

ANÁLISE BIOQUÍMICA DOS NÍVEIS DE FOSFATASE ALCALINA, CÁLCIO E FOSFATO EM RATOS MACHOS E FÊMEAS COM DEFICIÊNCIA HORMONAL.

Luciano Inácio Reis, Verônica Quispe Yujra, Susana Ungaro Amadei, Rosilene Fernandes da Rocha, Maria Nadir Gasparoto Mancini. – Bioquímica - Departamento de Biociências e Diagnóstico Bucal - Faculdade de Odontologia – Campus de São José dos Campos.

A osteoporose é uma doença óssea, sistêmica, progressiva caracterizada pela baixa massa óssea e deteriorização da microarquitetura do tecido ósseo, com conseqüente aumento da fragilidade e suscetibilidade a fraturas. Ela é considerada um importante problema de saúde pública, tendo como principal causa a diminuição dos níveis hormonais, acometendo tanto mulheres como homens.

Assim, o objetivo deste trabalho foi analisar e comparar os efeitos da deficiência hormonal nos níveis séricos de atividade enzimática da fosfatase alcalina (ALP) e concentrações iônicas de cálcio (Ca^{+2}) e fosfato (PO_4^{-3}) em ratos machos e fêmeas submetidos à castração e falsa castração (sham), nos períodos de 30, 60 e 90 dias pós-cirurgia. Para tanto, foram utilizados 96 animais, sendo separados em 48 machos e 48 fêmeas. O grupo dos machos foi dividido em 24 ratos castrados, submetidos à cirurgia de orquiectomia (ORQ), ou seja, retirada das gônadas masculinas; e 24 não castrados, os que passaram por cirurgia simulada (shamm). Também, o grupo das fêmeas foi dividido 24 ratas castradas, submetidas à cirurgia de ovariectomia (OVZ), ou seja, retirada das gônadas femininas; e não castradas (shamf). Ainda, os grupos foram subdivididos de acordo com o período de tempo de sacrifício dos animais em 30, 60 e 90 dias pós-cirurgia. Ao todo, foram 12 grupos, contendo oito (8) animais em cada: grupo dos machos - ORQ30, ORQ60, ORQ90, shamm30, shamm60, shamm90; e grupo das fêmeas - OVZ30, OVZ60, OVZ90, shamf30, shamf60 e shamf90.

Durante o sacrifício, coletou-se, em banho de gelo, as amostras de sangue da aorta abdominal, que foram imediatamente centrifugadas a 4000rpm por 10 minutos para a obtenção de amostras plasmáticas. Estas foram aliquotadas e mantidas sob refrigeração. A seguir, foram realizadas as análises espectrofotométricas da ALP, Ca^{+2} e PO_4^{-3} , descritas segundo os métodos de Roy¹ (1970), Moorehead & Biggs² (1974), e Chen *et al.*³ (1956), respectivamente. Os dados obtidos foram comparados e submetido aos testes de análise estatística, considerando o tipo de cirurgia (ORQxshamm e OVZxshamf, pelo teste t de Student) e período de sacrifício (30x60x90, pelo teste ANOVA, Tukey). Os testes foram considerados significantes quando $P < 0,05$.

Os valores médios e os erros-padrões obtidos para os grupos dos machos se dispõem na Tabela 1, e os das fêmeas na Tabela 2:

Tabela 1- Valores médios e erros padrões da atividade da fosfatase alcalina (ALP) e concentrações de cálcio (Ca^{+2}) e fosfato (PO_4^{-3}) de ratos orquiectomizados (ORQ) e sham nos períodos de 30, 60 e 90 dias.

Grupos	ORQ30	ORQ60	ORQ90	shamm30	shamm60	shamm90
ALP	43,60±8,58 *1	55,61±17,34	43,50±13,26	55,67±12,94	53,81±11,27	50,88±14,79
Ca^{+2}	9,26±0,80	9,05±1,51	9,01±0,83	9,05±1,37	9,05±1,21	9,66±0,63
PO_4^{-3}	1,23±0,26 #1	0,99±0,09	0,88±0,13	1,27±0,11	1,03±0,19	1,16±0,21 *2

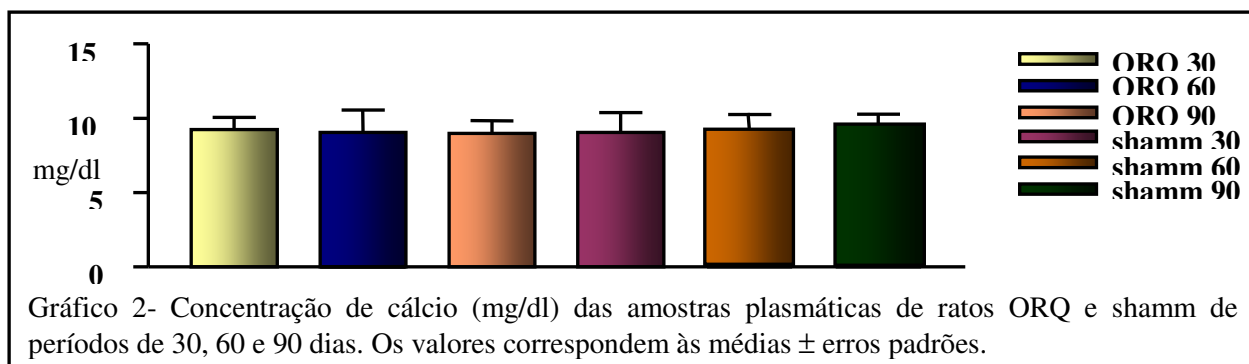
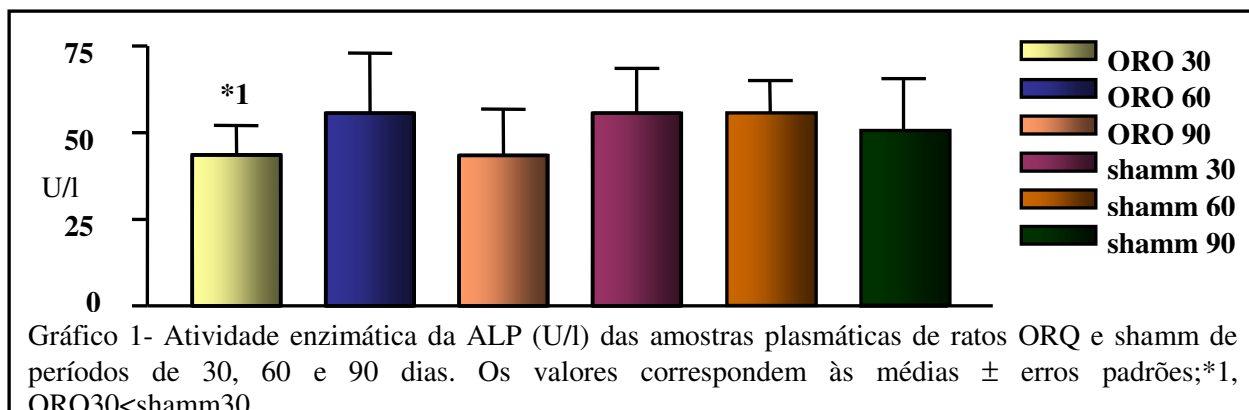
N=8; média±erro padrão. *1, ORQ30<shamm30; *2, ORQ90<shamm90; #1, ORQ30>ORQ60 e 90.

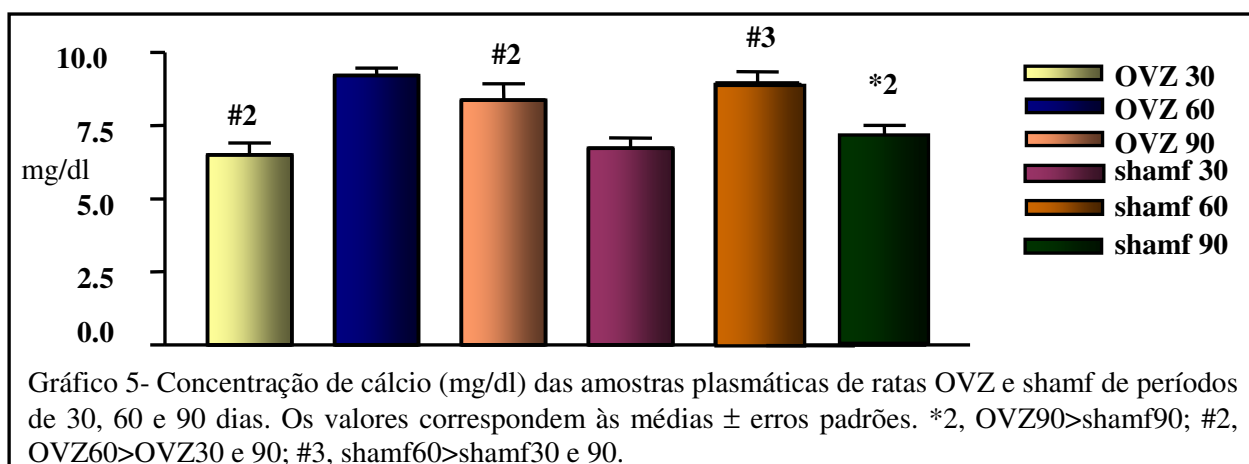
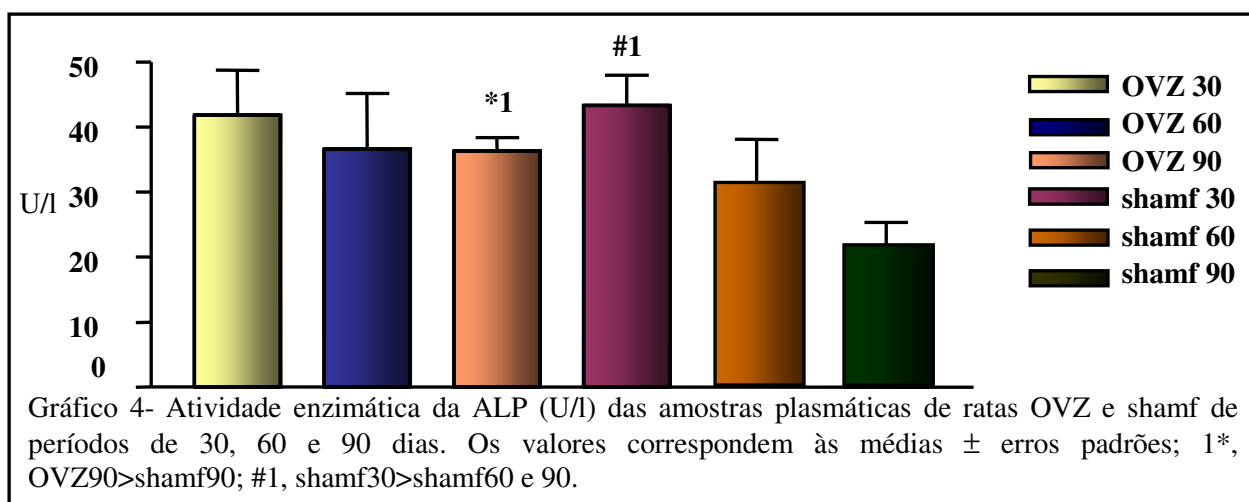
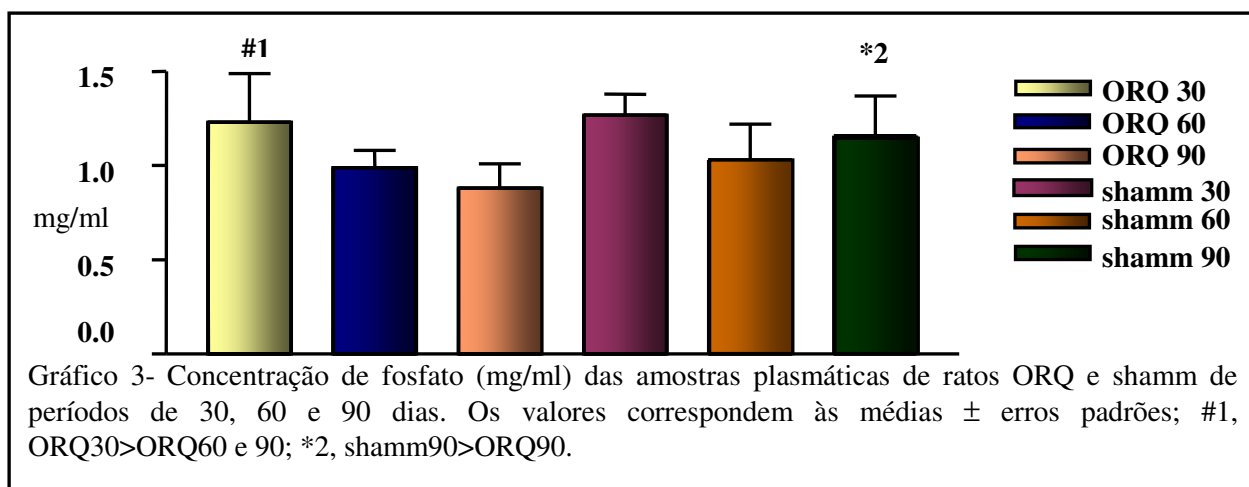
Tabela 2- Valores médios e erros padrões da atividade da fosfatase alcalina (ALP) e concentrações de cálcio (Ca^{+2}) e fosfato (PO_4^{-3}) de ratas ovariectomizadas (OVZ) e sham nos períodos de 30, 60 e 90 dias.

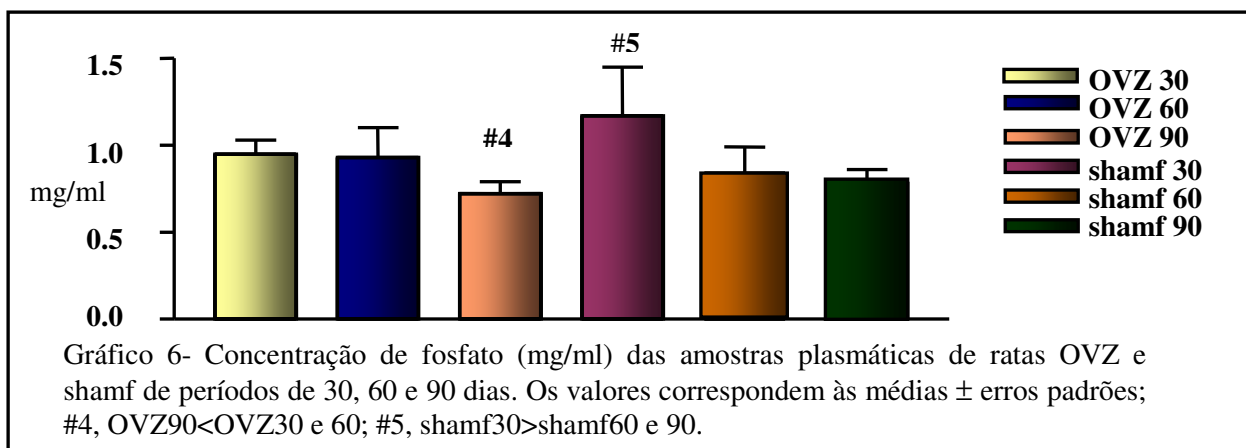
Grupos	OVZ30	OVZ60	OVZ90	shamf30	shamf60	shamf90
ALP	41,88±6,88	36,65±8,57	36,37±2,03 *1	43,40±4,63 #1	31,46±6,68	20,98±4,40
Ca^{+2}	6,51±0,40	9,22±0,25 #2	8,38±0,53	6,73±0,36	8,97±0,37 #3	7,00±0,51 *2
PO_4^{-3}	0,95±0,08	0,93±0,17	0,72±0,07 #4	1,17±0,28 #5	0,84±0,15	0,79±0,07

N=8; média±erro padrão. 1*, OVZ90>shamf90; *2, OVZ90>shamf90; #1, shamf30>shamf60 e 90; #2, OVZ60>OVZ30 e 90; #3, shamf60>shamf30 e 90; #4, OVZ90<OVZ30 e 60; #5, shamf30>shamf60 e 90.

Os resultados significativos para os machos foram: para ALP no grupo ORQ30 menor que shamf30; para PO_4^{-3} maior no grupo ORQ30 comparado aos 60 e 90, e menor no grupo ORQ90 em relação ao shamf (Ver Gráficos 1 ao 3). Quanto às fêmeas, os valores foram: para ALP maior para o shamf30 em relação aos 60 e 90, e também maior para OVZ90 comparado ao shamf90; para Ca^{+2} foi maior para shamf60 em relação aos demais; e maior no grupo OVZ90 comparado ao shamf90; para PO_4^{-3} foi menor para o OVZ90 comparado aos demais, e maior no shamf30 com relação aos 60 e 90 (Ver Gráficos 4 ao 6).







Concluiu-se que a deficiência hormonal não alterou os valores de cálcio para os machos, entretanto, em curto prazo diminuiu os níveis de fosfatase alcalina. Nas fêmeas, os valores de cálcio e fosfatase alcalina foram maiores com longo período de deficiência hormonal, sugerindo alta remodelação óssea. Ainda, a concentração de fosfato apresentou-se menor nos grupos castrados de longo período de tempo, indicando que este íon foi mais sensível à deficiência hormonal.

Referências Bibliográficas

- 1- ROY, A.M. Rapid method for determining alkaline phosphatase activity with thymolphthalein monophosphate, **Clin Chem**, v.16, n.5, p.431-6, May 1970.
- 2- MOOREHEAD, W.R., BIGGS, H.G. Amino-2-methyl 1-propanol as the alkalizing agent in an improved continuous - Flow cresolphalein complexona procedure for calcium in serum. **Clin.Chem.**, v.20, p.1458-60, 1974.
- 3- CHEN, P.S., et al. Microdetermination of Phosphorus. **Analyt. Chem.**, v. 28, p.1758, 1956.

Bolsa: FAPESP -