



Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia

E-ISSN: 1900-9607

revistamvz@ces.edu.co

Universidad CES

Colombia

González Sepúlveda, Carlos Augusto; Barahona Rosales, Rolando
Mode of action of vitamin D3, 1--hydroxycholecalciferol (1--OH-D3) and 25-hydroxycholecalciferol (25-OH-D3) in commercial laying hens
Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia, vol. 9, núm. 1, enero-junio, 2014, pp. 114-127
Universidad CES
Medellín, Colombia

Available in: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=321431559011>

- How to cite
- Complete issue
- More information about this article
- Journal's homepage in redalyc.org

redalyc.org

Scientific Information System

Network of Scientific Journals from Latin America, the Caribbean, Spain and Portugal

Non-profit academic project, developed under the open access initiative

Mode of action of vitamin D₃, 1- α -hydroxycholecalciferol (1- α -OH-D₃) and 25-hydroxycholecalciferol (25-OH-D₃) in commercial laying hens^a

Mecanismos de acción de la vitamina D₃, 1- α -hidroxicolecalciferol (1- α -OH-D₃) y 25-hidroxicolecalciferol (25-OH-D₃) en gallinas de postura comercial

Mecanismos de ação da vitamina D₃, 1- α -hidroxicolecalciferol (1- α -OH-D₃) e 25-hidroxicolecalciferol (25-OH-D₃) em galinhas poedeiras

Carlos Augusto González Sepúlveda^{1*}, Zoo, MSc, (c) PhD, Rolando Barahona Rosales², Zoo, MSc, PhD

**Autor para correspondencia: Carlos Augusto González Sepúlveda. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. cagonzalez@unal.edu.co.*

¹ Profesor Asociado, Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín; cagonzalez@unal.edu.co. ² Profesor Titular, Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín; rbarahonar@unal.edu.co

(Recibido: 14 de marzo, 2014; aceptado: 9 de mayo, 2014)

Abstract

Poultry are commonly fed diets based on corn and soybeans. Much of the phosphorus present in these feedstuffs is in the form of a phytate complex. Phytate phosphorus is relatively insoluble in the digestive tract of birds and mostly not absorbed. 1- α -hydroxycholecalciferol (1- α -OH-D₃) and 25-hydroxycholecalciferol (25-OH-D₃), both vitamin D metabolites, have been used to increase the utilization of phytate phosphorus, improve performance and bone mineralization, and decrease tibial dyschondroplasia. The present review aims to provide scientific information regarding the use of vitamin D₃ metabolites such as 1 alpha-hydroxycholecalciferol and 25-hydroxycholecalciferol. Both of them are precursors for 25 (OH)₂ D₃, which is the metabolically active form of vitamin D₃ in laying hens and broilers.

Key words

Commercial laying hens, phosphorous, poultry diets, vitamin D.

^aPara citar este artículo: González Sepúlveda CA, Barahona Rosales R. Mecanismos de acción de la vitamina D₃, 1- α -hidroxicolecalciferol (1- α -OH-D₃) y 25-hidroxicolecalciferol (25-OH-D₃) en gallinas de postura comercial. Rev CES Med Zootec. 2014; Vol 9(1): 114-127.

Resumen

Las aves de corral comúnmente reciben una alimentación a base de maíz y soya y mucho del fósforo presente en estas plantas se encuentra en forma de un complejo fítico que es relativamente insoluble en el sistema digestivo de las aves y no es disponible para su utilización. Los compuestos 1- α -hidroxicolecalciferol (1- α -OH-D₃) y 25-hidroxicolecalciferol (25-OH-D₃), metabolitos de la vitamina D, han sido usados para incrementar la utilización del fósforo fítico, mejorar el desempeño y la mineralización ósea y disminuir los problemas de discondroplasia tibial. La presente revisión busca proveer información científica referente al empleo de metabolitos de la vitamina D₃ como la 1- α -hidroxicolecalciferol y la 25-hidroxicolecalciferol, precursoras de la 25 (OH)₂ D₃, que es la forma metabólicamente activa de la vitamina D₃ en gallinas ponedoras y pollos productores de carne.

Palabras clave

Dietas de aves de corral, gallinas de postura comercial, fósforo, vitamina D.

Resumo

As galinhas especializadas na produção de ovos comumente recebem uma dieta à base de milho e soja. Muito do fósforo presente nesses alimentos se encontra em forma de um complexo fítico que é relativamente insolúvel no sistema digestivo das aves e não é disponível para sua utilização. Os compostos 1 α -hidroxicolecalciferol (1- α -OH-D₃) e a 25-hidroxicolecalciferol (25-OH-D₃), metabolitos da vitamina D, tem sido utilizados para incrementar a utilização do fosforo fítico, melhorar o desempenho e a mineralização óssea e diminuir os problemas de discondroplasia tibial. A presente revisão pretende prover informação científica referente ao emprego de metabolitos da vitamina D₃ como a 1- α -hidroxicolecalciferol e a 25-hidroxicolecalciferol, precursoras da 25 (OH)₂ D₃, que é a forma metabólicamente ativa da vitamina D₃ em galinhas poedeiras e frangos de corte.

Palavras chave

Dieta das aves domestica, galinhas especializadas na produção de ovos, fosforo, vitamina D.

Introducción

Las aves requieren vitamina D₃ (colecalfiferol) para el adecuado metabolismo del calcio y el fósforo. Además, el colecalfiferol ayuda a la paratohormona a mantener el nivel sanguíneo de calcio necesario para la formación del esqueleto óseo, picos, uñas y la cáscara del huevo². El raquitismo ha sido considerado una enfermedad nutricional⁷⁴ producida por deficiencia de calcio, fósforo y vitamina D, aunque se pensaba que era provocada por una deficiencia de vitamina A. En 1923, dos grupos

independientes de investigadores comprobaron que la irradiación solar de pollos o ratas deficientes de vitamina D tenía efecto preventivo y curativo del raquitismo⁷⁴. Vitamina D es el término general aplicado a un número de derivados del esteroil liposoluble⁷⁴, que son activos en la prevención del raquitismo en animales y que existen en distintas formas. Sin embargo, solamente el calciferol (vitamina D₃), tiene efecto apreciable a la prevención del raquitismo en las gallinas⁹. Las aves pueden obtener la vitamina D₃ a partir de premezclas vitamínicas y de subproductos de origen animal y también por producción endógena (radiación ultravioleta). Adicionalmente, un

precursor de la D₃, la vitamina D₂ o ergocalciferol, se puede obtener de dietas de origen vegetal⁴⁸. La vitamina D₃ tiene diversas funciones⁵⁸ dentro de la fisiología del metabolismo de calcio y fósforo de las aves, las que incluyen: mantener la concentración sanguínea, estimular la absorción intestinal, estimular la reabsorción de los riñones y estimular su incorporación en la matriz ósea. Esto le permite regular el crecimiento y el desarrollo del hueso^{14, 39}.

Biosíntesis de la vitamina D

La vitamina D es sintetizada en la piel de los animales mediante la acción de la luz ultravioleta (UV 295-300 nm) sobre 7-dehidrocolesterol. Esta reacción depende de la absorción de la luz UV en el 5,7-dieno del anillo β del núcleo esterol, causando que este se abra e isomerice a la forma más energéticamente estable *s-trans*, *s-cis*-previtamina D₃^{31, 40, 56, 62}. Mediante esta reacción, solamente entre el 5 al 15% del 7-dehidrocolesterol disponible se convierte a vitamina D₃¹⁵.

La eficiencia de este proceso es afectada por las propiedades físicas de la piel y el medio ambiente. Además, existen diferencias entre individuos y especies y se ha reportado gran variación en respuesta al día, estación y latitud. El 7-dehidrocolesterol es además un precursor, por diferentes vías, de colesterol. Este es sintetizado en las glándulas sebáceas de la piel, y luego secretado de manera uniforme entre la superficie, donde es reabsorbido dentro de varias capas de la epidermis⁴⁰. La luz necesaria para producir colecalciferol a partir de 7-dehidrocolesterol puede ser luz ultravioleta del sol o de una fuente artificial⁹. El 7-dehidrocolesterol es sintetizado en el interior del organismo y es transportado a la superficie de la piel, a través de los folículos de las plumas y raíces de las escamas⁷⁴.

Dos componentes reciben el nombre de vitamina D: el ergocalciferol, o vitamina D₂, y el colecalciferol, o vitamina D₃^{2, 55}. En aves, solo es efectiva la vitamina D₃, pues estas carecen de un factor enzimático necesario para convertir la forma pro vitamínica D₂ en el compuesto activo. Las dos formas activas se logran mediante la irradiación ultravioleta de los esteroides ergosterol y 7-dehidrocolesterol⁵⁶. El ergosterol es de origen vegetal, y el 7-dehidrocolesterol de origen animal³⁰. No es necesario agregar vitamina D a la dieta cuando existen condiciones adecuadas de irradiación de luz ultravioleta. Más que vitamina, la vitamina D podría considerarse como una pre hormona^{55, 48}, ya que es precursora de la hormona

renal 1,25 di-hidroxi-vitamina D₃ [1,25 (OH)₂-D₃], la cual ejerce funciones metabólicas nucleares y no nucleares⁵¹. Así mismo, otro metabolito de la vitamina D, la 24,25 di-hidroxi-vitamina D₃ [24,25 (OH)₂-D₃], podría ser considerado como otra hormona renal derivada de la vitamina D^{14,30, 40, 48}.

Función de la vitamina D

Junto con calcio, fósforo y magnesio, la vitamina D juega un papel importante en el mantenimiento de la salud de huesos y dientes. En salud humana, sin embargo, se han reportado otras funciones de esta vitamina, como su rol en la respuesta inmune, en la proliferación y diferenciación celular y en la función muscular y equilibrio, entre otras⁴⁸. Así, niveles séricos de vitamina D que no se traducen en problemas óseos, pueden contribuir al desarrollo de enfermedades autoinmunes como la esclerosis múltiple y diabetes tipo 1 o estar asociados a riesgo aumentado de cáncer de colon, próstata y mama⁵⁷. En adultos mayores, la deficiencia de vitamina D puede inducir debilidad en los músculos proximales, con mayor riesgo de caídas y fracturas^{32, 67}. La vitamina D está involucrada en el mecanismo que balancea el calcio esquelético y sanguíneo y en aves es esencial para mantener la producción de huevos, formación de la cáscara y la homeostasis del calcio⁷².

En la industria avícola, la vitamina D₃ ha sido suplementada en concentraciones muy altas. Esto obedece a la necesidad de contar con un factor de seguridad, debido a variabilidad en la capacidad de prevenir la incidencia de anomalías de piernas en el caso de pollos de engorde y reducción en la calidad de huevos en el caso de gallinas ponedoras⁶. Los niveles sugeridos de vitamina D para ponedoras varían de 300 a 2,500 UI/kg de alimento^{61, 51, 71}. Se ha reportado mayor concentración de vitamina D en huevos cuando se usa D₃ en lugar de D₂ en la dieta, además de mejorar la resistencia de los huesos a las fracturas⁵⁴. Los receptores de vitamina D⁸⁸ están más concentrados en el útero que en otros segmentos del oviducto de ponedoras comerciales en producción. El metabolito 25(OH)D₃ es de 2,5 a 4,5 veces más activo que el colecalciferol (D₃)^{29, 77}, siendo de gran valor en la prevención de problemas óseos y de grosor de la cáscara de huevos. El metabolito 25(OH)D₃ puede ser 200 veces más efectivo que el colecalciferol en estimular la absorción intestinal del calcio⁵¹. Es claro

que la biopotencia depende también de la respuesta de la variable de interés (cenizas de la tibia, fortaleza del hueso, [Ca²⁺] plasmático, absorción de Ca²⁺, incidencia de discondroplasia tibial, etc.). Sin embargo se ha reportado que no se requiere del uso de la 25(OH)D₃, para prevenir la discondroplasia tibial o mejorar la resistencia ósea⁷⁰.

Con respecto al fósforo, la acción del 25 OH-D₃ y los otros metabolitos D₃, podrían mejorar indirectamente su absorción a través de una mejor asimilación del Ca en el intestino delgado. Esto porque a pH bajo en el intestino delgado, el calcio puede quelatarse o ligarse a la molécula de fitato, lo que genera la molécula quelatada fitina, que tiene una solubilidad drásticamente menor a pH bajo. Al bajar el Ca de la dieta, el fósforo fitico es más fácilmente soluble y accesible a las acciones hidrolíticas de las fitasas endógenas (intestinales) o exógenas. También, las acciones catalíticas de algunas fitasas se inhiben por las altas concentraciones de fósforo⁸⁶. Debido a que el cambio del fósforo a la sangre desde la mucosa intestinal depende de la vitamina D₃⁸⁵, el 25(OH)D₃ puede estar ayudando a la acción hidrolítica de la fitasa por la reducción del efecto inhibitorio del fósforo.

El calcio y la reproducción aviar

Con el propósito de mantener la concentración extracelular de Ca²⁺, los vertebrados terrestres utilizan un complejo mecanismo de retroalimentación que involucra el sistema intestinal, renal y óseo y las hormonas reguladoras del calcio paratohormona (PTH), calcitonina y 1,25-dihidroxicolecalciferol (1,25 (OH)₂ D₃) que es la forma hormonal del colecalciferol o vitamina D₃⁸¹. Los cambios de las concentraciones de Ca²⁺ en el plasma son detectados por receptores sensibles de Ca²⁺. El sistema responde al detectar estos cambios ajustando el transporte de Ca²⁺ dentro y fuera del pool extracelular^{57, 45, 73, 69}.

En gallinas ponedoras, para la correcta calcificación de la cáscara se suministra calcio adicional, el cual es absorbido a través del útero. Esto impone grandes exigencias adicionales de Ca²⁺ homeostático, ya que se requiere mucho más calcio para la formación de la cáscara del que existe en el pool extracelular. Estas demandas surgen cuando las aves alcanzan la madurez sexual antes de iniciar el ciclo de postura, para apoyar la formación del hueso medular y para saturar el plasma del estrógeno dependiente de la proteína fijadora del calcio, que se forma en el hígado después de que se dan

los mayores requerimientos de Ca²⁺, durante la fase de producción de huevos^{41, 83, 84}.

La deposición del calcio en la cáscara del huevo puede ser controlada por las tres hormonas reguladoras del calcio o ser controlada de una forma diferente al transporte del Ca²⁺ hacia el intestino, hueso y riñón^{10, 11}.

El lumen intestinal de las aves empieza a estar casi completamente vacío de Ca²⁺ de cuatro a cinco horas después de finalizar el consumo (o cuando la luz ha finalizado para aves que tienen libre acceso al alimento)⁴⁴. La calcificación de la cáscara en gallinas ponedoras ocurre entre nueve y veintidós horas después de la ovulación (una o dos horas después de finalizada la luz, se inicia la deposición de Ca²⁺ en la cáscara, mientras que el intestino carece de calcio dietario). Dos mecanismos se incrementan: el primero es un aumento de la absorción de Ca²⁺ durante el periodo de oscuridad, principalmente cuando el alimento todavía está presente en el intestino; y el segundo es la activación de un proceso de resorción ósea, en su mayoría en el hueso medular. Ambos mecanismos actúan durante el periodo de calcificación de la cáscara que ocurre durante la noche. La restauración de la pérdida circadiana de iones de calcio del hueso, en aves con producciones largas ocurre durante el subsiguiente periodo de luz del día, cuando la absorción intestinal de Ca²⁺ es activado por el nuevo consumo del calcio. Se ha reportado que la adición de 4,12% de calcio junto con una caliza gruesa de 1,00mm, mejora el desempeño de las gallinas ponedoras sin afectar la calidad ósea o de huevos⁵.

Hueso medular

La formación y mantenimiento del hueso medular (HM) requiere de una combinación de efectos de estrógenos y andrógenos¹⁸. En adición, esta mineralización requiere de un suplemento intestinal de Ca²⁺ y el metabolito activo de la vitamina D la 1,25(OH)₂ D₃^{47, 63, 64}. Durante las 24 o 25,5 horas de la formación del huevo en gallinas y codornices, el HM se forma y reabsorbe por los osteoblastos y osteoclastos, respectivamente. Los cambios en el HM son mejor manifestados en su grado de calcificación que en su volumen²⁷. Antes de la entrada de un huevo en la glándula del cascarón, la formación del HM por los osteoblastos es inducida en respuesta a la secreción de estrógenos por los folículos maduros y su unión a receptores específicos ocurren principalmente en la membrana plasmática osteoblastos^{8, 79}. Durante

la calcificación de la cáscara, la concentración de Ca²⁺ disminuye en el plasma, lo cual induce a la secreción de PTH^{28, 75, 82} y su unión a receptores específicos, lo que a su vez requiere la reabsorción por los osteoclastos^{79, 87}. La glándula paratiroides es usualmente sensible a pequeñas desviaciones en concentraciones del calcio iónico en los fluidos extracelulares, y cuando las concentraciones caen, la PTH es secretada normalmente²⁰ y activa la vitamina D₃⁶⁶. Mientras que el papel de las hormonas gonadales y 1,25 (OH)₂D₃ en la formación del HM, y de hormona paratiroidea en la reabsorción HM está bien establecido, la participación de la calcitonina, que es secretada por las glándulas ultimobranquiales aún no se conoce con certeza^{27, 38}.

Formación ósea y mineralización

Aunque deficiencias en la oferta de vitamina D generan bajos crecimientos esqueléticos y mineralización defectuosa, esto no es evidencia inequívoca que la 1,25(OH)₂D₃ u otro metabolito de la vitamina D tengan efectos directos en huesos y cartílagos a través del crecimiento y la mineralización del esqueleto. Esto obedece a la extrema dificultad para estudiar mineralización *in vitro* aunque es sabido que la administración *in vivo* de la vitamina D o sus metabolitos como 1,25(OH)₂D₃ produce elevaciones de calcio y fósforo en el plasma los cuales son responsables de la mineralización⁴⁸.

Metabolismo normal de la vitamina D₃

Gracias a la acción de los rayos UV, el colesterciferol se produce en la piel y es transportado al hígado donde se hidroxila a 25-OH D₃ (calcifediol) para posteriormente ser activado en el riñón a 1-alfa,25-dihidroxi-colesterciferol (1,25-(OH)₂-D₃ o calcitriol)^{55,58}. A partir de ese momento, la molécula empieza a cumplir sus funciones hormonales^{17, 48}. La activación de esta molécula se da gracias a la acción de la enzima 1- α -hidroxilasa renal, la cual es controlada principalmente por la paratohormona (PTH) y por los niveles circulantes de calcio y fosfatos³⁰. El exceso de la hormona es regulado principalmente por su almacenamiento en el tejido graso⁴⁸. Algunas de las funciones más importantes de esta hormona tienen que ver con el metabolismo de calcio y fósforo, específicamente su absorción en el intestino, su reabsorción por el riñón y la mineralización (deposición) y desmineralización (movilización) de los huesos⁹. A su vez, esta vitamina

contribuye a mantener la homeostasis del calcio en el organismo, lo cual es vital para el buen funcionamiento del sistema muscular y nervioso³⁰. En el útero de ponedoras, se ha encontrado que esta molécula estimula la producción de la proteína fijadora del calcio (CaBP), la cual es indispensable en la absorción del calcio para la formación de la cáscara del huevo²⁵.

La regulación del sistema endocrino⁴⁰ de la vitamina D se realiza por un estricto control de la actividad de la 1-hidroxilasa ejercido por varios factores: la presencia de 1,25-(OH)₂-D₃, PTH, calcitonina (CT) y muchas otras hormonas, así como de los niveles circulantes de Ca²⁺ y fosfatos. La 25-hidroxilasa parece ser poco regulada, principalmente por la concentración hepática de vitamina D, con poca o ninguna inhibición por 25-OH-D₃. Esta 25-hidroxilasa se incrementa por los inductores del citocromo P-450 (fenobarbital, difenilhidantoína) y es inhibida por la isoniazida²¹. La síntesis renal dominante de 1,25-(OH)₂-D₃ ocurren respuesta a la concentración de PTH en suero y CT para los niveles de Ca⁺⁺ y fosfato. Por lo tanto, se trata de un aumento que ocurre bajo las siguientes tres condiciones:

- Cuando el suero es bajo en Ca⁺⁺, se estimula la glándula paratiroidea a producir PTH, y esto conlleva un incremento en la función renal de 1- α -hidroxilasa.
- Cuando el fosfato sérico es bajo (en presencia normal de Ca⁺⁺ en suero), un mecanismo desconocido aparentemente asociado a una hormona de la glándula pituitaria aumenta la 1- α -hidroxilasa.
- Cuando los niveles séricos de Ca⁺⁺ y fosfato son bajos se inicia un mecanismo de súper estimulación de la 1- α -hidroxilasa.

Las aves poseen esteroides tisulares (7-dehidrocolesterol) en la piel, provenientes de las glándulas uropígeas encontradas en las plumas y que por acción de la luz solar son convertidos en vitamina D₃ o colesterciferol²³. En el proceso de acicalamiento (reacomodamiento de las plumas) el ave ingiere parte de los esteroides tisulares (7-dehidrocolesterol) convertidos a vitamina D₃ o colesterciferol. Una vez en el tracto digestivo, la vitamina D₃ llega hasta el hígado para ser transformada en el metabolito 25-OH-D₃ por la acción de los ácidos biliares. Luego, este metabolito llega a los riñones donde es convertido a 24,25-di-hidroxicolesterciferol y 1,25-di-hidroxicolesterciferol (1,25 (OH)₂D₃), metabolitos que

serán aprovechados por el intestino y pasarán al torrente sanguíneo para ser absorbidos homeostáticamente por los huesos²¹.

Cuando se incluyen algunos de los metabolitos de la vitamina D₃ en la dieta, es posible observar respuestas que no pueden ser obtenidas con el uso de vitamina D₃ sola. Para obtener con vitamina D₃ respuestas similares a las observadas con 25-OH-D₃ o algunos de sus metabolitos, se debe incluir vitamina D a niveles cercanos a los que generan los síntomas de toxicidad¹². Esto puede ser explicado por diferencias en la absorción intestinal entre vitamina D₃ y 25-OH-D₃. Cuando la vitamina D₃ es hidroxilada a 25-OH-D₃, se vuelve naturalmente más polar. De esta manera, toma diferentes características de absorción en el intestino delgado. Ambos compuestos son absorbidos principalmente en el duodeno y en la parte superior del yeyuno¹². La absorción de colecalciferol llega a ser de aproximadamente 70-75%, en cambio la de 25-OH-D₃ se acerca al 90%⁵².

directa del aporte exógeno o endógeno de esta vitamina. Las actividades de esta vitamina se pueden categorizar de acuerdo al sitio del cuerpo donde ocurren. Por ejemplo, la proteína fijadora del calcio mejora la absorción del calcio por el intestino, orina y deposición en cáscara respectivamente^{3, 4, 26, 46}. La vitamina D₃ circula en el plasma y es captada rápidamente por el hígado donde sufre su primera transformación que la convierte en 25-(OH)D₃, la forma circulatoria predominante, incluidos la vitamina D₃ y sus metabolitos. Esta reacción es catalizada por la enzima 25-hidroxilasa presente en la fracción microscópica del hígado³⁰. La conversión de vitamina D a 25-HO D₃ carece prácticamente de sistema de regulación, por lo que la administración de vitamina D en dosis farmacológicas produce incrementos anormales en la tasa de circulante de 25-HO-D₃. La 25-OH-D₃ es transportada por una alfa globulina de 52.000 Dalton de peso molecular. El mismo sistema de transporte se utiliza para la Vitamina D y todos sus metabolitos, pero la 25-OH-D₃ tiene la mayor afinidad³⁰ (Figura 1).

Rutas metabólicas de la vitamina D

La concentración de 25-OH-D₃ en el plasma es una función

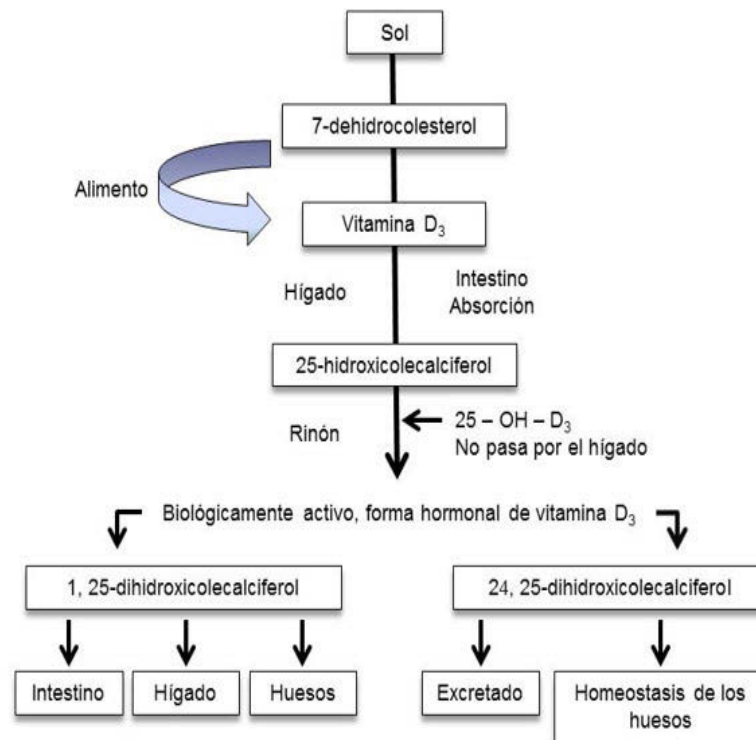


Figura 1. Ruta metabólica de la vitamina D.

En concentraciones fisiológicas, la 25-OH-D₃ no actuaría sobre ningún proceso fisiológico. Para ello, debe ser activada, lo que ocurre a nivel mitocondrial en el riñón bajo la acción de la enzima 25-OH-D₃ – 1- α -hidroxilasa (1- α -Hasa). En este sistema enzimático, una flavoproteína, una proteína ferrosulfurada y el citocromo P-450, participan en la hidroxilación del sustrato. La 1,25 (OH)₂-D₃ satisface todos los requerimientos para ser considerada una hormona³⁰. Se origina a partir del sistema prehormona vitamina D - 1,25 (OH)₂-D₃ en un órgano específico: el riñón. La velocidad de síntesis está regulada por un complejo mecanismo en el que participan

iones y hormonas. Una vez formada la 1,25 (OH)₂-D₃, ella misma ejerce sus efectos a nivel intestinal, renal y óseo. Otro sistema enzimático, presente en el riñón, convierte a la 25-OH-D₃ en otro esteroide: la 24,25 (OH)₂-D₃. La enzima que actúa en esta transformación es la 25-OH-D₃-24 Hidroxilasa (24-OHasa), que se encuentra en el riñón, intestino y cartílago³⁰. La hidroxilación en la posición 24 sería el paso inicial en la inactivación del sustrato 25-OH-D₃ y también en la inactivación de la 1,25(OH)₂-D₃, ya que este esteroide se hidroxila a sí mismo en el trihidroxilado 1,24,25 (OH)₃-D₃ como se observa en la figura 2.

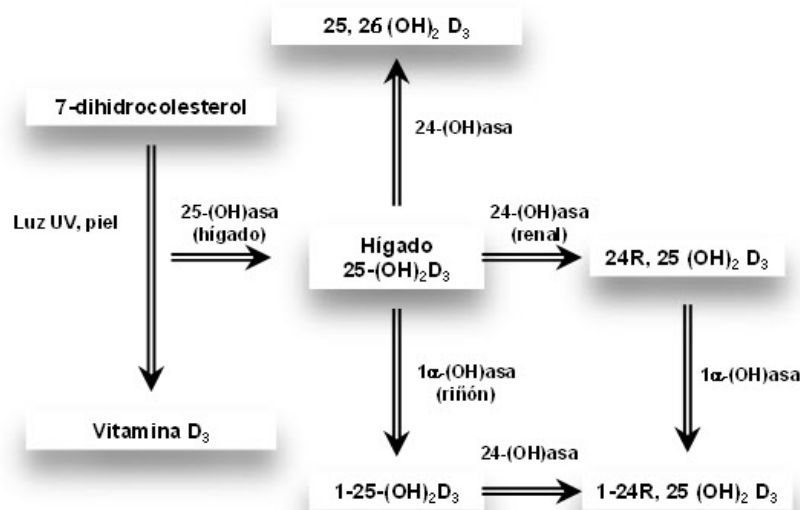


Figura 2. Participación de la 24-OHasa en la ruta metabólica de la vitamina D

Efecto intestinal

La 1,25 (OH)₂D₃ estimula la absorción de calcio actuando de forma directa sobre las células del epitelio intestinal. El sitio principal de acción es el duodeno y la primera porción del yeyuno. El tiempo entre la administración de la 1,25 (OH)₂D₃ y el aumento de la calcemia es de tres a cuatro horas, en contraposición con la vitamina D, cuyo intervalo es mayor (de ocho a diez horas). Además la 1,25 (OH)₂D₃ estimula el transporte de fosfatos y el sitio principal de acción es a nivel del yeyuno e íleon. En dosis altas, la 25(OH)D₃ es también capaz de estimular la absorción de calcio y fósforo³⁰.

Efecto óseo

La 1,25-(OH)₂-D₃ produce una elevación de la calcemia al

actuar a nivel del osteoclasto aumentando su número y actividad y estimulando toda la superficie de resorción. La 25(OH)D₃ es el compuesto más potente para estimular la mineralización ósea y es un metabolito sintetizado ante un estrés hipocalcémico y su papel fisiológico junto con la PTH, es el restablecimiento rápido de la calcemia, estimulando la absorción intestinal y actuando directamente sobre el hueso para promover la resorción del tejido óseo con la liberación de calcio y otros minerales³⁰. Una vez restablecida la calcemia, cesa la síntesis de 1,25-(OH)₂-D₃ y comienza la producción de 24,25(OH)₂D₃. La acción de la 25(OH)D₃ se explica por su conversión a 1,25-(OH)₂-D₃, con recuperación de la calcemia, estimulando luego activamente la mineralización del hueso por intermedio de la 24,25(OH)₂D₃³⁰.

Efecto renal

Tanto la 1,25-(OH)₂-D₃ como la 25(OH)D₃, aumentan la resorción de calcio y fósforo. La administración de la vitamina D induce a la síntesis de una proteína fijadora de calcio en el túbulo contorneado distal y en el túbulo colector, puntos de acción de la PTH. En el riñón, la 1,25 (OH)₂D₃ inhibe la actividad de la 25(OH) D1-α hidroxilasa y estimula la actividad de la 25(OH) D24 hidroxilasa, con la consiguiente formación de 24,25 (OH)D₃³⁰. El uso de vitamina D en ponedoras es vital para asegurar una producción normal (peso y cáscara) de huevos y para alcanzar los parámetros productivos esperados¹. A su vez, la producción y peso del huevo⁷⁸ y la conversión alimenticia de ponedoras mejoran y se disminuye el número de huevos fracturados, cuando se adicionan 300 g de 25-hydroxycholecalciferol a la premezcla que contenga una cantidad adecuada de vitamina D₃.

Un aporte adecuado de vitamina D en la dieta, ayuda a prevenir la llamada "Fatiga de Jaula"⁶⁸, previniendo los problemas óseos en aves sometidas a un alto grado de confinamiento. Por lo tanto, una manera efectiva y económica de resolver los problemas generados por deficiencia de 1,25-(OH)₂-D₃ es suplementar en la dieta de 5 a 10 μg/kg de alimento de 1αOH-D₃, la cual se hidroxilará rápidamente a su forma activa 1,25-(OH)₂-D₃. Adicionalmente, a menor concentración de calcio en el tubo digestivo se formará menor cantidad de jabones con ácidos grasos, mejorando la absorción de la grasa. Una propiedad importante del 1-α-OH-D₃ es su posible sinergia con enzimas fitasas exógenas, ya que éstas últimas actúan a pH bajo en el tubo intestinal superior para ayudar en la digestión del fitato a fosfato e inositol, mientras la 1-α-OH-D₃ actúa.

La vitamina D₃ como hormona esteroide

Algunos autores definen la vitamina D₃ como una hormona^{48, 55}, debido a que por lo menos algunos, si no todos, los mecanismos de acción de vitamina D₃ se ajustan al modelo clásico de una hormona esteroide. Es decir, tiene células específicas de órganos con proteínas específicas receptoras, y el receptor ligando tiene movimientos complejos en el núcleo, donde se une a la cromatina en secuencias específicas de ADN y estimula la transcripción de ciertos genes para producir ARNm que codifican la síntesis de proteínas específicas. Es por esto que los metabolitos activos de la vitamina D₃ pueden ser considerados hormonas en

el sentido de que su tasa de producción es controlada y a menudo afecta a los tejidos específicos en sitios alejados de su fuente de producción⁴⁸.

El órgano objetivo de los efectos del 1, 25 (OH)₂D₃ mejor conocido es el intestino, donde se estimula la absorción tanto del calcio como del fósforo. Otro órgano objetivo es el hueso, en el que se estimula la liberación de calcio y fosfato. Por lo tanto, como en otros sistemas hormonales, existe un mecanismo de retroalimentación negativa que mediante la acción de 1,25 (OH)₂D₃ en el plasma puede aumentar la concentración de calcio y el fosfato y a su vez inhibir su síntesis y secreción. Es por estas propiedades que la 1,25 (OH)₂D₃ es considerada actualmente como una hormona en lugar de una vitamina⁴⁸.

La vitamina D en gallinas ponedoras

La vitamina D₃ es diez (10) veces más eficiente en las aves que la vitamina D₂⁴⁵. La deficiencia de la vitamina D en el crecimiento de las aves produce hipocalcemia, impidiendo el desarrollo del esqueleto a través del cartílago y la ampliación de las epífisis de los huesos largos y bordes debilitados^{53, 65}. Una vez el esqueleto alcanza el tamaño adulto, la vitamina D solamente es usada para la producción de huevos en gallinas ponedoras y reproductoras. La producción de huevos, el tamaño del huevo y la dureza de la cáscara disminuyen si las reservas óseas van progresivamente agotándose. Cíclicamente, las gallinas en producción liberan estrógenos en el ovario para maximizar la producción de la 1,25- dihidroxi-vitamina D con la concurrente formación de la cáscara del huevo²². Como resultado, niveles de la proteína fijadora de calcio en el útero y el calcio en la médula ósea son alteradas para facilitar la formación de la cáscara del huevo. La membrana del saco vitelino también responde a la 1,25-dihidroxi-vitamina D y una parte del calcio para la cáscara es transferido dentro de la yema para posteriormente ser usado en el nacimiento²⁴. Sin embargo, uno o más de los otros metabolitos presentes pueden completar el desarrollo embrionario y la formación de la cáscara⁴.

25-OH-D₃ en la fisiología y metabolismo de las aves

El metabolito 25-OH-D₃ se absorbe con más facilidad que la vitamina D₃^{13, 37}, su absorción se efectúa mediante difusión pasiva, mientras que el transporte del metabolito D₃ implica la formación de un micelio y requiere energía.

Una vez absorbida, el 25-OH-D₃ se transporta en la sangre ligada a una globulina⁴². En términos relativos, la proteína fijadora de la vitamina D₃ tiene una mayor afinidad por la 25-OH-D₃ que por la vitamina D₃. La conversión de vitamina D₃ a 25-OH-D₃ ocurre en el hígado y está regulada parcialmente por un mecanismo de retroalimentación. Sin embargo, en el intestino también se puede presentar cierta conversión al metabolito activo⁸⁰. Algunos investigadores no han encontrado ventajas de usar este metabolito en comparación con la vitamina D₃ para mejorar la calidad de la cáscara del huevo, la incubabilidad en reproductoras pesadas o el rendimiento en la producción^{7, 49}.

El 25-OH-D₃ se convierte subsiguientemente en 1,25-OH-D₃ en el riñón, dependiendo de las necesidades fisiológicas del animal.

1- α -OH-D₃ como fuente de vitamina D para aves

Cuando se administra 1 α -OH-D₃, este se hidroxila rápidamente a la forma activa 1,25-(OH)₂-D₃. También aumenta la absorción de calcio, como la de fósforo dando como resultado mayores minerales traza divalentes. Con menos calcio en el tubo digestivo para formar jabones de ácidos grasos insolubles, se mejora la absorción de la grasa¹⁹.

Los huesos son otro tejido objetivo para el 1,25-(OH)₂-D₃, por lo que la incidencia de alteraciones óseas, el raquitismo por deficiencia de calcio y fósforo y la discondroplasia tibial disminuyen o se eliminan por completo al añadir 1 α -OH-D₃ a las dietas de las aves. La incidencia de la discondroplasia tibial se redujo a menos del 25% en pollitos Ross cuando el calcio dietario fue menor a 0,85% en presencia de la 25OHD₃ en concentraciones de 10 μ g/kg y hubo ausencia total de lesiones con 70 μ g/kg de 25OHD₃ en la dieta⁵⁰. Una propiedad importante del 1 α -OHD₃ es que funciona independientemente de las enzimas fitasas exógenas⁶⁰. La fitasa funciona en el tubo gastrointestinal superior a pH bajo para ayudar a la digestión del fitato a fosfato e inositol¹⁹.

El uso de fitasas, ácido cítrico y 1- α -OH-D₃ individualmente, mejora el uso del fósforo en pollitas jóvenes alimentadas con dietas a base de maíz y soya con deficiencia de éste mineral⁷⁶. El 1 α -OH-D₃ activado funciona en el tubo gastrointestinal inferior a un pH alto para ayudar a la absorción del calcio, fósforo y minerales

traza. Aunque la 1 α -OH-D₃ y la fitasa trabajan juntos para aumentar la utilización del fósforo vegetal, solamente la 1 α -OH-D₃ tiene por tejido objetivo al hueso, de tal forma que es directamente activa en reducir las deformaciones óseas. Se dice que la 1 α -OH-D₃ termoestable es la mejor opción para maximizar la eficiencia de la utilización del alimento y para mantener la salud de los huesos y patas del pollo de engorda o gallinas ponedoras¹⁹.

Se ha demostrado que la suplementación con 1- α -hydroxycalciferol (1- α -OH-D₃), tiene efectos cualitativos y cuantitativos similares a los efectos de la fitasa exógena^{33,60}. Varios hidroxilados análogos de la vitamina D₃, incluyendo la forma hormonal de la vitamina, la (1,25-(OH)₂-D₃) y análogos sintéticos como la (1 α -OHD₃) han sido usadas para mejorar la utilización del fósforo fítico en pollitos de engorde bajo condiciones experimentales^{16,17,34,36,59}. La habilidad de la 1,25(OH)₂-D₃ y la 1 α -OHD₃ para mejorar la absorción de calcio y fósforo en la mineralización ósea, es de suma importancia para la industria avícola. Se ha demostrado que su utilización incrementa significativamente el porcentaje de cenizas en huesos, y mejora la retención de calcio y fósforo en pollitos a los 16 días de edad. El uso de la 1,25(OH)₂-D₃ y la 1- α -OHD₃ incrementa la retención del fósforo fítico, permitiendo disminuir el fósforo dietario³⁶. El fósforo es el tercer ingrediente más importante para la dieta de las aves después de la energía y la proteína y la excreción del fósforo comienza a tener un gran interés en aquellos países donde se práctica una producción ganadera muy intensiva^{1, 35, 43}.

Conclusiones

Las biomoléculas de la vitamina D₃ actúan efectivamente en la deposición de minerales en hueso, permitiendo una deposición normal en las aves al reducir los niveles de inclusión de calcio y fósforo en las dietas de inicio y levante de las aves de corral por tener una correlación positiva sobre su absorción. Como existe muy poca información con gallinas ponedoras o gallinas reproductoras se recomienda evaluar más el efecto de adicionar ésta biomolécula en la dieta de estos animales, en los que la fatiga de jaula, la fragilidad de la cáscara al final del ciclo productivo y la contaminación ambiental por excesos de fósforo en la dieta, representan pérdidas millonarias para la industria avícola nacional y mundial.

Referencias

1. Abdulrahim SM, Patel MB, McGinnis J. 1979. Effects of vitamin D₃ and D₃ metabolites on production parameters and hatchability of eggs. *Poultry Science* 58:858–863.
2. Agudelo González G. 2008. Fundamentos de nutrición animal aplicada. Ciencia y tecnología. Editorial Universidad de Antioquia, p 96–98.
3. Ameenuddin S, Sunde ML, Cook ME. 1985. Essentiality of vitamin D₃ and its metabolites in poultry nutrition: A review. *World Poultry Science Journal* 41:52–63.
4. Ameenuddin S, Sunde ML, Deluca HK, Ikekawua N, Kobayashi Y. 1982. 24 - hydroxylation of 25-hydroxyvitamin D₃ is it required for embryonic development in chicks? *Science* 217(4558): 451–452.
5. Anchieta de Araújo J, Vilar da Silva J, Perazzo Costa F, Batista de Sousa J, Naves Givisiez P, Sakomura N. 2011. Effect of the levels of calcium and particle size of limestone on laying hens. *R. Bras. Zootec.*, v.40, n.5, p.997-1005
6. Applegate TJ, Angel R, Classen HL. 2003. Effect of dietary calcium, 25- hydroxycholecalciferol, and bird strain on small intestinal phytase activity in broiler chickens. *Poultry Science* 82:1140–1148.
7. Araújo Torres C, Vieira S.L, Nuernberg Reis R, Klein Ferreira A, Da Silva P, Foch Furtado F. 2009. Productive performance of broiler breeder hens fed 25-hydroxycholecalciferol. *Revista Brasileira De Zootecnia-Brazilian Journal of Animal Science* 38(7): 1286 - 1290.
8. Armen TA, Gay CV. 2000. Simultaneous detection and functional response of testosterone and estradiol receptors in osteoblast plasma membranes. *Journal of Cellular Biochemistry* 79: 620–627.
9. Atencio A, Edwards Jr. HM, Pesti GM, Waret GO. 2006. The vitamin D₃ requirement of broiler breeders. *Poultry science* 85: 674–692.
10. Bar A, Hurwitz S, Edelstein S. 1975. Response of renal calcium-binding protein. Independence of kidney vitamin D hydroxylation. *Biochimica et Biophysica Acta* 411 (1): 106–112.
11. Bar A, Hurwitz S. 1973. Uterine calcium-binding protein in the laying fowl. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* 45: 579–586.
12. Bar A, Sharvit M, Noff D, Edelstein S, Hurwitz S. 1980. Absorption and excretion of cholecalciferol and of 25-hydroxycholecalciferol and metabolites in birds. *Journal of Nutrition* 110: 1930–1934.
13. Bar A, Vax E, Striem S. 1999. Relationships among age, eggshell thickness and vitamin D metabolism and its expression in the laying hen. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* 123:147–154.
14. Barroeta A, Calsamiglia S, Cepero R, López-Bote C, Hernández JM. 2002. Óptima nutrición vitamínica de los animales para la producción de alimentos de calidad: Avances en la nutrición vitamínica de broilers y pavos. España. Editorial Pulso. 208 p.
15. Beadle PC. 1977. The epidermal biosynthesis of cholecalciferol (Vitamin D₃). *Photochemistry and Photobiology* 25:519–527.
16. Biehl RR, Baker DH, DeLuca HF. 1995. 1- α -hydroxylated cholecalciferol compounds act additively with microbial phytase to improve phosphorus, zinc and manganese utilization in chicks fed soy-based diets. *Journal of Nutrition* 125:2407–2416.
17. Biehl RR, Baker DH. 1997. 1- α -hydroxycholecalciferol does not increase the specific activity of intestinal phytase but does improve phosphorus utilization in both cecectomized and sham-operated chicks fed cholecalciferol-adequate diets. *Journal of Nutrition* 127:2054–2059.
18. Bloom MA, McLean FC, Bloom W. 1942. Calcification and ossification: the formation of medullary bone in male and castrate pigeons under the influence of sex hormones. *Anatomical Record* 83: 99–120.

19. Boris A, Hurley JF, Trmal T. 1977. Relative activities of some metabolites and analogs of cholecalciferol in stimulation of tibia ash weight in chicks otherwise deprived of vitamin D. *Journal of Nutrition* 107:194–198.
20. Brown EM. 1991. Extracellular Ca²⁺ sensing regulation of parathyroid cell function and role of Ca²⁺ and other ions as extracellular (first) messengers. *Physiological reviews* 71: 371–411.
21. Calabotta D. 1997. El uso de 25-OH-D₃ puede mejorar el rendimiento de las aves. *Feedstuffs* 76:1–4.
22. Castillo L, Tanaka Y, Wineland MJ, Jowsey JO, Deluca HF. 1979. Production of 1,25 dihydroxyvitamin D₃ and formation of medullary bone in the egg-laying hen. *Endocrinology* 104: 1598–1601.
23. Church D, Pond W. 1987. Basic animal nutrition and feeding. Traducción Pérez LJ. Editorial Limusa México, DF. 438 p.
24. Clark NB, Murphy MI, Lee SK. 1989. Ontogeny of vitamin D action on the morphology and calcium transport properties of the chick embryonic yolk sac. *Journal of Developmental Physiology* 11:243–251.
25. Corradino RA, Wasserman R H, Pubols MH, Chang SI. 1968. Vitamin D₃ induction of a calcium-binding protein in the uterus of the laying hen. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 125:378–380.
26. Coty WA. 1980. A specific, high affinity binding protein for 1,25- dihydroxy vitamin D in the chick oviduct shell gland. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 93:285–292.
27. Dacke CG, Arkle S, Cook DJ, Wormstone IM, Jones S, Zaidi M, Bascal ZA. 1993. Medullary bone and avian calcium regulation. *Journal of Experimental Biology* 184: 63–88.
28. Dacke CG. 1976. Parathyroid hormone and eggshell calcification in Japanese quail. *Journal of Endocrinology* 71: 239–243.
29. De Luca HF. 1972. Metabolites of vitamin D: new tools of medicine and nutrition. *Proceedings of the Cornell Nutrition Conference*, p.20–24.
30. De Luca L. 2008. Calcio, fósforo, vitamina D y parathormona. Burneo laboratorios S.A. http://www.engormix.com/s_articles_view.asp?art=269
31. DeLuca HF, Nakada M, Tanaka Y, Sicinski R, Phelps M. 1988. The plasma binding protein for vitamin D is a site of discrimination against vitamin D₂ compounds by the chick. *Biochimica et Biophysica Acta* 965: 16–21.
32. Dhesi JK, Bearne LM, Moniz C, Hurley MV, Jackson SH, Swift CG, Allain TJ. 2002. Neuromuscular and psychomotor function in elderly subjects who fall and the relationship with vitamin D status. *Journal of Bone Mineralization Research* 17: 891–897.
33. Driver JP, Pesti GM, Bakalli RI, Edwards HM. 2005. Phytase and 1 α -hydroxycholecalciferol supplementation of broiler chickens during the starting and growing/finishing phases. *Poultry Science* 84: 1616–1628.
34. Edwards HM. 1993. Dietary 1,25-dihydroxycholecalciferol supplementation increases natural phytase utilization in chickens. *Journal of Nutrition* 123: 567–577.
35. Edwards HM, Shirley RB, Escoe WB, Pesti GM. 2002. Quantitative evaluation of 1- α -hydroxycholecalciferol as a cholecalciferol substitute for broilers. *Poultry Science* 81:664–669.
36. Edwards, H. M. 2002. Studies on the Efficacy of Cholecalciferol and Derivatives for Stimulating Phytate Utilization in Broilers. *Poultry Science* 81:1026–1031
37. Eisman JA, Shepard RM, DeLuca HF. 1977. Determination of 25-hydroxyvitamin D₂ and 25-hydroxyvitamin D₃ in human plasma using high pressure liquid chromatography. *Analytical Biochemistry* 80:298–305

38. Eliam MC, Basle M, Bouizar Z, Bielakoff J, Moukhtar M, de Vernejoul MC. 1988. Influence of blood calcium on calcitonin receptors in isolated chick osteoclasts. *Journal of Endocrinology* 119: 243–248.
39. Frost TJ, Roland DA. 1990. Influence of vitamin D₃, 1-alfa-hidroxyvitamin D₃, and 1,25-hidroxyvitamin D₃ on eggshell quality, tibian strength, and various production parameters in commercial laying hens. *Poultry Science* 69: 2008–2016.
40. Gerald F Combs. 2008. *The Vitamins Fundamental Aspects in Nutrition and Health*. Elsevier Academic Press Third Edition cap 6. P:145.
41. Griffin HD. 1992. Manipulation of egg yolk cholesterol — a physiologist's view. *World Poultry Science Journal* 48: 101–112.
42. Haddad JG, Walgate J. 1976. 25-hydroxyvitamin D transport in human plasma. *Journal of Biological Chemistry* 251:4803–4809.
43. Haussler MR, Zerwekh JE, Hesse RH, Rizzardo E, Pechet MM. 1973. Biological activity of 1- α -hydroxycholecalciferol, a synthetic analog of the hormonal form of vitamin D₃. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 70:2248–2252.
44. Hurwitz S, Bar A. 1966. Rate of passage of calcium-45 and yttrium-91 along the intestine, and calcium absorption in the laying fowl. *Journal of Nutrition* 89: 311–316.
45. Hurwitz S. 1996. Homeostatic control of plasma calcium concentration. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 31: 41–100.
46. Jande SS, Tolnai S, Lawson DE, 1981. Immunohistochemical localization of vitamin D-dependent calcium-binding protein in duodenum, kidney, uterus and cerebellum of chickens. *Histochemistry* 71, 99–116.
47. Kaetzel DMJ, Soares JHJ. 1984. The effects of dietary cholecalciferol steroids and gonadal hormone implantation on plasma 1,25-dihydroxycholecalciferol and bone calcification in preovulatory and senescent female Japanese quail. *Nutrition Research* 4: 621–632.
48. Kanis JA. 1982. Vitamin D metabolism and its clinical application. *Journal of Bone Joint Surgery* 64-B: 542–560.
49. Keshavarz, K. 2003. A Comparison Between Cholecalciferol and 25-OH-Cholecalciferol on Performance and Eggshell Quality of Hens Fed Different Levels of Calcium and Phosphorus. *Poultry Science* 82:1415–1422
50. Ledwaba MF, Roberson KD. 2003. Effectiveness of Twenty-Five-Hydroxycholecalciferol in the prevention of Tibial Dyschondroplasia in Ross Cockerels Depends on Dietary Calcium Level. *Poultry Science* 82:1769–1777
51. Leeson S, Summers JD. 1997. *Commercial poultry nutrition*. Second edition. Guelph University Books, 350p.
52. Leichtmann GA, Bengoa JM, Bolt MJG, Sitrin MD. 1991. Intestinal absorption of cholecalciferol and 25-hydroxycholecalciferol in patients with both Crohn's disease and intestinal resection. *American Journal of Clinical Nutrition* 54:548–552.
53. Long PH, Lee SR, Rowland GN, Britton WM. 1984. Experimental rickets in broilers: Gross, microscopic, and radiographic lesions. II. Calcium deficiency. *Avian Diseases* 28: 921–932.
54. Mattila P, Valaja, J, Rossow L, Venäläinen E, Tupasela T. 2004. Effect of Vitamin D₂- and D₃-Enriched Diets on Egg Vitamin D Content, Production, and Bird Condition During an Entire Production Period. *Poultry Science* 83:433–440
55. Maynard LA. 1981. *Nutrición animal* Editorial McGraw Hill, México 318 p.
56. McCollum EV, Simonds N, Backer JE, Shipley PG. 1922. Studies on experimental rickets. Xxi. An experimental demonstration of the existence of a vitamin which promotes calcium deposition. *Journal of Biological Chemistry* 53: 293–312.
57. Miller SC. 1992. Calcium homeostasis and mineral turnover in the laying hen. In: Whithead CC (Ed.) *Bone biology and skeletal disorders in poultry*. Carfax Publishing Company, Abingdon, Oxfordshire p. 103–116.

58. Miranda CD, Leiva BL, León JP, de la Maza C. MP. 2009. Diagnosis and treatment of vitamin D deficiency. *Revista Chilena de Nutrición* 36 (3): 269–277.
59. Mitchell RD, Edwards HM. 1996. Additive effects of 1,25-dihydroxycholecalciferol and phytase on phytate phosphorus utilization and related parameters in broiler chickens. *Poultry Science* 75: 111–119.
60. Mitchell RD, Edwards HM. 1996. Effects of phytase and 1,25-dihydroxycholecalciferol on phytate utilization and the quantitative requirement for calcium and phosphorus in young broiler chickens. *Poultry Science* 75:95–110.
61. National Research Council - NRC. 1994. Nutrient requirements of poultry. Ninth Revised Edition, National Academy Press, Washington. 155p.
62. Negri, AL, Fradinger E.2005. Nuevos factores que intervienen en la regulación de la 1 alfa hidroxilasa renal de la vitamina D. *Nefrología* 25 (6): 602–607.
63. Newbrey JW, Truitt ST, Roland DA, Frost TJ, Untawale GG. 1992. Bone histomorphometry in 1,25(OH)₂D₃- and vitamin D₃-treated aged laying hens. *Avian Diseases* 36: 700–706.
64. Newman S, Leeson S. 1999. The effect of dietary supplementation with 1,25-dihydroxycholecalciferol or vitamin C on the characteristics of the tibia of older laying hens. *Poultry Science* 78: 85–90
65. Noff D, Simkin A, Edelstein S. 1982. Effect of cholecalciferol derivatives on the mechanical properties of chick bones. *Calcified Tissue International*34: 501–505.
66. Omdah JL, DeLuca HF. 1973. Regulation of vitamin D metabolism and function. *Physiological Reviews* 53: 327–372.
67. Pfeifer M, Begerow B, Minne HW. 2002. Vitamin D and muscle function. *Osteoporosis International* 13: 187–194.
68. Quintana JA . 2008. Fatiga de jaula: prevención y control. <http://www.wattpoultry.com/IndustriaAvicola/Article.aspx?id=2834>
69. Ramasamy I. 2006. Recent advances in physiological calcium homeostasis. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 44: 237–27
70. Roberson KD, Ledwaba MF, Charbeneau RA. 2005. Studies on the Efficacy of Twenty-Five-Hydroxycholecalciferol to Prevent Tibial Dyschondroplasia in Ross Broilers Fed Marginal Calcium to Market Age. *International Journal of Poultry Science* 4 (2): 85-90
71. Rostagno HS; Albino LFT; Donzele JL, *et al.* 2005. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 3.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 186p.
72. Salvador D, Faria DE, Mazalli MR, Ito DT, Faria Filho DE, Araújo LF. 2009. Vitaminas D e C para poedeiras na fase inicial de produção de ovos. *Revista Brasileira de Zootecnia / Brazilian Journal of Animal Science* 38: 887–892.
73. Sasayama Y. 1999. Hormonal control of Ca homeostasis in lower vertebrates: Considering the evolution. *Zoological Science*16: 857–869.
74. Scott ML, Nesheim MC, Young RJ. 1973. Alimentación de las aves. Ed. GEA, Barcelona p.143–151.
75. Singh R, Joyner CJ, Peddie MJ, Taylor TG. 1986. Changes in the concentrations of parathyroid hormone and ionic calcium in the plasma of laying hens during the egg cycle in relation to dietary deficiencies of calcium and vitamin D. *General and Comparative Endocrinology* 61: 20–28.
76. Snow JL, Baker DH, Parsons CM. 2004. Phytase, Citric Acid, and 1 α -Hydroxycholecalciferol Improve Phytate Phosphorus Utilization in Chicks Fed a Corn-soybean Meal Diet. *Poultry Science* 83:1187–1192

77. Soares JH, Kerr JM, Gray RW. 1995. 25-hydroxycholecalciferol in poultry nutrition. *Poultry Science*, 74: 1919–1934.
78. Soto-Salanova MF, Hernández JM. 2004. Practical study on the effect of feeding an optimum vitamin nutrition and 25-hydroxycholecalciferol on production and egg quality of layers. XXII World's Poultry Congress, Istanbul, Turkey
79. Sugiyama T, Kusuhara S. 2001. Avian calcium metabolism and bone function. *Asian - Australasian Journal of Animal Sciences* 14: 82–90.
80. Tucker G, Gagnon RE, Hussier MR. 1973. Vitamin D₃ 25-hydroxylase. Tissue occurrence and apparent lack of regulation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 155:47–57.
81. Underwood EJ, Suttle NF. 1999. Selenium. *The Mineral Nutrition of Livestock*. 3rd ed. E. J. Underwood and N. F. Suttle, eds. CABI Publishing, New York, NY p. 421
82. Van de Velde JP, Loveridge N, Vermeiden JPW. 1984. Parathyroid hormone responses to calcium stress during eggshell calcification. *Endocrinology* 115: 1901–1904
83. Walzem RL, Hansen RJ, Williams DL, Hamilton RL. 1999. Estrogen induction of VLDL assembly in egg-laying hens. *Journal of Nutrition* 129: 467S–472S.
84. Walzem RL. 1996. Lipoproteins and the laying hen: Form follows function. *Poultry and Avian Biology Reviews* 7, 31–64.
85. Wasserman RH, Taylor AN. 1973. Intestinal absorption of phosphate in the chick: Effect of vitamin D₃ and other parameters. *Journal of Nutrition* 103:586–599.
86. Wodzinski RJ, Ullah AHJ. 1996. Phytase. *Advances in Applied Microbiology* 42:263–302.
87. Yasuoka T, Kawashima M, Takahashi T, Iwata A, Oka N, Tanaka K. 1996. Changes in parathyroid hormone receptor binding affinity during egg laying: Implications. *Journal of Bone Mineralization Research*: 1913–1920.
88. Yoshimura Y, Ohira H, Tamura T. 1997. Immunocytochemical localization of vitamin D receptors in the shell gland of immature, laying, and molting hens. *General and Comparative Endocrinology* 108: 282–289.