas. Estes resultados podem ser observados no gráfico 3.

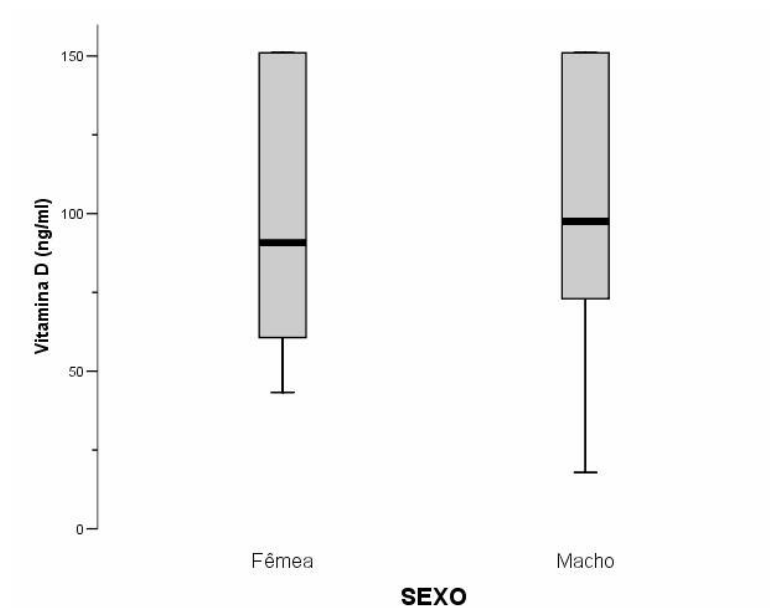


Gráfico 3. Comparação entre os níveis de 25(OH)D entre todos os animais dos três grupos.

A tabela número 4 demonstra as médias de cada um dos grupos e dos gêneros de cada um dos grupos. Observa-se, que as médias dos grupos de animais que possuíam contato com a luz solar são superiores a médias dos animais que não apresentavam nenhum tipo de contato com o sol, corroborando desta forma o importante papel dos raios ultravioletas exercendo seu aumento nos níveis de vitamina. Notamos também que mesmo com a alimentação enriquecida com a vitamina D nos grupos com exposição limitada e sem nenhum tipo de exposição ao sol não apresenta efeitos significativos nos níveis de vitamina D em cada indivíduo. Su gere-se, de modo a suplementar efetivamente as necessidades deste hormônio para os animais que não têm acesso à luz solar. Mas a conduta mais fisiológica seria uma reestruturação da disposição das gaiolas para que todos os animais possam receber a luz solar e serem suficientes em vitamina D.

Tabela 4: Análise das médias de todos os grupos juntamente com os intervalos de confiança de 95%.

GRUPO	SEXO	Média	Intervalo de Confiança 95%	
			Lim. Inferior	Lim. Superior
Com Sol	Fêmea	120,91	104,76	137,06
	Macho	121,51	106,96	136,07
Exposição Limitada	Fêmea	123,69	103,1	144,27
	Macho	112,6	101,19	124,02
Sem Sol	Fêmea	54,09	35,68	72,5
	Macho	52,63	35,07	70,18

Desta forma, podemos observar que como o grupo de animais, em cativeiro, expostos ao sol se assemelha a animais de vida livre devido o seu contato com raios solares ser diariamente, determina-se o valor de 110,34ng/ml a 132,08ng/ml para machos e fêmeas, uma vez que machos e fêmeas não apresentaram diferenças estatisticamente significativas. Ressaltamos que devemos considerar que o tempo de exposição ao sol dos animais de vida livre pode ser maior que os animais em cativeiro, pois animais de cativeiro tendem a utilizar abrigos presentes em recintos como meio de proteção, permanecendo desta forma por um tempo menor ao sol. Outro ponto fundamental está ligado à dieta destes animais em vida livre. Por apresentar uma maior diversidade de alimentos no meio natural, animais de vida livre podem obter fontes de alimentos contendo vitamina D superior aos encontrados em cativeiro.

Um fator importante que nos chama a atenção é em relação à sazonalidade. Devido ao fato dos grupos analisados serem de locais distintos o clima, a estação do ano e a

latitude poderiam ser fatores de grande influência para o estudo. Mas, devido às coletas de sangue ter sido obtida em ambos os locais no mesmo período do ano, a questão da sazonalidade não interfere nos resultados, pois estava na mesma estação. Além disso, a latitude é um fator importante, pois em latitudes altas (acima de 35° Norte ou abaixo de 35° Sul), durante os meses de inverno, há pouca ou nenhuma irradiação ultravioleta B com comprimento de onda entre 290 e 315nm, o que compromete a ativação do 7-deidrocolesterol na pele. Entretanto, tanto a cidade de Ananindeua-PA (latitude 1°21'56''S) como Brasília-DF (latitude 15°46'47" S) ficam dentro de uma faixa de latitude que recebem estes comprimentos de onda da irradiação solar o ano todo.

Um ponto de grande importância a ser discutido neste estudo se refere aos aspectos nutricionais destes animais. Apesar de não haver vitamina D na ração dos animais do Centro de Primatologia da UnB, estes eram suficientes nesta vitamina. Já no grupo de animais pertencentes ao CENP, a ração oferecida é enriquecida com vitamina D₃ (2000 unidades por quilo de ração), a qual era distribuída de forma que os animais pudessem consumi-la de acordo com sua vontade. Apesar disso, ao se avaliar os resultados da 25(OH)Vitamina D, que reflete a reserva da Vitamina D no organismo, percebemos que esta quantidade de vitamina D₃ na ração, nos casos em os animais não têm contato com a luz solar, é insuficiente para suprir as necessidades dos mesmos ou ainda existiria um déficit na quantidade de ração para cada animal, uma vez que não existe um controle nesta distribuição. Já no grupo de animais do CENP que recebiam a luz solar em parte do dia os níveis de 25(OH)Vitamina D não foram estatisticamente diferentes do grupo do CP-UnB, mostrando que a exposição solar foi a variável implicada na suficiência deste hormônio.

Como foi referido anteriormente, há dados que sugerem diversos aspectos que interligam os níveis de vitamina D às funções cerebrais do organismo. A atividade desta

vitamina interfere não só em funções orgânicas, mas também em funções cognitivas do organismo. Sua alteração interfere nas ações de alguns hormônios como a ocitocina, nos aspectos funções comportamentais como a função motora e memória, entre outras, e ainda em uma gama de atividades relacionadas à homeostase do organismo. A espécie *Callithrix penicillata* é de grande importância na realização de estudos e pesquisas biomédicas, devido às similaridades entre suas características morfofisiológicas em relação aos primatas humanos. Conseqüentemente, como esta espécie é freqüentemente usada em estudos de funções cognitivas e principalmente de memória seria muito valioso que se tenha ferramentas para reconhecer os níveis normais da 25(OH)Vitamina D nos mesmos e garantir que sejam suficientes neste hormônio, para que os resultados dos estudos tenham respaldo científico.

A relação que existe entre a vitamina D e o cálcio é bem conhecida. O organismo utiliza o cálcio em várias funções vitais do organismo e a vitamina D, sendo o seu principal regulador, é indispensável a essa regulação. Como a luz solar é o fator responsável pela ativação inicial da cascata de reações que culminam com a síntese da forma ativa da vitamina D, seria interessante conhecermos para a espécie *Callithrix penicillata* uma faixa de tempo necessária para a sua permanência do sol. O ideal para animais cativos seria uma exposição espontânea ao sol, havendo possibilidade de escolha do animal para este ato.

Quando comparamos os 3 grupos de *Callithrix penicillata* avaliados neste estudo, podemos discutir qual seria a quantidade de sol necessária para a suficiência de vitamina D no organismo. Este tempo de exposição parece não ser muito longo. O que nos sugere este fato é a comparação dos grupos com exposição limitada (os quais recebiam sol apenas por um curto período da manhã ou um período no final da tarde) e

com exposição livre. Conforme o gráfico 1, observa-se que os níveis da 25(OH)vitamina D apresentada nos dois grupos são estatisticamente semelhantes.

Observou-se, ainda, que no grupo de animais sem nenhum tipo de exposição ao sol (grupo 03), 12 animais apresentavam alguns sintomas clínicos como diarreia, falta de apetite, alopecia, fraturas, emagrecimento progressivo sintomas estes que podem estar relacionados com o índice baixo de 25(OH)D em seu organismo. A média de 25(OH)D para este grupo de animais foi de $47,1 \pm 9,7$ ng/ml, índice muito baixo para animais desta espécie. Já nos outros dois grupos, com exposição ao sol e com exposição limitada nenhum dos animais apresentou qualquer tipo de sintomatologia clínica.

Considerações Finais

6. Considerações Finais

Os dados deste trabalho mostram a importância da exposição solar na concentração da sérica da 25(OH)Vitamina D nos primatas não-humanos da espécie *Callithrix jacchus*. Nos grupos de animais estudados, alguns apresentavam livre exposição ao sol, outros, exposição parcial e um último grupo apresentavam nenhum tipo de exposição aos raios solares. Como já descrito anteriormente, sabemos que esta exposição é fundamental para a adequada síntese de vitamina D e, conseqüentemente, ao equilíbrio dos níveis de cálcio no organismo.

Foram apresentados grupos de animais que são criados em dois recintos distintos, o do Centro Nacional de Primatas –Ananindeua – Pará e o Centro de Primatologia da UnB – Brasília–DF. Destacamos ser de importância fundamental a construção de viveiros em centros de pesquisas que possibilite a exposição total do animal em contato aos raios solares. Pelo fato do CENP manter símios em ambientes fechados e sem exposição aos raios solares, observou-se em seu plantel uma maior predisposição à fraturas ou pequenas fissuras ósseas, diarreias, alopecia entre outros sintomas que podem estar relacionados a deficiência de vitamina D. A maioria dos animais com alterações clínicas devido à insuficiência da vitamina D ficavam alocados nas partes voltada para dentro dos galpões, dificultando ainda mais o contato da luz solar.

Em relação aos níveis da 25(OH)vitamina D não foi observada diferença estatística ao compararmos os níveis entre machos e fêmeas, seja dentro do mesmo grupo ou entre grupos distintos. Esta comparação foi realizada para saber se fêmeas apresentariam níveis da vitamina D mais elevados que machos devido aos períodos de amamentação, cio, gestação, entre outros, que fazem parte da fisiologia da fêmea.

Não foi feita a comparação entre a idade dos animais e níveis de vitamina D, pois a maioria dos centros de primatologia recebem os animais já adultos provenientes da vida natural, não se podendo estabelecer as suas idades. A partir dos dados deste estudo propõe-se o estabelecimento de uma faixa de valores de base para a 25(OH)Vitamina D para animais cativos da espécie *Callithrix penicillata*. Um fator que justifica a busca desta faixa de normalidade vem do fato de que a vitamina D tem atuação na regulação de vários aspectos do metabolismo sistêmico e ao manter-se os organismos com níveis adequados deste hormônio estarão propiciando melhores condições e qualidade de vida a estes animais, os quais vêm sendo cada vez mais requisitados como modelo experimental para vários tipos de pesquisas, dadas às semelhanças fisiológicas e genéticas com os seres humanos. A qualidade, reprodutibilidade e o impacto dos resultados destes estudos estariam diretamente relacionados à suficiência da vitamina D nestes animais.

Neste estudo, foram utilizadas amostras de sangue de 84 animais e obtivemos um valor médio de 25(OH)vitamina D de $121,24 \pm 33,28$ ng/ml nos animais com exposição livre à luz solar e de $53,32 \pm 10,37$ ng/ml nos animais não expostos à luz solar. Os animais com exposição limitada ao sol obtiveram um nível médio de vitamina D igual a $115,21 \pm 32,24$ ng/ml, sugerindo que um curto intervalo de tempo de exposição à luz solar seria suficiente para a manutenção da homeostase da vitamina D.

Uma razão de valores com grandes diferenças na mensuração da vitamina D entre estes 2 estudos pode decorrer do número de animais analisados (18 x 84), uma vez que o número de amostras deste recente estudo chegou a quase cinco vezes mais em relação ao trabalho anterior. Outro fator importante é que apesar dos animais serem da mesma família, possui diferenças significativas quando comparamos o dimorfismo entre as espécies, como a coloração das pelagens dos animais. O *saguinus oedipus* apresenta a

coloração da pelagem totalmente preta, enquanto a pelagem apresentada pela espécie *Callitrix penicillata* ser visivelmente mais clara. Este fato pode contribuir para níveis fisiológicos diferentes de vitamina D entre as espécies. Um bom suporte para esta afirmação é uma pesquisa realizada por Clemens et al., 1982, no qual se mostra que a maior pigmentação na pele em humanos pode diminuir a produção de vitamina D₃ em até 50 vezes, uma vez que a melanina (que é o pigmento que dá cor à pele) compete com o 7-deidrocolesterol pelos ftons da radiação ultra-violeta B. Assim, quanto maior a concentração de melanina, mais escura a pele do animal, menor a quantidade de ftons que incidem sobre o 7-deidrocolesterol (pois a melanina compete por esses ftons), menor a intensidade das reações fotolíticas no anel B do 7-deidrocolesterol (passo necessário para iniciar a ativação da vitamina D) e, conseqüentemente, menor a síntese dos metabólitos intermediários (pré-vitamina D, vitamina D₃, 25(OH)D) e da forma ativa 1,25(OH)₂Vitamina D.

Em relação à alimentação, chamamos a atenção em relação ao fato do alimento industrializado consumido pelos dois grupos. Quando comparamos os dois tipos de ração industrializada utilizada nos dois locais de estudo, podemos verificar que a ração dos animais que possuem contato com o sol por todo o período do dia não apresenta na sua formulação vitamina D, enquanto a ração dos animais com exposição parcial ao sol ou sem exposição possui 2000UI de vitamina D₃ por quilo de ração. Por esse fato devemos permitir que os animais deste último grupo tenham um maior contato com raios solares ou ainda elevar a quantidade de vitamina D presente na ração. Discute-se ainda a utilização de rações apropriadas para cada tipo de espécie animal. É de grande importância a manutenção dos níveis minerais e vitamínicos no organismo. Em se tratando especificamente da vitamina D, sua alteração metabólica pode causar diversas

desordens ósseo-metabólicas, hormonais e até mesmo desordens cerebrais envolvendo aspectos cognitivos e comportamentais.

Finalmente, seria importante trabalharmos e discutirmos a viabilidade da determinação dos níveis fisiológicos da 25(OH) Vitamina D dos animais da espécie estudada. Devido à estrutura dos viveiros do Centro de Primatologia – UnB permitir a entrada da luz solar por todo o período do dia, possibilitando o contato ao sol de acordo com a necessidade do animal, o que mais se aproximaria do que acontece na vida selvagem, este seria o grupo mais adequado para se conhecer o nível fisiológico da 25(OH)vitamina D nesta espécie. Assim, propomos uma faixa de valores normais de 25(OH)Vitamina D para a espécie *Callithrix penicillata* em condições de cativeiro, com intervalo de 95% de confiança, sendo de 108,6ng/ml a 133,9ng/ml, independente do gênero.

Ressaltamos que os animais de vida livre podem apresentar valores iguais ou superiores aos apresentados pelos animais do grupo 1, uma vez que há outras variáveis que interferem na fisiologia da Vitamina D e que são diferentes em ambiente de cativeiro e selvagem, como por exemplo, animais de vida livre têm uma maior possibilidade de contato com raios ultravioletas e padrões alimentares diferentes.

Conclusão

9. Conclusão

A dosagem dos níveis da 25(OH)Vitamina D nos 3 diferentes grupos de animais, classificados de acordo com a intensidade de exposição solar, nos mostra que o grupo com exposição plena apresentou um nível sérico médio de 121,24ng/ml de 25(OH)VitaminaD e o grupo com exposição parcial ao sol apresentou um valor médio de 115,21ng/ml de 25(OH)Vitamina D, valores estes sem diferença estatística. Já os animais que não possuíam nenhum tipo de exposição aos raios ultravioletas apresentaram um nível extremamente inferior aos demais grupos, apresentando um valor médio de 53,32ng/ml de 25(OH)VitaminaD, diferença esta estatisticamente significativa em relação aos 2 grupos anteriores. Demonstra-se, desta forma, a grande interferência dos raios solares UVB nos níveis da 25(OH)Vitamina D dos animais que vivem em cativeiro. Em relação ao gênero não foi observado nenhum tipo de diferença estatisticamente significativa nos níveis da 25(OH)Vitamina D quando comparamos os animais destes grupos.

A partir destes dados, propomos uma faixa de valores normais de 25(OH)Vitamina D para a espécie *Callithrix penicillata* em condições de cativeiro sendo de 108,6ng/ml a 133,9ng/ml independente do gênero.

Estabelecer uma faixa de normalidade dos níveis de Vitamina D tem sua importância e validade pelo fato deste hormônio estar envolvido na homeostase do metabolismo sistêmico destes animais e conseqüentemente na sua qualidade de vida. Oferecer uma vida em cativeiro com qualidade assim como a manutenção da homeostase destes animais é um dever dos centros que os abrigam e este aspecto tem implicações importantes no respaldo científico dos resultados oriundos das pesquisas realizadas com os mesmos.

Referências Bibliográficas

Referências Bibliográficas

Alexianu, M. E., Robbins, E., Carswell, S., and Appel, S. H. (1998) **1, 25 dihydroxyvitamin D3-dependent up-regulation of calcium-binding proteins in motoneuron cells.** J. Neurosci. Res. **51**, 58–66

Auricchio, P. **Primatas do Brasil.** São Paulo: Terra Brasilis, 1995.

Beaver, B. V. (1989). **Environmental enrichment for laboratory animals.** ILAR News, v. 23, p. 5-11.

Benton, D. (2001) **Micro-nutrient supplementation and the intelligence of children.** Neurosci. Biobehav. Rev. **25**, 297–309

Bercovitch, F.B.; Tena-Betancourt, E.; Kessler, M. J. & Lebrón, M. R. (1990). **A multifunctional environmental enrichment device for primates enclosures.** Laboratory Primate Newsletter, v. 29, n. 1, p. 16-17

Berridge, M. J. (2006) **Calcium microdomains: organization and function.** Cell Calcium **40**, 405–412

Bertolli Filho, C. **História social da tuberculose e do tuberculoso: 1900-1950.** Rio de Janeiro, Editora Fiocruz, 2001, 248p.

Buchman, A. L. Metabolic Bone Disease and Inflammatory Bowel Disease. **American Journal of Gastroenterology**, vol. 10, p. 49-55, 2007

Cantorna MT, Mahon BD. **D-hormone and the immune system.** J Rheumatol Suppl. 2005 Sep;76:11-20

Cantorna MT, Zhu Y, Froicu M, Wittke A. **Vitamin D status, 1,25-dihydroxyvitamin D3, and the immune system.** Am J Clin Nutr. 2004 Dec;80(6 Suppl):1717S-20S

Chia, R., Achilli, F., Festing, M. F., and Fisher, E. M. (2005) **The origins and uses of mouse outbred stocks.** Nat. Genet. **37**, 1181–1186

Clemens TL, Henderson SL, Adams JS, Holick MF. 1982. **Increased skin pigment reduces the capacity of skin to synthesise vitamin D3.** Lancet **6**:74–76

Crissey, S.D., Gore, M., Lintzenich, B.A., Slifka, K. **Callithrichids: nutrition and dietary husbandry.** Nutr. Adv. Group. Hand. 2003.

Colston, K. W. Perks, C. M. Xie, S. P. and Holly J. M. 1998. **Growth inhibition of both MCF-7 and Hs578T human breast cancer cell lines by vitamin D analogues is associated with increased expression of insulin-like growth factor binding protein-3.** J. Mol. Endocrinol. **20**, 157-162.

Coimbra-Filho, A.F., Rocha, N., Pissinatti, A.. **Morfofisiologia do ceco e sua correlação com o tipo odontológico (platirrhini, primates)**. Rev. Brasil. Biol 40.177-185.1980

Deeb KK, Trump DL, Johnson CS. **Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics**. Nat Rev Cancer. 2007 Sep;7(9):684-700.

Eyles, D. W., Smith, S., Kinobe, R., Hewison, M., and McGrath, J. J. (2005) **Distribution of the vitamin D receptor and 1alpha-hydroxylase in human brain**. J. Chem. Neuroanat. **29**, 21–30

Fleagle, J.G. **Primate Adaptation and Evolution**. 2ed. San Diego: Academic Press, 1999.596p.

Feldman, D. Skowronski, R. J. And Peehl, D. M. 1996. **Vitamin D and prostate cancer**. Adv. Exp. Med. Biol. 375, 53 – 63.

Gacad, M. A.; Deseran, M. W.; Adams, J. S. **Influence of ultraviolet B radiation on vitamin D3 metabolism in vitamin D3 resistant new world monkeys**. American Journal of primatology 28:263-270, 1992.

Garber, P. A.; Rosenberger, A. L. & Norconk, . A. (1996). **Marmoset misconceptions. In: Adaptive radiations of neotropical primates**. Norconk, M. A. Rosenberger, A. L. and Garber, P.A. (eds). Plenum Press, New York and London. P. 87-95.

Giulietti A, Gysemans C, Stoffels K, van Etten E, Decallonne B, Overbergh L, Bouillon R, Mathieu C. **Vitamin D deficiency in early life accelerates Type 1 diabetes in non-obese diabetic mice**. Diabetologia. 2004 Mar;47(3):451-62.

Gombart AF, Borregaard N, Koeffler HP. **Human cathelicidin antimicrobial peptide (CAMP) gene is a direct target of the vitamin D receptor and is strongly up-regulated in myeloid cells by 1,25-dihydroxyvitamin D3**. FASEB J. 2005 Jul;19(9):1067-77.

Grooves, C.P. **Primate Taxonomy**. Washington Smithsonian Institution Press, 2001. 350p.

Hallonran, B. P. and De Luca, H. F. (1981). **Effect of vitamin D deficiency on skeletal development during early growth in the rat**. Arch. Biochem. Biophys. 209, 7 – 14.

Heymann, E.W. **Field observations of the golden mantled tamarin, *Saguinus tripartitus*, on the Rio Curaray, Peruvian Amazonia**. Folia. Primatol. 2000.

Holick M. F. **Vitamin D: A Millenium Perspective**. Journal of Cellular Biochemistry. 2003; 88:296–307)

- Holick M. F. 2004. **Vitamin D: Importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease and osteoporosis.** *Am J. Clin. Nutr.* 79: 362 – 371.
- Holick MF. **Resurrection of vitamin D deficiency and rickets.** *J. Clin. Invest.* 2006 Aug;116(8):2062-72.
- Ishimi, Y. Russell, J. and Sherwood, L. M. 1990. **Regulation by calcium and 1,25-(OH)₂D₃ of cell proliferation and function of bovine parathyroid cells in culture.** *J. Bone Miner. Res.* 5: 755 – 760.
- Joyce C. McCann and Bruce N. Ames. **Is there convincing biological or behavioral evidence linking vitamin D deficiency to brain dysfunction?** *FASEB J.* 2008; 22: 982–1001
- Judd SE, Nanes MS, Ziegler TR, Wilson PW, Tangpricha V. **Optimal vitamin D status attenuates the age-associated increase in systolic blood pressure in white. Americans: results from the third National Health and Nutrition Examination Survey.** *Am J Clin Nutr.* 2008 Jan;87(1):136-41.
- Kalueff, A. V., Minasyan, A., and Tuohimaa, P. (2005) **Anticonvulsant effects of 1,25-dihydroxyvitamin D in chemically induced seizures in mice.** *Brain Res. Bull.* 67, 156-160
- Langub, M. C., Herman, J. P., Malluche, H. H., and Koszewski, N. J. (2001) **Evidence of functional vitamin D receptors in rat hippocampus.** *Neuroscience* 104, 49–56
- Lips P. 2001. **Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly: consequences for bone loss and fractures and therapeutic implications.** *Endocrine Rev.* 22, 477 – 501.
- Liu PT, Stenger S, Tang DH, Modlin RL. **Cutting edge: vitamin D-mediated human antimicrobial activity against *Mycobacterium tuberculosis* is dependent on the induction of cathelicidin.** *J Immunol.* 2007 Aug 15;179(4):2060-3.
- Maestro B, Dávila N, Carranza MC, Calle C. **Identification of a Vitamin D response element in the human insulin receptor gene promoter.** *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2003 Feb;84(2-3):223-30
- Mathieu C, Gysemans C, Giulietti A, Bouillon R. **Vitamin D and diabetes.** *Diabetologia.* 2005 Jul;48(7):1247-57
- Marx, S. J.; Jones, G.; Weistein, R. S.; Chrouse, G. P.; Renquist, D. M. **Differences in mineral metabolism among nonhuman primates receiving diets with only vitamin D₃ or only vitamin D₂.** *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* 69: 1282-1290, 1989).
- McGrath, J., Saari, K., Hakko, H., Jokelainen, J., Jones, P., Jarvelin, M. R., Chant, D., and Isohanni, M. (2004) **Vitamin D supplementation during the first year of life and risk of schizophrenia: a Finnish birth cohort study.** *Schizophr. Res.* 67, 237–245

McGrath, J., Saari, K., Hakko, H., Jokelainen, J., Jones, P., Jarvelin, M. R., Chant, D., and Isohanni, M. (2004) **Vitamin D supplementation during the first year of life and risk of schizophrenia: a Finnish birth cohort study.** *Schizophr. Res.* **67**, 237–245

Naveilhan, P., Berger, F., Haddad, K., Barbot, N., Benabid, A. L., Brachet, P., and Wion, D. (1994) **Induction of glioma cell death by 1,25(OH)₂ vitamin D₃: towards an endocrine therapy of brain tumors?** *J. Neurosci. Res.* **37**, 271–277

Norman A., 1994. **The vitamin D endocrine system: identification of another piece of the puzzle.** *Endocrinology.* 1994 Apr;134(4):1601A-1601C.

Pedrosa MA, Castro ML. **Role of vitamin D in the neuro-muscular function.** *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2005 Aug;49(4):495-502.

Peng. J., Chen, X., Berger, U., 1999. **Molecular cloning and characterization of a channel-like transporter mediating intestinal calcium absorption.** *J. Biol. Chem.* **274**, 22739 – 22746.

Reichel, H., Bishop, J. E. Koeffler, H. P. And Norman, A. W. 1991. **Evidence for 1,25-dihydroxyvitamin D₃ production by cultured porcine alveolar macrophages.** *Mol. Cell. Endocrinol.* **75**, 163 – 167.

Reinhardt, V.; Eisele, S. & Houser, D. (1988). **Environmental enrichment program for caged macaques at the wisconsin primate research center: A review.** *Laboratory Primate Newsletter*, v. 27, p.5-7

Rosenberger, A.L. **Evolution of feeding niches in New World monkeys.** *Am. J. Phys. Antrop.* **88**:525-562.1992.

Rostand SG. **Ultraviolet light may contribute to geographic and racial blood pressure differences.** *Hypertension.* 1997 Aug;30(2 Pt 1):150-6.

Rylands, A.B. & Faria, D.S. (1993). Habitats, feeding ecology, and home range size in the genus *Callithrix*. In: **Marmosets and tamarins: systematics, behaviour, and ecology**, Rylands, A. B. (ed0. Oxford Science publications, Oxford, p. 262-272.

Rylands, A.B.; Schneider, H.; langguth, A. & Mittermeier, R. A. (2000). **Na assessment of the Diversity of New World Primates.** *Neotropical Primates*, v. 8, n. 2, p. 61-93.

Schwartz GG, Skinner HG. **Vitamin D status and cancer: new insights.** *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* 2007 Jan;10(1):6-11.

Segaert S. **Vitamin D regulation of cathelicidin in the skin: toward a renaissance of vitamin D in dermatology?** *J Invest Dermatol.* 2008 Apr;128(4):773-5.

Schwartz GG, Skinner HG. **Vitamin D status and cancer: new insights.** *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2007 Jan;10(1):6-11

Schwartz GG, Blot WJ. **Vitamin D status and cancer incidence and mortality: something new under the sun.** *J Natl Cancer Inst.* 2006 Apr 5;98(7):428-30

Smith, A.C. **Composition and proposed nutritional importance of exudates eaten by saddle-back (*Saguinus fuscicollis*) and mustached (*Saguinus mystax*) tamarins.** *Int. J. Primatol.* 21:69-83,2000.

St-Arnaud, R; Demay, MB. **Vitamin D Biology.** In: Glorieux, FH. *Pediatric Bone: biology & disease.* 2003; Academic Press, Elsevier Science. USA. Chapter 7.

Stevenson, M. F. & Rylands, A. B. (1988) . **The marmosets, genus *Callithrix*.** In: **Ecology and of neotropical primates 2:** 131-222. Mittermeier, R. A., Rylands, A. B., Coimbra-Filho, A. F. & Fonseca, G.A.B. (eds). Washington, DC: World Wildlife Fund.

Toshimasa, S.; Yoshiko S.; Naoyuki, T.; Yoshikuni, T.; Tatsuo, S. **Extremely high circulating levels of 1 α 25-dihydroxyvitamin D3 in the marmoset, a new word monkey.** *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 114: 452-457,1983.

Trends in Endocrinology and Metabolism. 2005; 16(6): 261-266

Van Etten E, Gysemans C, Branisteanu DD, Verstuyf A, Bouillon R, Overbergh L, Mathieu C. **Novel insights in the immune function of the vitamin D system: synergism with interferon-beta.** *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2007 Mar;103(3-5):546-51

Vieth, R., Milojevic, S., and Peltekova, V. (2000) **Improved cholecalciferol nutrition in rats is noncalcemic, suppresses parathyroid hormone and increases responsiveness to 1,25-dihydroxycholecalciferol.** *J. Nutr.* **130**, 578–584.

Wasserman, R. H., and Fullmer, C. S. 1983. **Calcium transport proteins, calcium absorption, and vitamin D.** *Annu. Rev. Physiol.* 45: 375 – 390.

Windelinckx A, De Mars G, Beunen G, Aerssens J, Delecluse C, Lefevre J, Thomis MA. **Polymorphisms in the vitamin D receptor gene are associated with muscle strength in men and women.** *Osteoporos Int.* 2007 Sep;18(9):1235-42.

Yamaguchi, A.; Kohno, Y.; Yamazaki, T.; Takahashi, N.; Shinki, T.; Horiuchi, N.; Suda, T. Bone in the marmosets: **A resemblance to vitamin-D dependent rickets, type II.** *Calcified Tissue International* 39: 22-27, 1986.