

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**MESTRADO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**AVALIAÇÃO RADIOGRÁFICA E BIOQUÍMICA DO FECHAMENTO DA  
PLACA EPIFISÁRIA DISTAL DO RÁDIO DE ASININOS (*Equus asinus*)  
USADOS PARA TRAÇÃO ANIMAL.**

Rosany Maria Cunha Aranha

São Luís - MA

2009

**ROSANY MARIA CUNHA ARANHA**

**AVALIAÇÃO RADIOGRÁFICA E BIOQUÍMICA DO FECHAMENTO DA  
PLACA EPIFISÁRIA DISTAL DO RÁDIO DE ASININOS (*Equus asinus*)  
USADOS PARA TRAÇÃO ANIMAL.**

Dissertação apresentada como um dos  
requisitos para obtenção do grau de  
Mestre em Ciências Veterinárias.

**Área:** Estudo Morfofisiológico em Animais Domésticos e Silvestres.

**Orientador:** Prof. Dr. Porfírio Candanedo Guerra

São Luís – MA

2009

Aranha, Rosany Maria Cunha

Avaliação Radiográfica e Bioquímica do Fechamento da Placa Epifisária Distal do Rádio de Asininos (*Equus asinus*) usados para tração animal. / Rosany Maria Cunha Aranha. -São Luís, 2009.

74 f.

Dissertação (Mestrado) – Ciências Veterinárias, Universidade Estadual do Maranhão, 2009.

Orientador: Prof. Dr. Porfírio Candanedo Guerra

1. Placa epifisária 2. Asininos 3. Raios-X 4. Marcadores do metabolismo ósseo I.Título.

CDU: 636.182:616-003.8421.91

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada em \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

---

Prof. Dr. Luiz Carlos Rêgo Oliveira

1° Membro

---

Prof. Dr.. Hélder de Moraes Pereira

2° Membro

---

Prof. Dr. Porfírio Candanedo Guerra

Orientador

Aos meus três maiores incentivadores:

Ao meu amado e querido esposo José Aranha Neto, e aos meus dois filhos Lucas e Luma que em muitos momentos foram privados dos seus interesses, sonhos e desejos. Com todo meu amor e carinho, dedico este trabalho.

## AGRADECIMENTOS

A construção desta Dissertação de Mestrado só foi possível pela participação de várias pessoas que de forma direta ou indireta, contribuíram para a realização da mesma.

A todos vocês agradeço pelo incentivo. Porém é necessário citar alguns nomes que foram decisivos para a efetivação dos resultados aqui apresentados.

A Deus, por ter permitido que eu chegasse até aqui.

Os meus sinceros agradecimentos ao meu orientador e amigo Professor Dr. Porfírio Candanedo Guerra, pela segura e sincera orientação, cuja experiência foi fundamental, bem como pela amizade sempre;

Ao Professor Dr. Hélder de Moraes Pereira pelo auxílio único e extremamente competente na área estatística deste trabalho;

Ao Professor Dr. Daniel Prazeres Chaves pelas sugestões e observações para a melhoria deste trabalho; bem como pela paciência generosa sempre demonstrada;

Ao Professor Dr. Guilherme de Paula Nogueira, do Laboratório de Endocrinologia Animal – UNESP Araçatuba, pela orientação na análise de osteocalcina, bem como pela experiência e conhecimentos imprescindíveis à realização dos mesmos;

A Devanir Pinheiro – Técnica de laboratório UNESP – Araçatuba pelo apoio na realização dos ensaios laboratoriais;

Em especial à acadêmica do Curso de Medicina Veterinária, Adriana Viviam Costa Araújo, pelo importante auxílio durante a realização de todas as etapas deste trabalho e pelo companheirismo;

Aos meus amigos, Médicos Veterinários Danilo Cutrim Bezerra e Victor Hugo Nunes pela contribuição na árdua tarefa de realizar os exames radiográficos;

Ao meu grande amigo e irmão Acácio Cunha Neto pela ajuda ímpar na elaboração e normatização deste trabalho;

Ao Dr. Domingos Francisco dos Santos Filho, chefe do Laboratório Central da Secretaria Municipal de Saúde (SEMUS), pela cessão do Laboratório na análise dos resultados;

A Associação dos Condutores de Veículos de Tração Animal, na pessoa do Sr. Raimundo Moraes de Matos, conhecido como “Arrupiado” e do Sr. Edmílson pela mobilização dos proprietários dos animais envolvidos na pesquisa;

Ao Sr. Clóvis que cuidou dos animais do grupo de controle e ao Sr. Hingilberto, que durante todos os meses foi incansável no transporte dos animais;

Ao tratador de animais Sr. Antonio Rabelo por ajudar a conter os animais durante o levantamento das informações referentes a pesquisa;

Ao Curso de Mestrado de Ciências Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão na pessoa da Profª Dra. Ana Lúcia Abreu Silva, pela incansável luta para promover a excelente qualidade do Curso em epígrafe;

A secretária do curso de Mestrado, Caroline Romão, com sorriso sempre presente para atender minhas solicitações;

Aos colegas, o meu sincero agradecimento;

A duas pessoas muito importantes, Mirama de Oliveira Cunha (minha mãe) e Acácio Cunha Filho (meu pai; in memória), quanta saudade;

Aos meus irmãos, e em especial a Ronald pela atenção dedicada nos momentos mais difíceis.

Enfim, a todos que torceram por mim...

... O meu muito obrigado!

*"A questão não é:  
Eles pensam? Eles falam?  
A questão é:  
Eles sofrem."*

*Jeremy Bentham - Filósofo*



ARANHA, R.M.C. **Avaliação Radiográfica e Bioquímica do Fechamento da Placa Epifisária distal do Rádio de Asininos (*Equus asinus*) usados para tração animal.**

**RESUMO**

A maturidade óssea pode ser avaliada através do exame radiológico da placa epifisária, responsável pelo crescimento longitudinal dos ossos longos. Após o nascimento, o grau de fechamento da placa é uma indicação precisa da evolução esquelética e reflete a maturidade óssea. O presente estudo avaliou a influência da atividade de tração animal sobre o fechamento da placa epifisária, correlacionando-a com os níveis séricos de biomarcadores ósseos tais como: osteocalcina, fosfatase alcalina, cálcio e fósforo, em animais da espécie *Equus asinus*, por um período de 21 meses. Foram utilizados 40 asininos, com idade a partir de 07 e 08 meses, machos e fêmeas, sem raça definida, provenientes de diferentes bairros de São Luís, com manejo alimentar igual e que, após exames clínicos, foram divididos em dois grupos de estudos, sendo o controle formado por animais que não estavam em atividade de tração (ANT) e os que estavam em atividade (AT). Radiografias da extremidade distal do rádio direito em vista crânio-caudal foram realizadas mensalmente para acompanhar e avaliar o grau de fechamento da placa, e posteriormente classificá-la em “C”, quando a placa estava totalmente aberta, “B” aberta nas faces medial e lateral do eixo ósseo e fechada centralmente e “A” fechada totalmente. Mensurações dos níveis séricos de fosfatase alcalina total (Alkp), osteocalcina (Oc), cálcio (Ca) e fósforo (P), também foram feitas mensalmente para verificar a influência que o processo de fechamento da placa epifisária exerce sobre os valores dos mesmos. Os resultados mostraram que o fechamento da placa epifisária dos asininos do grupo ANT ocorreu em média aos  $25,20 \pm 1,70$  meses de idade e no grupo AT aos  $18,35 \pm 1,70$  meses, sendo essa diferença estatisticamente significativa ( $P > 0,05$ ). Os valores dos níveis séricos de Alkp, Oc, Ca e P foram respectivamente  $155,29 \pm 35,69$  U/L;  $7,29 \pm 4,97$  ng/ml;  $7,79 \pm 0,77$  mg/dL e  $4,84 \pm 0,77$  mg/dL para o grupo ANT e  $190,27 \pm 41,42$  U/L;  $8,72 \pm 2,45$  ng/ml;  $7,41 \pm 0,71$  mg/dL e  $4,84 \pm 0,92$  mg/dL para os animais que realizavam atividade de tração. Verificando apenas diferença significativa ( $P > 0,05$ ) nas mensurações obtidas para fosfatase alcalina total. Ao final concluiu-se, que nos asininos do grupo AT ocorreu primeiro o fechamento da placa epifisária, em relação ao grupo que não trabalhava o que se reflete no maior desenvolvimento corporal do grupo ANT. No estudo bioquímico, observou-se que apenas a fosfatase alcalina total mostrou valores maiores para o grupo AT, não verificando-se diferenças estatísticas para os outros marcadores ósseos avaliados.

**Palavras-chave:** Placa epifisária, asininos, raios-X, Marcadores do metabolismo ósseo.

**ARANHA, R.M.C Radiographic and Biochemistry evaluation of the epiphyseal plate distal closing in the radio asinine (*Equus asinus*) used for animal traction.**

**ABSTRACT**

The mature bone can be assessed by the radiological examination of the growth plate responsible for longitudinal growth of long bones. After its birth, the degree of plate closure is an accurate indication of the skeletal evolution and reflects bone maturity. This study evaluated the influence of animal activity traction on the epiphyseal closure plate relating it with the serum levels of bone biomarkers such as: osteocalcin, alkaline phosphatase, calcium and phosphorus in the species *Equus asinus*, for a period of 21 months. A total of 40 donkeys, aged from 07 and 08 months, male and female mongrel from different São Luís neighborhoods with the same feed management and, after clinical examination were divided into two study groups, and the animals group control was made by non active traction (NAT) and those who were active (AT). Radiographs of the right radius distal in craniotail view were taken monthly to monitor and evaluate the degree of closure of the plate, and then sorting it into "C", when the plate was wide open, "B" opened in medial faces and side of the bone shaft and centrally closed and "A" closed completely. Measurements of total serum alkaline phosphatase (Alkp), osteocalcin (Oc), calcium (Ca) and phosphorus (P) were also performed monthly to verify the influence that the process of closure of the epiphyseal plate has on the these values. The results showed that the closure of the epiphyseal plate in ANT group donkeys occurred on average at  $25,20 \pm 1,70$  months and in the TA to  $18,35 \pm 1,70$  months, this difference was statistically significant ( $P > 0,05$ ). The serum values Alkp, Oc, Ca and P were respectively  $155,29 \pm 35,69$  U / L,  $7,29 \pm 4,97$  ng / ml,  $7,79 \pm 0,77$  mg / dL and  $4,84 \pm 0,77$  mg / dL for the ANT group and  $190,27 \pm 41,42$  U / L,  $8,72 \pm 2,45$  ng / ml,  $7,41 \pm 0,71$  mg / dL and  $4,84 \pm 0,92$  mg / dL for animals that were engaged in traction. Confirming only significant difference ( $P > 0.05$ ) in measurements obtained for total alkaline phosphatase. At the end it was concluded that donkeys in the AT group was the first closure of the epiphyseal plate, in the group that did not work reflected further development of the body. In the biochemical study, we observed that only the total alkaline phosphatase showed higher values for the AT group, not verifying statistical differences for the other bone markers evaluated.

**Keywords:** Growth plate, donkeys, X-rays, bone metabolism markers.

## SUMÁRIO

	<i>p.</i>	
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>17</b>
<b>2.1</b>	<b>O TECIDO ÓSSEO</b>	<b>17</b>
<b>2.2</b>	<b>FATORES QUE AFETAM O DESENVOLVIMENTO ÓSSEO</b>	<b>18</b>
<b>2.3</b>	<b>FORMAÇÃO E FECHAMENTO DA PLACA EPIFISÁRIA</b>	<b>20</b>
<b>2.4</b>	<b>IMPACTO DA ATIVIDADE FÍSICA SOBRE A PLACA EPIFISÁRIA</b>	<b>24</b>
<b>2.5</b>	<b>MARCADORES DO METABOLISMO ÓSSEO</b>	<b>26</b>
<b>2.6</b>	<b>MARCADORES DE FORMAÇÃO ÓSSEA</b>	<b>27</b>
<b>2.6.1</b>	Fosfatase alcalina	<b>27</b>
<b>2.6.2</b>	Osteocalcina	<b>29</b>
<b>2.7</b>	<b>MACROELEMENTOS</b>	<b>32</b>
<b>2.7.1</b>	Cálcio	<b>33</b>
<b>2.7.2</b>	Fósforo	<b>36</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>38</b>
<b>3.1</b>	<b>ANIMAL</b>	<b>38</b>
<b>3.2</b>	<b>PROTOCOLO EXPERIMENTAL</b>	<b>39</b>
<b>3.3</b>	<b>PROTOCOLO RADIOGRÁFICO</b>	<b>39</b>
<b>3.4</b>	<b>PROTOCOLO LABORATORIAL</b>	<b>40</b>
<b>3.5</b>	<b>ANÁLISES DESCRITIVAS E ESTATÍSTICAS</b>	<b>43</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>44</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>52</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>53</b>
	<b>ANEXOS</b>	

## LISTA DE TABELAS

	<i>p.</i>
<b>Tabela 01-</b> Média e desvio padrão da idade em meses do fechamento da placa epifisária da região distal do rádio de asininos dos grupos ANT e AT.	<b>44</b>
<b>Tabela 02-</b> Médias e desvio padrão do crescimento ósseo em centímetro dos asininos grupos ANT e AT relacionado com o fechamento da placa epifisária	<b>46</b>
<b>Tabela 03-</b> Médias e desvio padrão do ganho de peso (kg) dos asininos dos grupos ANT e AT.	<b>47</b>
<b>Tabela 04-</b> Média e desvio padrão dos valores dos níveis séricos de fosfatase alcalina (Alkp), cálcio (Ca) e fósforo (P) de asininos do grupo ANT e AT.	<b>48</b>
<b>Tabela 05-</b> Média e desvio padrão dos valores séricos de osteocalcina (ng/ml) nos asininos dos grupos ANT e AT	<b>50</b>
<b>Tabela 06-</b> Evolução do grau de fechamento epifisário dos asininos do grupo ANT, correlacionado com idade em meses.	<b>66</b>
<b>Tabela 07-</b> Evolução do grau de fechamento epifisário dos asininos do grupo AT, correlacionado com a idade em meses	<b>67</b>
<b>Tabela 08-</b> Crescimento ósseo dos animais do grupo ANT observado em um período de até vinte e um meses	<b>68</b>
<b>Tabela 09-</b> Crescimento ósseo dos animais do grupo AT observado em um período de até doze meses.	<b>69</b>
<b>Tabela 10-</b> Ganho de peso (kg) dos animais do grupo ANT em período de observação de até vinte e um meses	<b>70</b>
<b>Tabela 11-</b> Ganho de peso (kg) dos animais do grupo AT em período de observação de até doze meses	<b>71</b>
<b>Tabela 12-</b> Valores médios dos níveis séricos de fosfatase alcalina (Alkp), cálcio (Ca) e fósforo (P) de asininos do grupo ANT	<b>72</b>
<b>Tabela 13-</b> Valores médios dos níveis séricos de fosfatase alcalina (Alkp), cálcio (Ca) e fósforo (P) de asininos do grupo AT	<b>73</b>
<b>Tabela 14-</b> Valores médios dos níveis de osteocalcina (Oc) em asininos do grupo ANT e AT	<b>74</b>

## LISTA DE FIGURAS

	<i>p.</i>
<b>Figura 1-</b> Imagens radiográficas, onde se evidencia o grau de fechamento da placa epifisária e sua classificação segundo Adams, 2001.	<b>22</b>
<b>Figura 2-</b> Imagens dos asininos utilizados nesta pesquisa e pertencentes aos grupos experimentais ANT (a e b) e AT (c e d).	<b>38</b>
<b>Figura 3-</b> Imagem da mensuração de peso (a) e mensuração da altura (b) em asininos.	<b>39</b>
<b>Figura 4-</b> Imagens mostrando o aparelho utilizado para a execução dos exames radiográficos (a); técnica empregada para a captura das imagens (b, c); observação e análise das radiografias (d).	<b>40</b>
<b>Figura 5-</b> Imagem ilustrando a punção através da veia jugular para retirada do sangue em asininos.	<b>41</b>
<b>Figura 6 –</b> Sequência de imagens da técnica empregada para mensuração da osteocalcina.	<b>42</b>
<b>Figura 7-</b> Imagem do aparelho de mensuração das atividades séricas de Alkp, Ca e P, “Architec” ci8200 Abbott Laboratórios, USA, Abott Park IL 60064	<b>42</b>
<b>Figura 8-</b> Gráfico da evolução do grau de fechamento da placa epifisária do grupo de animais que não trabalhavam (ANT)	<b>45</b>
<b>Figura 9 –</b> Gráfico da evolução do grau de fechamento da placa epifisária do grupo de animais que trabalhavam (AT)	<b>45</b>
<b>Figura 10-</b> Imagem radiográfica da epífise distal do rádio de um asinino do grupo ANT aos 7 meses (a) em grau “C”, aos 16 meses (b) em grau “B” e aos 24 meses de idade (c) em grau “A”	<b>65</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

		<i>p.</i>
a.C	Antes de Cristo	14
AlkP	Fosfatase Alcalina	28
U/L	Unidade por Litro	29
oC	Osteocalcina	29
GLA-PROTEINA	Proteína ácido carboxiglutâmico	29
ng/mL	Nanograma por mililitro	31
Ca	Cálcio	32
NRC	National Research Council	32
PTH	Paratormônio	32
P	Fósforo	33
NIH	National Institutes of Health	34
Na	Sódio	36
Mg	Magnésio	36
mg/dL	Miligrama por decilitro	36
SRD	Sem raça definida	38
ANT	Animais que não trabalhavam	38
AT	Animais que trabalhavam	38
R.P.M	Rotações Por Minutos	40

## 1. INTRODUÇÃO

O aparecimento dos equídeos na terra ocorreu lentamente, onde seus descendentes sofreram sucessivas transformações, crescendo em tamanho e modificando sua estrutura, em particular as suas extremidades. Assim, o cavalo atual, segundo paleontólogos, seria um esboço final de uma evolução iniciada há mais de 60 milhões de anos e que no decorrer dos tempos sofreu intensa evolução, sendo atualmente conhecidas seis espécies de equídeos: três de zebras (*Equus grevyi*, *E. burchelli* e *E. zebra*), duas de asno (*E. hermionus* e *E. asinus*) e uma de cavalo (*E. caballus*) (PEREIRA, 2005).

A domesticação do asinino foi iniciada no norte da África e mais tarde levada para o Egito, aproximadamente 4.000 anos a.C. Já a domesticação do cavalo iniciou-se na Ásia Central, há 5.000 anos a.C, existindo um consenso de que o mais provável ancestral do jumento doméstico (*Equus asinus*) tenha sido a subespécie Nubiana do Asno Africano Selvagem, hoje extinto (BLOSSON, 2005).

Do Egito, o asinino foi levado para a Ásia Menor, onde expandiu-se com rapidez nas regiões quentes. No sul da Europa é conhecido desde os tempos remotos, mas só começou a se multiplicar a partir do século IV. Na América do Norte, sua introdução pode ser considerada recente. Na América do Sul e Central foi introduzido por ocasião do período de colonização (BLOSSON, 2005). No Brasil, o asinino foi meio de transporte importante para a interiorização do país pelos bandeirantes, sendo elemento importante para o fim da escravatura, pois, substituiu a força de trabalho escrava a partir de meados do século XIX (BREGUEZ, 2000). Sua introdução se deu por volta de 1.534 na Capitania de São Vicente e em 1.549 foi levado para a Bahia (PEREIRA, 2005), e, por fim, este animal assumiu importância fundamental no Nordeste do Brasil, sendo um dos símbolos fundamentais da cultura nordestina. Muito contribuiu para a economia como meio de transporte doméstico, por carregar produtos e também na alimentação do homem desta região. Breguez (2000) compara a importância do jumento para o nordestino igual ao camelo para o árabe ou o beduíno do deserto.

Hoje em dia os equídeos continuam sendo utilizados na atividade de tração, transportando material de construção ou grande parte do entulho originado de obras,

limpeza de jardins e utensílios domésticos descartados, constituindo os carroceiros em uma classe especial de trabalhadores (REZENDE et al.,2004 ). Esta atividade também é desenvolvida em São Luís, através do transporte de material de construção, do recolhimento e destino do lixo e da distribuição de água em áreas carentes. Diferentemente de outras cidades brasileiras, a atividade de tração é executada na maioria pelos asininos, que de acordo com o cadastro do serviço público de transporte de tração animal da Secretaria Municipal de Trânsito e Transportes - Prefeitura Municipal de São Luís (DECRETO Nº 19.456, 1999), a quantidade de asininos ultrapassa hoje os 3.000 animais.

Autores como Reichmann (2003), Rezende et al. (2004), Silva Filho et al.(2004), Kaari (2006) e Oliveira et al. (2007), relataram diversos problemas associados à atividade dos carroceiros, dentre eles: exclusão social, desobediência às leis de trânsito e de proteção à infância e adolescência, bem como às leis de proteção aos animais, destinação incorreta de entulhos, entre vários outros e por isso, muitas cidades têm criado projetos e, até mesmo, leis municipais, buscando regulamentar a atividade de carroceiro para melhorar a sua vida e as condições de vida dos seus animais. Os equídeos desde sua domesticação têm sido cada vez mais utilizados nos diversos tipos de trabalho e desempenho atlético. Assim, o animal de tração surge como ferramenta de trabalho indispensável, cuja saúde e longevidade têm que ser observada (REZENDE, 2004) e independente da finalidade pretendida, as atividades físicas que lhe são impostas excede seus limites naturais, expondo-os a tensões quais muitas vezes ele não está adaptado (MARANHÃO et al, 2006).

Fatores históricos ligam a cultura dos povos aos equídeos. Assim, não é surpreendente que, ao afastar-se do campo, os homens tenham trazido seu animal preferido para áreas urbanas. Na cidade, estes animais sofreram o mesmo processo de empobrecimento que acompanhou os imigrantes das áreas rurais. O fato de que dividem recursos com uma população necessitada os transformam em vítimas do êxodo rural (ZANELLA, 2003). É verificado também que estes animais iniciam a atividade de tração ainda jovem, interferindo no seu desenvolvimento corporal, resultado de um peso excessivo, que segundo Reich et al. (2005) inibe, em potros, o crescimento do osso. O início das atividades físicas (tração) dos asininos ocorre antes ou logo após o desmame,



resultando em indivíduos de tamanhos reduzidos, massa corporal subdesenvolvida e membros locomotores encurvados, observando-se uma relação direta entre a imaturidade do osso e incidência de patologias no sistema locomotor (MAMPRIM et al. 1997). A introdução desses animais de forma precoce na atividade de tração é o reflexo da importância que exerce esta espécie na economia de famílias de baixa renda, onde atua como fonte financeira e de sobrevivência. Aluja (1998) relata a necessidade de programas educacionais e capacitações profissionais para melhorar a condição animal e conseqüente melhora da eficiência do trabalho e aumento da renda familiar.

A maturidade óssea pode ser avaliada subjetivamente pelo peso corporal, altura e mais objetivamente através do estudo radiográfico da placa epifisária, responsável pelo crescimento longitudinal dos ossos longos após o nascimento. O fim do crescimento do osso ocorre quando a cartilagem metafisária se torna cada vez mais delgada caracterizando a fusão da epífise com a metáfise, o que denominamos de fechamento da placa fisária (STASHAK, 2006). A fusão das placas de crescimento de cada osso ocorre em momentos diferentes e varia conforme a espécie. Geralmente as placas de crescimento distais fecham antes das proximais (KERBER, 2001).

Assim, a pesquisa teve o objetivo de avaliar e acompanhar o tempo de fechamento da placa epifisária da região distal do rádio direito de asininos, que estavam em atividade de tração ou não, o que permitiu estabelecer a idade média de referência que tal evento possa ocorrer na espécie, além de avaliar o escore corporal dos asininos, em relação à idade do fechamento da placa epifisária, determinando os valores séricos de fosfatase alcalina total, osteocalcina, cálcio e fósforo dos mesmos.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 O TECIDO ÓSSEO

O tecido ósseo é metabolicamente ativo, promovendo um contínuo processo de renovação e remodelação. Esta atividade é consequência, principalmente, da ação de dois tipos celulares, denominados de osteoblastos e osteoclastos. Há ainda uma terceira célula, os osteócitos, porém menos ativos e com funções pouco conhecidas. O tecido exerce duas funções primordiais, uma mecânica, responsável pela proteção de órgãos, apoio e sustentação contra a gravidade, e outra metabólica, muito complexa e também de grande importância (BANKS, 1991). Segundo Vieira (1999) o processo de remodelação óssea se desenvolve com base em dois processos antagônicos, mas acoplados: a formação e a reabsorção ósseas. Esse acoplamento permite a renovação e remodelação ósseas e é mantido em longo prazo por um complexo sistema de controle que inclui hormônios, eventos físicos e fatores humorais locais. Uma série de condições como idade, doenças ósteo-metabólicas, mobilidade diminuída e ação de alguns fármacos, pode alterar este equilíbrio entre formação e reabsorção, levando ao predomínio de um sobre o outro. Junqueira & Carneiro (2005) relataram que o processo de remodelação óssea inicia-se durante o desenvolvimento fetal e termina quando da morte do animal. A remodelação é o mecanismo primário através do qual o osso cresce e atinge a sua geometria final (ALLEN, 2003). É do equilíbrio resultante entre a formação e a reabsorção óssea que o osso adquire toda a sua estrutura, qualidade e robustez (HARRIS, 1997).

Em equinos adultos, o tecido ósseo é constantemente formado e reabsorvido, mantendo o equilíbrio dos ossos longos. Na fase de crescimento a formação excede a reabsorção (MÄENPÄÄ et al. 1988). Estudos realizados por Maroudas (1980) e Verzijl et al. (2000), constataram que os tempos de remodelação cartilaginosa nos animais adultos são bastante mais longos quando comparados com os animais jovens.

Vieira (1999) relata que os dois principais tipos de tecido ósseo são o trabecular, uma estrutura de aspecto esponjoso, e o cortical, mais sólido formado por lamelas ósseas, que, além de apresentar diferenças estruturais, diferem também quanto à

distribuição espacial das células, densidade da matriz mineralizada, distribuição dos vasos sanguíneos e área ocupada pela medula óssea. Em ambos, os osteoblastos e osteoclastos movem-se sobre a superfície, sendo que os osteoblastos podem tornar-se embebidos na matriz, dando origem aos osteócitos. Em função de sua maior superfície em relação ao volume, o osso trabecular é metabolicamente mais ativo que o cortical.

## **2.2 FATORES QUE AFETAM O DESENVOLVIMENTO ÓSSEO**

Os principais fatores que predisõem o animal a alterações no crescimento, segundo Stashak (2006) são os desequilíbrios nutricionais, traumas no disco epifisário e predisposição genética. Já Feesel (1998) relata que os fatores que influenciam o desenvolvimento ósseo são inicialmente de origem genética, mas há também influências hormonal, ambiental e nutricional. Estudos realizados por Bonassar & Trippal (1997) relataram que os hormônios presentes nos fatores de crescimento e na zona de crescimento caracterizam a interação entre ambos, essencial para o crescimento fisiológico da placa e o desenvolvimento do esqueleto. Carvalho (2000) aponta basicamente três fatores que afetam o crescimento do osso: a genética (conformação), o meio ambiente (trauma, exercício forçado) e a nutrição. O mesmo relata que a deficiência nutricional e o excesso ou desequilíbrio de nutrientes afetam adversamente os ossos e as cartilagens, por causa das alterações na disponibilidade dos componentes da estrutura do esqueleto ou devido à ação de enzimas e hormônios que controlam a síntese desses tecidos. O hormônio que influencia o crescimento em mamíferos e aves é o hormônio do crescimento. Monsonogo et al. (1995) demonstraram que a administração direta do hormônio do crescimento na placa de crescimento físeal de ratos hipofisectomizados estimula o crescimento unilateral do osso, sugerindo que o hormônio do crescimento age diretamente nos condrócitos da placa físeal. A formação e a reabsorção óssea dependem dos osteoblastos e osteoclastos, respectivamente, regulados por fatores locais como células do sistema imune e fatores sistêmicos, como os hormônios da paratireóide (MÄENPÄÄ et al., 1988).

A relação entre os fatores que afetam a conformação dos membros, como maturidade esquelética, genética e outras influências, são complexas e interdependentes.

Em relação ao potencial genético para o crescimento que os cavalos apresentam Freeman (1990) relata que o mesmo é expresso desde que eles recebam o aporte nutricional adequado e sejam exercitados, relatando também a influência racial sobre o crescimento. Para explorar o potencial genético de crescimento, as necessidades nutricionais devem ser atendidas de forma balanceada (REZENDE, 2004).

Os desequilíbrios nutricionais que podem predispor o animal em crescimento incluem excesso de energia e fósforo, deficiência de cálcio, fósforo e cobre, ou a combinação destes desequilíbrios (STASHAK, 2006). Já Lewis (1994) relata que atividades extenuantes e prolongadas podem levar à deficiência aguda de energia e eletrólitos. A energia, ao lado da proteína, é o principal fator que influencia a média de crescimento do animal. Segundo Oliveira (1998), a ingestão voluntária de alimentos é fator que regula o crescimento, o ganho de peso e o acabamento dos animais e Shahin et al. (1993) relataram que a conversão alimentar também é influenciada pela velocidade e proporção com que os tecidos se depositam e são utilizados.

O crescimento rápido do animal coloca mais peso sobre o sistema esquelético prematuramente, assim aumentando o estresse sobre ossos imaturos. A ingestão excessiva de proteínas por cavalos jovens, não aumenta a taxa de crescimento quando comparada com dietas contendo níveis recomendados de proteínas (CARVALHO, 2000).

Outro importante fator na maturidade e remodelação óssea é o estímulo mecânico resultante de um peso excessivo que, segundo Reich et al. (2005), inibe em potros o crescimento do osso e promove maior vascularização e ossificação das fises. Já Stashak (2006), relata que se um animal em crescimento é forçado a carregar uma quantidade excessiva de peso sobre um membro, para compensar a dor no contralateral, esse peso ocasionará alterações de ossificação endocondral e resultará em deformidade angular. Estudos realizados por Bebchuk (2003) demonstram que as adaptações morfológicas e mecânicas são importantes para o crescimento da placa em condições de exercício voluntário, diferente do que ocorre nos asininos que são exigidos além do seu potencial. Niehoff et al. (2004) afirmaram que o crescimento longitudinal do osso é retardado pela compressão e estimulado pela redução na compressão.

Buzato (2008) relatou que as forças sobre a placa epifisária determinam a conformação e estrutura do cavalo. Uma pressão normal, equilibrada e constante sobre as placas, resulta em um crescimento correto. Já uma pressão desequilibrada tem como consequência um crescimento incorreto. Lins et al. (2005) relataram que o treinamento de animais que ainda estão em desenvolvimento, acarreta falhas no processo de crescimento ósseo, predispondo o animal a um curto tempo de vida útil para o esporte.

### **2.3 FORMAÇÃO E FECHAMENTO DA PLACA EPIFISÁRIA**

O crescimento longitudinal de um osso resulta de eventos que ocorrem em regiões altamente especializadas, em uma ou ambas as extremidades do osso, regiões estas chamadas de fises ou placas de crescimento metafisário. Os aspectos anatômicos de um osso longo em crescimento são divididos em três regiões: o corpo, chamado de diáfise, as extremidades do osso, as epífises, e uma região intermediária, a metáfise (STASHAK, 2006). O crescimento ósseo da diáfise e epífise é separado pela região metafisiária, uma placa de cartilagem hialina chamada de físe, que é responsável no animal pelo crescimento em comprimento da metáfise uma zona trabecular temporária que é convertida em trabecular permanente (DELLMANN & EURELL, 1998).

No animal em crescimento, uma região altamente cartilaginosa está localizada entre a epífise e a diáfise, a placa epifisária ou placa de crescimento. As epífises são compostas de osso reticular, circundadas por uma delgada camada de osso compacto. A diáfise é composta pelo osso cortical compacto, na forma de um cilindro que circunda a cavidade medular, a qual contém a medula óssea (DUKES et al., 1996; REECE, 1996).

Stashak, (2006) relatou o crescimento das placas nos eqüinos ocorrendo dos 130 dias de gestação até os dois anos de idade, sendo que os canais de cartilagem podem ser identificados nas placas de crescimento do feto antes dos 130 dias de gestação. A ossificação inicia-se na zona germinativa ou de condrócitos em repouso, passa a proliferação de condrócitos, maturação, hipertrofia, produção de matriz cartilaginosa, mineralização da matriz, morte dos condrócitos, invasão por vasos sanguíneos e deposição de tecido ósseo sobre a matriz cartilaginosa mineralizada, para

formar as trabéculas do osso esponjoso (JEFFCOTT, 1992; AUER & STICK, 1999). O crescimento ocorre no lado epifisiário da cartilagem, enquanto que a ossificação e reabsorção pelos osteoclastos ocorrem pelo lado diafisário.

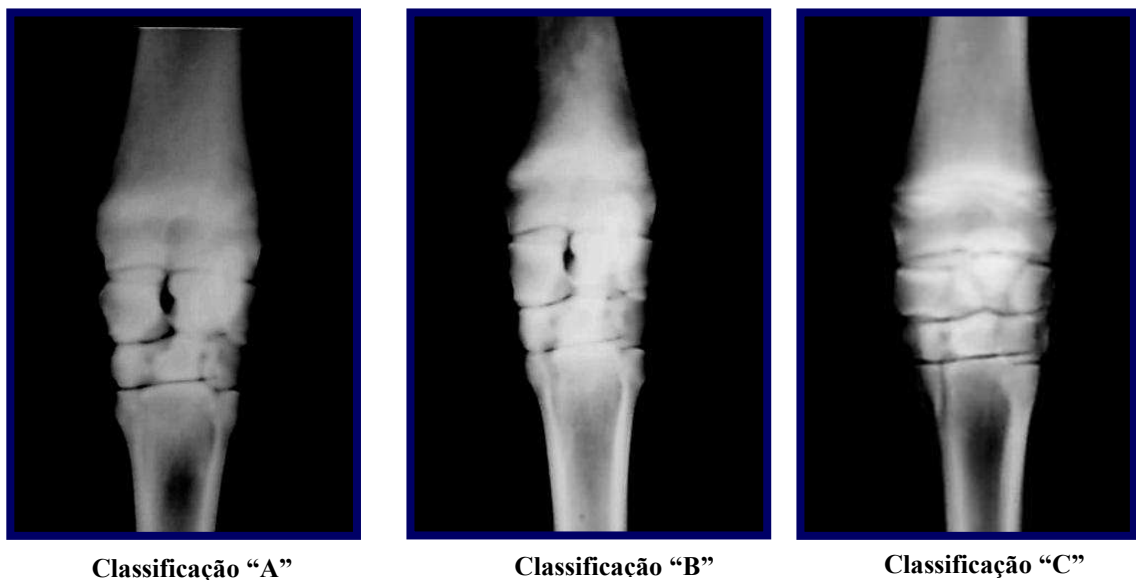
Estudos realizados por Mäenpää et al. (1988), verificaram que, em equinos adultos, o osso é constantemente formado e reabsorvido, mantendo um equilíbrio dos ossos longos, e na fase de crescimento dos animais a formação excede à reabsorção. Conforme o crescimento do osso cessa, a fise torna-se mais delgada e a epífise e a metáfise se fundem e a placa de crescimento cartilaginosa é substituída por substância óssea trabecular. Na fase adulta ocorre a ossificação da placa (fise), o que provoca o fechamento da mesma em ambos os lados e em momentos diferentes, como regra pode-se dizer que os ossos distais fecham antes dos proximais e variam conforme a espécie (BANKS, 1991; ADAMS, 2001; KERBER, 2001).

A maturidade esquelética pode ser avaliada subjetivamente pelo peso corporal, altura mais arquitetura e objetivamente, através do exame radiológico da placa epifisária e apesar do fechamento fisário basear-se em interpretação radiográfica (perda de fise visível), o fechamento funcional das fises ocorre bem antes da confirmação radiográfica, sendo importante o momento para a realização de cirurgias de correção de deformidades angulares de membros, pois qualquer lesão na fise, como pressão excessiva, trauma direto, tração, pode causar o fim prematuro do crescimento ou crescimento não sincrônico (STASHAK, 2006).

Está bem definida a correlação entre a imaturidade óssea e o aumento da incidência de lesões nos membros de equinos durante treinamento ou corridas. A avaliação da maturidade do osso é importante para prevenir um treinamento impróprio ou precoce para competição com cavalos com imaturidade óssea. Segundo Mamprim et al. (1997), observaram uma relação direta entre a imaturidade do osso e incidência de patologias no sistema locomotor de animais em treinamento.

Mason & Bourke (1973) relataram que a vida útil de cavalos da raça Puro Sangue de Corrida termina prematuramente devido a iniciar competições aos dois anos de idade, o que provoca lesões como exostoses, carpites, sesamoidites e fraturas de sesamóides. Relatam, ainda, que o grau de fechamento da placa epifisária é uma

indicação precisa da evolução esquelética, o que se reflete na maturidade óssea. De acordo com Adams (2001), esta maturidade é classificada, no equino, em “A”: quando a linha epifisária esta totalmente fechada, “B”: quando o fechamento é percebido no centro e aberto na periferia da placa e “C”: quando a linha está completamente aberta (figura 1). Thomassiam (2005) afirmou que na fase de maturação óssea, na classificação tipo “C”, as linhas fisárias estão enquadradas e completamente imaturas, sendo contraindicados os trabalhos de treinamento atlético intenso em potros, podendo ser iniciado na evolução do tipo “B”, porém leve e controlado. Já na maturação óssea tipo “A” as fises estão totalmente fechadas, com delineamento ósseo distinto e rádio-opacidade normal, os equínos classificados nessa fase podem ser trabalhados plenamente.



**FIGURA 1 – Imagens radiográficas, onde se evidencia o grau de fechamento da placa epifisária e sua classificação segundo Adams, 2001.**

Carvalho (2005) relatou em humanos, que a placa epifisária é a parte mais frágil do esqueleto da criança, e sua resistência varia com a velocidade de crescimento, sexo e alterações hormonais. Para avaliação da maturidade óssea de equinos através da radiografia, a epífise distal do rádio é a região de eleição, por apresentar uma indicação mais precisa da evolução esquelética (MASON & BOURKE, 1973) e por ser uma técnica prática e de fácil execução na rotina diária, segundo Mamprim et al. (1992).

O fechamento normal das placas epifisárias cartilaginosas de crescimento difere entre as diversas raças, de acordo com os níveis nutricionais e certas enfermidades sistêmicas (OLHAGARAY, 1984). Segundo Naviaux (1988) os eqüinos geralmente chegam ao seu tamanho adulto aos quatro anos de idade, porém, alguns de seus ossos não se fundem (discos epifisiais fechados) até que eles tenham aproximadamente sete anos de idade, deste modo não aconselha trabalhar com animais jovens. Há relatos sobre a idade de fechamento epifisário distal do rádio em algumas raças, sendo em torno de 24 meses no macho e 23 na fêmea da raça Árabe (MYERS & EMMERSON, 1966), 750 dias tanto no macho quanto na fêmea em cavalos Australian Thoroughbred (MASON & BOURKE, 1973), entre 26 e 27 meses, sem especificar o sexo, na raça Trotadora Italiana (PEZZOLI & DEL BUE, 1973). Estudos posteriores relataram que a idade de fechamento da placa epifisária em eqüinos está em média aos 25 meses nas fêmeas da raça Manga-Larga (MAMPRIM et al., 1992), 24 meses nos machos e 23 nas fêmeas Puro Sangue Inglês (VULCANO et al., 2000) e 25 meses nas fêmeas e 28 nos machos na raça Brasileira de Hipismo (GODOY et al., 2004). Já Luiz et al. (2007) relataram, através do estudo da anatomia radiológica da placa de crescimento em potros crioulos, a visibilidade da placa epifisária da extremidade distal do rádio até aos 25 meses de idade. Deve-se levar em consideração as características apresentadas por um animal de trabalho, que é o resultado de vários fatores aos quais ele está submetido, como clima, manejo, treinamento, tipo de arreamento, superfície de trabalho e genética (JONES, 1987). A idade, conformação inadequada, casqueamento incorreto (RUOHONIEMI et al., 1997), nutrição, condutor do animal e a finalidade (salto ou tração) também são fatores relevantes para a saúde e a produtividade equina (MIRANDA, 1988).

Em humanos, os dados sugerem que o estrogênio acelera o processo normal de crescimento da placa epifisária, provocando uma antecipação da fusão das epífises. A fusão acontece quando a proliferação dos condrócitos aproxima-se do zero (PASCHOALINI, 2005). Esses dados estabelecem que o estrogênio, e não o androgênio, é o responsável pela aceleração do crescimento na puberdade e pela maturação da placa epifisária, o que, de acordo com Gardner et al. (1988), o fechamento epifisário mediante efeitos hormonais ocorre mais cedo em jovens do sexo feminino, em um ou dois anos.



Stashak (2006) relatou a idade estimada de fechamento das placas de crescimento dos ossos longos em equinos, que foram observadas conforme o resumo das variações dos tempos de fechamento descritos, com base no exame de radiografias e de amostras macroscópicas e microscópicas, ocorrendo entre 11 e 25 meses no rádio proximal e entre 22 e 42 no rádio distal.

#### **2.4 IMPACTO DA ATIVIDADE FÍSICA SOBRE A PLACA EPIFISARIA**

Os processos de remodelação óssea são necessários à adaptação do esqueleto ao estresse mecânico. Uma falha desta resposta adaptativa pode conduzir a lesões e a alterações do esqueleto (VERVUERT et al., 2002). As células ósseas presentes nos ossos em crescimento de animais jovens são mais sensíveis às alterações no seu ambiente mecânico e às forças de carga a que são sujeitas, do que estas mesmas células em animais adultos (JACKSON et al., 2003).

Junqueira & Carneiro (2005) relataram que o osso, apesar da sua robustez, é um tecido vivo em constante atividade de renovação e remodelação e a sua forma e composição são influenciadas por fatores dos quais se destacam as forças de estresse mecânico a que o tecido ósseo está submetido e ao grau de uso ou desuso. Para Jones (1989) os ossos são estruturas com força e resistência suficientes para suportar pressões externas, sem aparente lesão ou deformação. Quando uma carga é aplicada ao osso é produzida uma pressão (força interna por unidade de área de osso), que é diretamente proporcional à deformação interna (mudança no comprimento do osso), as forças que podem deformar a estrutura óssea são: compressão, tensão, encurvamento e cisalhamento (SMITH, 2002).

Stashak (2006) relatou que, quando uma força excessiva é aplicada em uma articulação e nas suas fises próximas, é provável ocorrer lesão epifisária, isto porque a placa epifisária é mais fraca que o osso. Rubin & Lanyon (1984), Pead et al. (1988) e Skerry et al. (1989), demonstraram, através de estudos, que as células ósseas são diretamente sensíveis à influências mecânicas.

Estudos realizados por Young et al. (1989) e McCarthy & Jeffcott (1992) demonstraram que a existência de alterações na arquitetura óssea em cavalos atléticos em resposta ao exercício físico é consistente com os níveis de renovação óssea observados nesses mesmos animais.

A atividade física é provavelmente o mais importante fator que influencia a arquitetura do esqueleto (PRICE et al., 1995<sup>a</sup>). O exercício físico no período de desenvolvimento das cartilagens durante o primeiro ano de vida do animal é prejudicial, não só para a remodelação normal do tecido cartilágneo articular, mas também para o desenvolvimento de lesões osteocondrais (VAN WEEREN, 2005). Muitos têm sido os estudos acerca da influência do exercício sobre o sistema musculoesquelético dos cavalos, principalmente em animais de corrida Puro Sangue Inglês (JACKSON et al., 2003; BILLINGHURST et al., 2004).

As estruturas óssea e muscular do equino apresentam-se adaptadas para maximizar a eficiência do aparelho locomotor e suportar injúrias (FIRTH et al., 2007). Prova disso é que, desde sua domesticação, os equídeos têm sido cada vez mais utilizados nos diversos tipos de trabalho e desempenho atlético (REZENDE, 2004). Tradicionalmente, os asininos são considerados animais rústicos, embora não necessariamente precoces. Acredita-se que a seleção para a busca de precocidade aumente os distúrbios esqueléticos dos membros dos equinos (FREEMAN, 1990). Na pressão das placas epifisárias, são subjetivas as forças compressivas, onde a tração nas placas é influenciada pela tensão. Havendo excesso de força, podem ocorrer fraturas fiseais. A etiologia das fraturas varia de trauma externo ou forças internas de pressão (HUNT & McGEE, 2003).

Estudo conduzido por Harris (1997) demonstrou que a atividade mineral óssea é mais intensa quando há um maior esforço, através de exercício físico. Estudos realizados por Kannus et al. (1992), Hart et al. (2001) e Maranhão et al. (2006), sobre a resposta do tecido ósseo à imobilização e a relação entre o exercício físico, gênese e mineralização óssea, verificaram que as atividades físicas têm grande influência sobre este tecido, e tal característica também contribui para que o mesmo se mantenha em constante atividade.

## 2.5 MARCADORES DO METABOLISMO ÓSSEO

Os marcadores do metabolismo ósseo podem ser divididos em marcadores de formação e de reabsorção óssea (DELMAS et al., 1993; VIEIRA, 1999). Os mesmos são enzimas sintetizadas por osteoblastos e osteoclastos ou compostos orgânicos, liberados durante a síntese e reabsorção da matriz óssea na corrente sanguínea, permitindo fornecer medidas concretas e instantâneas da atividade das células ósseas (PRICE, 1995<sup>a</sup>; PRICE, 1998; SEIBEL, 2000; JACKSON et al., 2003). Sendo a formação óssea dependente da ação dos osteoblastos, esses marcadores medem produtos decorrentes da ação destas células, da mesma maneira os marcadores de reabsorção medem a ação dos osteoclastos, o principal tipo celular envolvido na reabsorção da matriz óssea. No caso dos marcadores de formação, são frutos da síntese osteoblástica, enquanto os de reabsorção são produtos da atuação do osteoclasto sobre a matriz óssea (VIEIRA, 1999). Estes processos são normalmente equilibrados, contudo, podem ocorrer alterações provocadas pela idade, atividade hormonal, esforço físico ou doenças músculo-esqueléticas (RAIZ, 1999).

O objetivo da mensuração dos marcadores do metabolismo ósseo é a correlação de suas concentrações séricas ou urinárias com a atividade dos osteoblastos (formação) e osteoclastos (reabsorção) (ALLEN, 2003). São métodos simples, sensíveis e acurados de reconhecimento da progressão de doenças metabólicas ósseas ou da resposta à terapia com fármacos. Os marcadores do metabolismo ósseo quantificam, em tempo real, a atividade de formação ou reabsorção das células ósseas (COLEMAN, 2002). A média dos valores e a variabilidade inter-individual para os marcadores de formação e reabsorção são várias vezes maiores em jovens do que em adultos. Um marcador que reflete na reabsorção também reflete na formação, isto quando o tecido ósseo está em equilíbrio, porém durante o período de vida, na fase adulta, a atividade metabólica óssea, e conseqüentemente os níveis dos marcadores, tendem a ser mais baixo que os observados na infância e adolescência (RAUCH et al.,1994). Ainda é verificado que no sexo feminino o metabolismo ósseo é mais acelerado (KUSHIDA et al., 1995; SOWERS et al.,1995) que no masculino (WISHART et al.,1995).

Vários estudos têm evidenciado que as avaliações dos marcadores ósseos podem ser aplicadas ao estudo do metabolismo ósseo nos cavalos (LEPAGE et al.,

1990; HANK et al., 1993; DAVICCO et al., 1994; PRICE et al., 1995a e 1995b; GRAY, 1996; JACKSON et al., 1996; LEPAGE et al., 1997; LEPAGE et al., 1998 e BLACK et al., 1998). O conhecimento das concentrações fisiológicas dos constituintes bioquímicos em equídeos, nas suas diferentes fases da vida, constitui a base para avaliação de alterações patológicas deste constituinte nos quadros mórbidos, facilitando o diagnóstico (SCHALM et al., 1975 e HARVEY et al., 1984).

Existem trabalhos em humanos (DELMAS et al., 2000), em bovinos (LIESEGANG et al., 2000; HOLTENIUS & EKELUND, 2005), cães (ALLEN et al., 1998 e ALLEN et al., 2000), equinos (PRICE et al., 1995; PRICE et al., 2001) e ovinos (JOHNSON et al., 1997) correlacionando os marcadores do metabolismo ósseo com diversas doenças que provocam alterações ósseas e com a densitometria mineral óssea (REMES et al., 2004). Ainda, Cardoso et al. (2007) notificaram estudos em animais com biologia óssea, avaliação da consolidação de fraturas, neoplasia esquelética, osteoartrite e avaliação dos efeitos pré clínicos das dietas e uso de fármacos.

Vieira (1999) relata que durante a formação do osso a produção da matriz colágena precede a mineralização, coincidindo com uma maior produção de fosfatase alcalina, enquanto a mineralização coincide com uma maior produção de osteocalcina. Em situações fisiológicas, os processos de reabsorção e formação ósseas são acoplados e dependentes e o predomínio de um sobre o outro resulta em ganho ou perda de massa óssea. É esta capacidade de avaliação dinâmica que se deseja em um marcador de remodelação óssea. A osteocalcina e a fosfatase alcalina representam melhor o processo de formação óssea (SARAIVA et al., 2002).

## **2.6 MARCADORES DE FORMAÇÃO ÓSSEA**

### **2.6.1 Fosfatase Alcalina**

A fosfatase alcalina é um marcador específico da formação óssea, uma enzima produzida somente pelos osteoblastos, sendo essencial para a mineralização óssea (BREUR et al., 2004). Possui papel importante na precipitação de cálcio e fósforo entre as fibras colágenas durante a formação óssea. Níveis elevados ocorrem em

pacientes portadores de doenças ósseas, devido ao aumento da atividade osteoclástica, como osteíte deformante, osteomalácia, hiperparatireidismo, consolidação de fraturas e neoplasias ósseas primárias ou secundárias (ALLEN, 2003).

A Fosfatase alcalina um indicador não específico da atividade osteoblástica, ganha especificidade quando é avaliada na forma de suas isoenzimas, contribuindo assim, para diferenciar as patologias ósseas de outras que cursam com aumento da atividade de fosfatase alcalina total no soro (MENEZES et al., 1994). Em condições normais, as duas formas circulantes que predominam são a óssea e a hepática, em quantidades equivalentes. A outra forma em concentrações significativas é a forma intestinal, que representa menos de 5% do total (MARTINS et al., 2006).

A enzima é encontrada em vários tecidos, com maiores concentrações no fígado, no epitélio do trato biliar e no osso. A mucosa intestinal e a placenta contêm também a fosfatase alcalina, apresentam várias isoenzimas, sendo que cada uma das fontes produtoras contém uma isoenzima específica. A determinação laboratorial da fosfatase alcalina (AlkP) se aplica para o diagnóstico de doenças do fígado e dos ossos. A AlkP é uma ectoenzima, está localizada na superfície externa da célula, onde exerce sua atividade (VIEIRA, 1999).

Saraiva et al. (2002) relataram que a fosfatase alcalina total é medida através de sua atividade e corresponde à soma das diversas isoformas presentes no soro. Valores elevados podem ocorrer na vigência de uma fratura ou então sugerem fortemente a presença de outra doença óssea concomitante. A forma óssea, secretada pelos osteoblastos, predomina na infância até o fim do crescimento longitudinal, quando então a hepática passa a ser a forma circulante mais abundante.

O acompanhamento do metabolismo ósseo pode ser feito avaliando os níveis séricos de fosfatase alcalina que, de acordo com Neter (1987) e Vieira (1999), tem a função de ativar as fibras colágenas para estimular a deposição de sais de cálcio, importante na formação e mineralização da matriz óssea.

Pesquisa em equinos, notificaram valores de AlkP que variavam entre 81 e 304 U/L (HARVEY et al., 1984), 143 e 395 U/L (KANECO, 1989; VAN HERDEN et

al., 1990), 80 e 300 U/L (CARLSON, 1994; MESSER, 1995). Posteriormente, estudos realizados por Mundim et al. (2004), sobre o perfil bioquímico de cavalos usados em atividade física, mostraram valores que variavam entre 49,89 e 577,39 U/L, média de 196,12 U/L. Já o estudo de Ramos et al. (2007), no qual foram analisadas faixas etárias e sistema de criação, relatou valores entre 149,57 e 189,91 U/L. Valores maiores podem ser indicativo de uma possível colestase hepato-biliar. O aumento da atividade da referida enzima pode ser também por causas não colestáticas, de origem óssea, neoplásica, placentar e intestinal (DUNCAN & PRASSE, 1982).

Os fenômenos ósseos associados a elevações da AlkP total necessitam ser de grande intensidade, como ocorrem nas fraturas, na doença de Paget, na displasia fibrosa, no hiperparatiroidismo com doença óssea avançada e na osteomalácia ou raquitismo. Nestas situações, estas elevações podem ser utilizadas como um marcador de atividade da doença ou como parâmetro de resposta ao tratamento instituído (SARAIVA et al., 2002). A faixa de normalidade é considerada ampla, os níveis mais altos são encontrados em filhotes devido à alta atividade osteoblástica e após o fechamento dos discos epifisários. Em equinos, as principais causas de aumento da atividade da AlkP estão relacionadas à colestase ou à produção de isoenzima óssea por osteoblastos.

### **2.6.2 Osteocalcina**

A osteocalcina (Oc), ou proteína ácido carboxiglutâmico óssea é uma pequena proteína de 46 a 52 aminoácidos, conhecida também como “Gla – proteína” ou proteína não colagenosa, é sintetizada pelos osteoblastos e incorporada à matriz óssea extracelular (LEPAGE et al., 2001). Sendo dependente da vitamina K, é a proteína não colagênica mais abundante do osso. Tem propriedades fixadoras do cálcio, estando correlacionada com a formação óssea, seu nível pode ser avaliado por meio do plasma, isto é, como indicador bioquímico de formação óssea. É produzida pelos osteoblastos e pelos odontoblastos durante a fase de mineralização da matriz óssea (HARRIS, 1997; ROSAL e CAPEN, 1997). Uma pequena quantidade da osteocalcina sintetizada é liberada na circulação, permitindo que sua mensuração seja realizada. Apesar de ser

primariamente depositada na matriz óssea recém formada, uma pequena fração entra em circulação, caracterizando esta proteína como marcador da atividade osteoblástica (VIEIRA, 1999).

A enzima não é liberada durante a reabsorção óssea e seus níveis refletem a atividade osteoblástica na formação de novo tecido ósseo (ALLEN, 2003). Segundo Vieira (1999), as concentrações de Oc são altas em matriz óssea após a conclusão do processo de mineralização, sugerindo que suas principais funções estão na fase de maturação da formação mineral óssea e no estágio final, na fase de reabsorção do metabolismo ósseo. Outra função atribuída é a de mensageira da vitamina D, já que em altas concentrações inibe a formação óssea “in vivo”, esta função influencia a atividade osteoclástica, através de sua ação nos osteoblastos.

É considerado o mais útil marcador em termos de formação óssea. No entanto, é uma molécula com uma semi-vida sérica bastante curta, o que implica alguns cuidados na obtenção e preparação de amostras para diagnóstico (ROSAL & CAPEN, 1997), principalmente se são esperadas variações muito pequenas das respectivas concentrações séricas, devendo-se levar em consideração uma série de fatores, desde a metodologia empregada até as condições de coleta, pois o peptídeo é susceptível a proteólise e deve ser coletado e manipulado com cuidados especiais para evitar a degradação. Devendo ser observado o ritmo circadiano com valores menores durante a manhã, elevando-se à tarde e atingindo o pico em torno de meia noite (SARAIVA et al., 2002). Os mesmos autores relataram ainda um fato que comprova que a osteocalcina mede atividade osteoblástica em estágio diferente da medida pela fosfatase alcalina óssea, que é o da correlação entre as duas medidas ser bastante baixa.

A função ou funções da osteocalcina são ainda mal definidas, apesar de sua estrutura indicar interação com cálcio e com cristais de hidroxapatita. Estudos indicam que o aparecimento e aumento de produção da proteína são coincidentes com o início do processo de mineralização e que a produção de osteocalcina seja de marcador do osteoblasto maduro. A excreção deste peptídeo depende da integridade da função renal, de maneira que, mesmo pequenas disfunções renais, podem levar a aumentos diferenciados das diferentes formas circulantes (VIEIRA, 1999). Este indicador do

metabolismo ósseo veio a ser universalmente utilizado como marcador de formação óssea (DUCY et al., 1996). Como não é liberada do osso durante o processo de reabsorção, ocorrendo apenas durante a formação óssea, os níveis séricos dessa proteína refletem de forma precisa a atividade de síntese osteoblástica (PRICE, 1998).

A osteocalcina é secretada pelos osteoblastos maduros (HAUSCHKA & REID, 1978; NISHIMOTO & PRICE, 1980) no estágio final de diferenciação dos mesmos, durante o período da mineralização da matriz extracelular (STEIN et al., 1990). A quantidade de osteocalcina que entra na circulação sanguínea depende da taxa de secreção individual e do número de osteoblastos que secretam a proteína (NIELSEN, 1994), portanto, o nível de osteocalcina sérica está correlacionado com o número de osteoblastos no osso (MALLUCHE et al., 1984).

Estudos realizados por Jackson et al. (2003) demonstraram que há uma crescente evidência de que os marcadores ósseos, em particular as concentrações séricas de osteocalcina, são influenciados pelo exercício em cavalos. Uma pequena quantidade da osteocalcina sintetizada é liberada na circulação permitindo que sua mensuração seja realizada. A influência do exercício na atividade óssea foi estudada em suínos, aves, eqüinos e humanos, sendo a resposta do esqueleto monitorada e mensurada através das concentrações séricas dessa proteína (FLETCHER et al., 2000).

Lepage et al. (1990 e 1997), relataram a existência de uma correlação inversa entre os valores de osteocalcina e as idades dos animais. Verificaram que entre o nascimento e os 20 anos de idade, os valores mais altos foram obtidos em animais jovens na faixa etária de 6 meses ( $52,9 \pm 7,6$  ng/mL), já os valores mais baixos foram os de idade entre 36 e 60 meses, que mostraram resultados de  $15,8 \pm 4,2$  ng/mL. Esta observação é interpretada como indicadora de uma diminuição da taxa de formação óssea em cavalos adultos, quando comparada com os jovens. Já Lepage et al. (1992), demonstraram que nos cavalos não parece existir uma influência significativa do sexo na concentração sérica dessa proteína, encontrando médias semelhantes com valores de  $38,4 \pm 14,9$  ng/ml para as fêmeas e  $38,7 \pm 15,3$  ng/ml para os machos.

Estudos realizados por Reller et al. (2003) mostraram que os níveis séricos de osteocalcina em cavalos adultos da raça Thoroughbred variaram entre  $152,1 \pm 4,6$



ng/mL e  $131,3 \pm 6,3$  ng/mL e em animais mais jovens entre  $199,6 \pm 30,2$  ng/mL e  $93,8 \pm 32,4$  ng/mL. Estudos realizados por Carstanjen et al., (2004) foram encontrados valores de  $6,70 \pm 0,01$  ng/mL em asininos de 6 meses até 4 anos de idade, entre 5 e 9 anos valores de  $3,2 \pm 0,09$  ng/mL e  $1,50 \pm 1,0$  ng/mL nos animais mais velhos. Alguns valores de referência apontaram para concentrações séricas de  $47 \pm 10,1$  ng/mL em cavalos com menos de 12 meses, e de  $36 \pm 14$  ng/ml em animais mais velhos (HARRIS, 1997).

## 2.7 MACROELEMENTOS

É importante lembrar que a presença de macroelementos como cálcio (Ca), fósforo (P), magnésio (Mg), embora em menores proporções no corpo do animal, desempenham funções vitais em todo o organismo e suas deficiências acarretam alterações nutricionais e metabólicas graves, levando o animal a apresentar desempenho produtivo e reprodutivo aquém do seu potencial (AFRC, 1991; COELHO da SILVA, 1995; NRC, 1996).

Sabe-se que o Ca é mantido em equilíbrio com o P no sangue por meio da ação do paratormônio (PTH), que atua fundamentalmente nos ossos, rins e nos intestinos, em uma ação conjunta com a vitamina D (HORST, 1986; SILVEIRA, 1988). A ação do paratormônio nos rins é capaz de promover aumento da reabsorção do Ca e redução na reabsorção de fosfatos. Nos ossos, ele estimula a reabsorção, elevando os níveis séricos do Ca e de fosfatos.

Níveis adequados de cálcio e fósforo são essenciais para a mineralização e crescimento normais dos ossos. Um desequilíbrio destes minerais pode ocorrer em consequência da ingestão de pastagens que contenham cristais de oxalato de cálcio. Os cereais e o feno de capim são pobres em cálcio e ricos em fósforo. A hiperfosfatemia também reduz o nível sérico de cálcio, o que estimula a produção do PTH. A deficiência absoluta de cálcio, ou a deficiência relativa do mesmo, secundária a excessos de fósforo na alimentação, pode induzir um distúrbio chamado hiperparatireoidismo secundário nutricional. A deficiência dietética de cálcio estimula a glândula tireóide a secretar PTH,

que estimula a reabsorção óssea com o objetivo de estabilizar o nível sanguíneo de cálcio (LINS, 2005).

Stashak (2006), relata que quantidades adequadas de cálcio e fósforo devem ser avaliadas para ossificação endocondral da cartilagem e o animal deve ser capaz de absorver e utilizar esses nutrientes. Os requerimentos de Ca e P para o cavalo presumem que 55% do cálcio e 35% do fósforo serão absorvidos, porém fatores, como excesso de fósforo ingerido e oxalatos ligados a cátions, como cálcio reduzem sua absorção. A digestibilidade do fósforo nas forragens é de 44 a 46%, estando mais disponível do que nos grãos de cereais, concentrados e nos minerais inorgânicos.

Scudeller (2004) relata que quando os níveis do Ca sérico estão abaixo da faixa normal, os animais estão deficientes e a dosagem tem valor diagnóstico, e quando o nível estiver normal pode indicar suficiência ou deficiência, pois os mecanismos homeostáticos estão agindo para manter os níveis normais.

O mecanismo de autocontrole da ingestão de minerais em cavalos não é muito eficiente. Assim, acredita-se haver alguma diferença com relação à ingestão e ao metabolismo do cálcio (Ca) e do fósforo (P) entre os animais criados em um regime extensivo e os criados intensivamente. Na criação extensiva, os animais estão sujeitos à própria regulação do autocontrole de ingestão do mineral disponível e também à ingestão do mineral presente no alimento (HINTZ, 1993). Já Krook (1982) observou que o desequilíbrio do Ca e do P na dieta pode resultar em alterações dos níveis séricos desses minerais e que a persistência dessa condição poderá induzir a graves problemas metabólicos.

### **2.7.1 Cálcio**

O cálcio (Ca) desempenha importantes funções nos processos biológicos, incluindo contração muscular, coagulação sanguínea, ativação enzimática, excitabilidade nervosa, liberação hormonal, permeabilidade de membranas e componente estrutural dos ossos (SCUDELLER, 2004). Aproximadamente 99% de Ca

é encontrado na matriz inorgânica do tecido ósseo (hidroxiapatita), 0,9% como intracelular (membrana plasmática, mitocôndria e retículo endoplasmático) e 0,1% no líquido extracelular. No soro existem 3 frações de Ca: ionizada (50%), ligada à proteína (40%) e sob a forma de complexos (10%), sendo a maioria na forma de íons fosfato e citrato. A fração ionizada do Ca é a mais importante fisiologicamente, regulada pelos efeitos da combinação do hormônio PTH e da vitamina D (MATALOUN et al,1998).

De acordo com o National Institutes of Health, (1994), Olsen et al., (1994); Cooper et al. (1995), o cálcio é o mineral mais abundante do corpo, correspondendo a 1 ou 2% do peso corporal e ocorre numa percentagem de 39% em relação a outros minerais. No esqueleto, 1% do seu conteúdo é livremente intercambiável com líquidos extracelulares, funcionando como reservatório natural.

Rezende (2004) relata que o cálcio é um dos mais importantes minerais que devem ser ingeridos pelo cavalo. Sua deficiência ou excesso na alimentação pode provocar transtornos em quase todas as fases de vida do equino, pois além de fazer parte do esqueleto e ser fundamental para o crescimento do potro, é importante para a égua que se encontra no terço final da gestação. As necessidades de cálcio para a égua durante a lactação aumentam muito e para os equinos que estão trabalhando, esse mineral torna-se essencial, pois é exigido durante a contração muscular.

Considerando a importância do processo remodelativo na homeostasia do metabolismo do cálcio e do fósforo, é também importante referir como elementos fundamentais a esta regulação o hormônio paratireóide (PTH), a calcitonina e a vitamina D. O hormônio paratireóide (PTH) produzido pela paratireóide, provoca um aumento do cálcio sérico através da sua mobilização a partir do osso, afetando a reabsorção óssea através da estimulação da osteólise osteoclástica e osteocítica (BÉLANGER et al., 1993) e aumentando também o número de osteoclastos na superfície óssea, causando uma diminuição relativa do tamanho dos osteoblastos permitindo uma ação mais eficaz por parte dos osteoclastos sobre a matriz óssea (WASSERMAN, 1989). Já a calcitonina, segregada pela tireóide, tem um efeito oposto, inibindo a reabsorção óssea e fazendo diminuir rapidamente os níveis séricos de cálcio, principalmente em situações de hipercalcemia transitória. Este hormônio é ainda

extremamente eficiente na utilização do cálcio absorvido pelo organismo (WASSERMAN, 1989). Por sua vez, a vitamina D tem como principal função a promoção da absorção intestinal do cálcio.

Trabalhos realizados por diversos autores para verificar os níveis séricos de cálcio em eqüinos mostraram valores médios de  $2,87 \pm 0,14$  mmol/L (HARVEY et al., 1984), 11,2 e 13,6 mg/dL (KANECO, 1989) e 2,84 a 3,19 mmol/L (VAN HEERDEN et al., 1990). Posteriormente, pesquisas de Caviglia et al. (2000), relataram valor médio de  $12,7 \pm 0,65$  mg/dL e as de Mundin et al. (2004) de  $10,01 \pm 0,83$  mg/dL como média, e ainda, intervalo entre 7,40 e 11,87 mg/dL. É importante mencionar que Duncan e Prasse (1982) publicaram intervalo de referência que variava entre 9,0 e 13,0 mg/dL, citados como valores normais para eqüinos.

Ramos et al. (2007), estudaram dois haras de cavalos Mangalarga Marchador, com o objetivo de observar parâmetros fisiológicos avaliadores do metabolismo do cálcio. Na pesquisa, os estudiosos encontraram no primeiro haras, num sistema de criação intensivo, valores médios de Ca sérico de 12,78; 13,65; 14,09 e 13,30 mg/dL. No segundo haras, num sistema de criação extensivo os valores médios do Ca foram 13,45; 12,29; 13,71 e 13,53 mg/dL. Em ambas as propriedades, os animais foram agrupados em quatro faixas etárias, com 04, 14, 24 e 48 meses, não verificando diferenças estatisticamente significantes entre os valores dos dois haras.

A quantidade de cálcio (Ca) no organismo é consequência do total de entrada e saída. Se a saída de cálcio (Ca) é maior do que a entrada, indica falhas na homeostase que resulta em hipocalcemia, se a entrada e saída se equivalem, há homeostase e consequente normocalcemia (CAPEN et al. 1989). O National Research Council Subcommittee On Horse Nutrition (1989) considera que os mecanismos de homeostasia cálcica mantêm o cálcio em uma estreita faixa no soro de 10,5 a 13,2 mg/dL.

### **2.7.2 Fósforo**

O fósforo (P) existe no esqueleto sob a forma cristalina (85%) e sua função é estrutural, o restante (15%) está presente no líquido extracelular sob a forma de íons fosfatos orgânicos e nos tecidos moles sob a forma de ésteres de fosfato, em quase sua totalidade. O fósforo sérico existe sob a forma de 3 frações: ionizada (45%), ligada à proteína (10%) e sob a forma de complexos (35%) com Na, Ca e Mg (MATALOUN et al., 1998). Estes autores relataram, ainda, que o P não possui mecanismos diretos e específicos como o cálcio, para sua homeostase, porém está envolvido na reabsorção óssea, secreção salivar, absorção intestinal e excreção fecal, urinária e láctea. Quem atua de forma direta, quando os níveis de fósforo sanguíneo diminuem, é o calcitrol.

O fósforo (P) tem papel bem definido na prevenção e na diminuição dos transtornos do metabolismo ósseo, que alteram o desenvolvimento e, sobretudo, a solidez do esqueleto (LOPES, et al., 2003). Nesse sentido, Wolter (1977) destacou que a perfeita integridade de um esqueleto bem desenvolvido, sólido e resistente, é condição fundamental para um bom desempenho de cavalos. De acordo com o National Research Council Subcommittee on Horse Nutrition (1989), as exigências de fósforo para o desenvolvimento adequado dos ossos baseiam-se em estimativas de que cavalos em crescimento depositam oito g de fósforo por kg de ganho de peso.

Vieira (2007) relata que em razão dos níveis de fósforo apresentarem variações com as refeições e ritmo circadiano, é fundamental que as amostras sejam coletadas de manhã e em jejum e devem ser interpretados levando-se em conta a faixa da normalidade referente à idade do paciente. Em humanos a concentração é mais alta em crianças, estabilizando na idade adulta e apresentando discreto declínio na terceira idade. Existem diferenças de susceptibilidade à deficiência de fósforo quanto à espécie animal, sendo a equina mais resistente, seguida da ovina e bovina. A carência de P causa raquitismo nos animais em crescimento e osteomalácia nos adultos (TIMM, 2001).

Pesquisas realizadas em equinos para determinar os valores médios séricos de fósforo mostraram resultados de 0,87 mmol/L (LUMSDEN et al. 1980), 1,47 mmol/L (HARVEY et al., 1984) e intervalos entre 0,93 e 1,56 mmol/L (VAN HEERDEN et al., 1990) 3,1 e 5,6 mg/dL (CARLSON, 1994). Vale ressaltar que Duncan

& Prasse (1982) e Kaneko (1989), haviam informado intervalo de referência para equinos entre 3,0 e 7,0 mg/dL. Estudos posteriores de Mundin et al. (2004), sobre perfil bioquímico de equinos em atividade física, notificaram valor médio de 4,21 mg/dL com intervalo entre 2,24 e 6,22 mg/dL, da mesma forma Ramos et al. (2007), ao estudar dois sistemas de criação, com faixas etárias diferentes, obtiveram resultados que variaram entre 3,27 e 3,88 mg/dL no sistema extensivo e no intensivo entre 4,46 e 3,03 mg/dL.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 ANIMAIS

Foram utilizados 40 asininos, sem raça definida (SRD), machos e fêmeas, com idade entre 7 e 8 meses, provenientes de diferentes bairros da grande São Luís, com igual manejo alimentar, clinicamente sadios e 20 deles em atividade física constante. Os animais foram divididos em dois grupos. O primeiro formado por asininos que não estavam em atividade de tração (ANT) e o segundo (AT), por animais que estavam em atividade (figura 2).



**FIGURA 2-** Imagens dos asininos utilizados nesta pesquisa e pertencentes aos grupos experimentais ANT (a e b) e AT (c e d).

### 3.2 PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Foram feitas mensurações relacionadas com o peso e altura. O peso foi calculado conforme a proporção da circunferência torácica descrita em fita métrica fabricada para essa finalidade (figura 3).



**FIGURA 3- Imagens da mensuração de peso (a) e mensuração da altura (b) em asininos.**

### 3.3 PROTOCOLO RADIOGRÁFICO

Para acompanhamento e avaliação do fechamento da placa epifisária foram realizadas radiografias mensais da região distal do rádio direito, em incidência crânio-caudal, sendo utilizado filme radiográfico<sup>1</sup> e chassis 24 x 30 cm, equipados com écrans Terras-raras de igual tamanho. No exame, foi utilizado um aparelho de raios- X portátil, modelo FNX – Jockey 90<sup>2</sup>. A kilovoltagem (kVp) foi padronizada em 53 kVp e a miliamperagem/segundo (mA/s) de 3,0. O estudo foi realizado no setor de Radiologia do Hospital Veterinário do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão – UEMA (figura 4). Posteriormente as imagens radiográficas foram analisadas e classificadas de acordo com o grau de fechamento da placa epifisária,

<sup>1</sup> KODAK - KODAK Brasileira Com. e Ind. Ltda.

<sup>2</sup> FNX – Distribuidora de Equipamentos Médicos Ltda – RJ



como a seguir: “C” aberta (placa visível), “B” aberta em faces laterais do eixo ósseo e fechada em região central de placa (parcialmente visível) e “A” fechada totalmente (placa não visível).



**FIGURA 4-** Imagens mostrando o aparelho utilizado para a execução dos exames radiográficos (a); técnica empregada pra a captura das imagens (b, c); observação e análise das radiografias (d).

### 3.4 PROTOCOLO LABORATORIAL

Amostras de sangue sem anticoagulante foram colhidas mensalmente, por punção da veia jugular (figura 5). Após centrifugação a 10.000 r.p.m durante 15 minutos o soro foi armazenado em tubos de prolipopileno (*ependorf*), até a realização dos exames laboratoriais. Este procedimento foi realizado no Laboratório de Patologia Clínica do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão

(UEMA). As dosagens de osteocalcina (Oc)<sup>3</sup>, fosfatase alcalina total (AlkP)<sup>4</sup>, cálcio (Ca)<sup>5</sup> e fósforo (P)<sup>6</sup> foram feitas usando kits laboratoriais específicos, seguindo as recomendações do fabricante.



**FIGURA 5- Imagem ilustrando a punção através da veia jugular para retirada do sangue.**

As mensurações da Oc foram realizadas pelo método de radioimunoensaio, utilizando iodo<sup>125</sup> radioativo como marcador, com aparelho contador gama KinetiCount® 48, Vitek Systems, Missouri, USA do Laboratório de Endocrinologia da Universidade do Estado de São Paulo (UNESP) - Araçatuba (figura 6). As demais análises foram realizadas utilizando aparelho automatizado “Architec” ci8200 Abbott Laboratórios, USA, Abott Park IL 60064 do Laboratório Central da Secretaria Municipal de Saúde de São Luís – MA (figura 7).

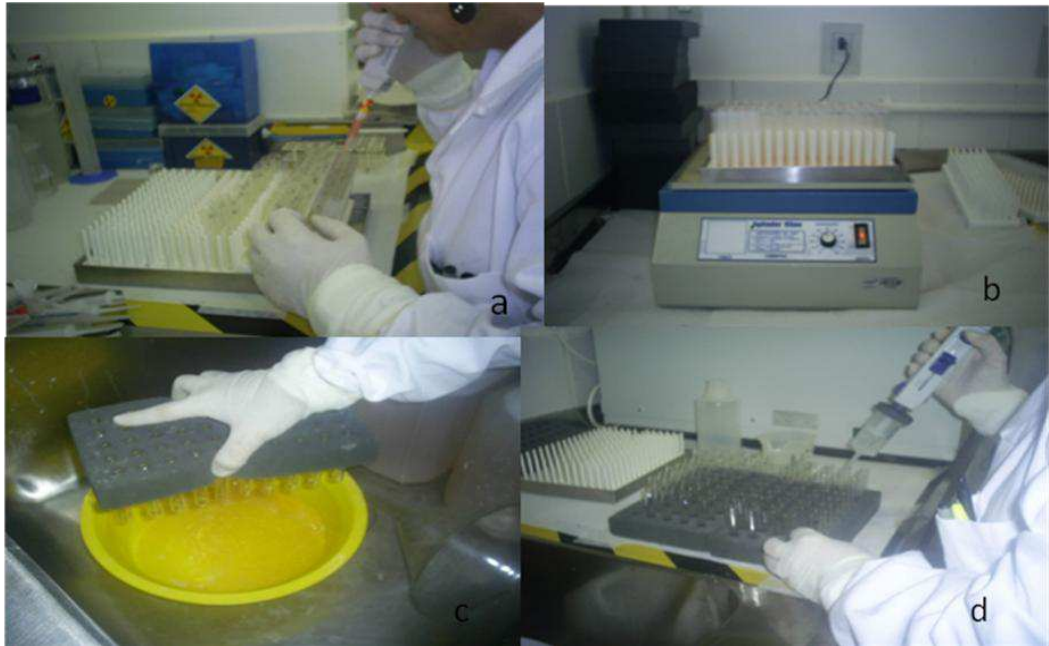
---

<sup>3</sup> OC – BIOSOURCE hOST-IRMA

<sup>4</sup> Fosfatase Alcalina – LABTEST - 100

<sup>5</sup> Cálcio Liquiform 2x60ml - LABTEST

<sup>6</sup> Fósforo – Det LABTEST – 50-100



**FIGURA 6-** Sequência de imagens da técnica empregada para mensuração da osteocalcina.



**FIGURA 7 –** Imagens do aparelho de mensuração das atividades séricas de Alkp, Ca e P, “Architec” ci8200 Abbott Laboratórios, USA, Abott Park IL 60064.

### **3.5 ANÁLISES DESCRITIVAS E ESTATÍSTICAS**

A análise das imagens radiográficas foi feita de forma descritiva com base na evolução do fechamento da placa epifisária para posterior classificação do grau, conforme recomendado por Adams (2001). Os dados obtidos foram submetidos a análise estatística descritiva simples (média e desvio padrão) para o grau de fechamento da placa, bem como, para o crescimento, peso e valores séricos. Posteriormente realizou-se comparação das médias dos grupos experimentais de diferentes variáveis utilizando o Teste T pareado com intervalo de confiança de 95%. Todos estes dados foram trabalhados no programa estatístico Instat 2.0, ano 2003.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

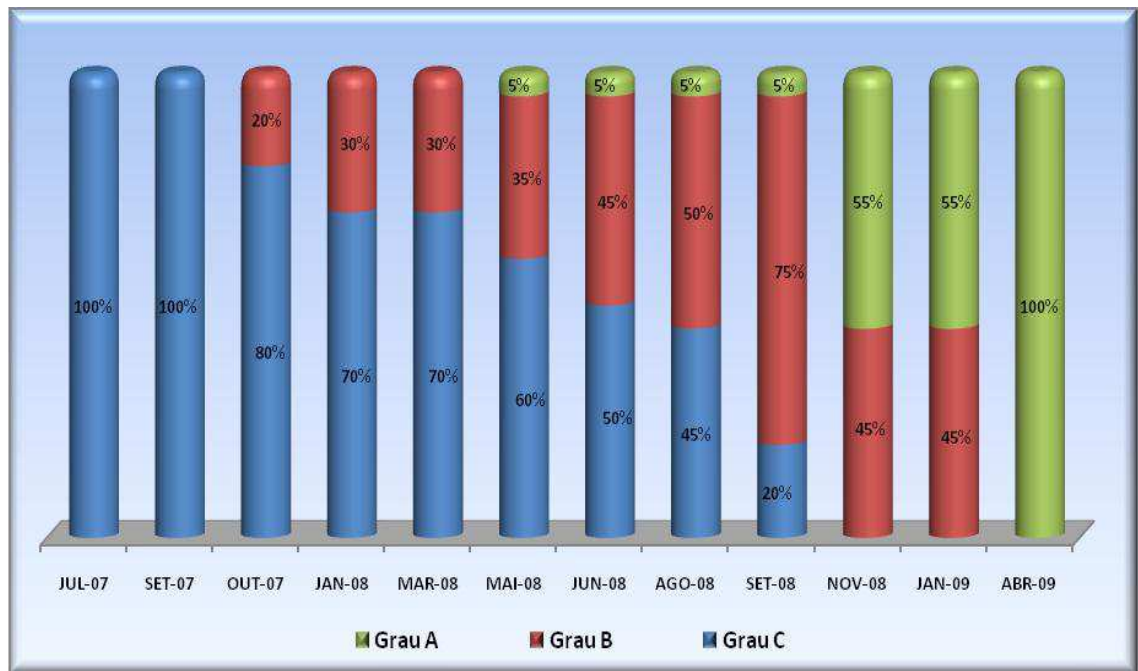
Os animais do grupo ANT apresentaram um valor médio de 25,20 meses, diferindo estatisticamente dos animais que trabalhavam com média de 18,35 meses para o fechamento da placa epifisária da extremidade distal do rádio direito (tabela01).

**Tabela 01-** Médias e desvio padrão da idade, em meses, do fechamento da placa epifisária da região distal do rádio de asininos dos grupos ANT e AT.

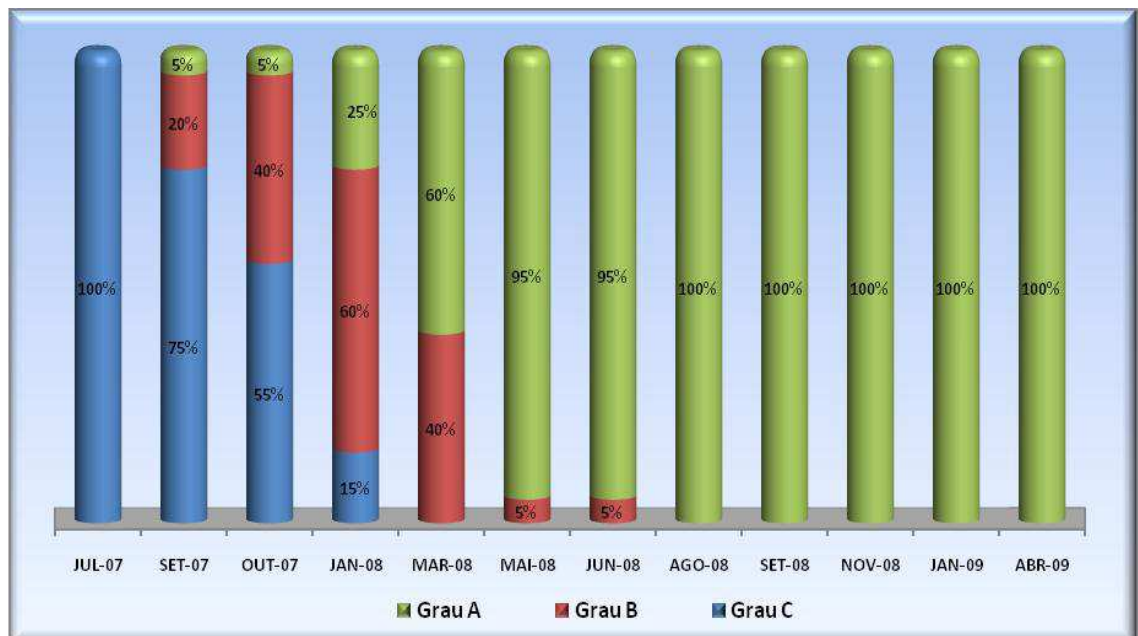
<b>Grupo</b>	<b>N</b>	<b>Idade (meses) (<math>\bar{X} \pm S</math>)</b>	<b>valor de P &gt; 0.05</b>
ANT	20	25,20 $\pm$ 1,70 <sup>a</sup> (min 23.0; max 28.0)	0,0001*
AT	20	18,35 $\pm$ 1,70 <sup>b</sup> (min 17,0; max 21,0)	

médias seguidas por letras diferentes são estatisticamente significativas com intervalo de confiança de 95% no teste T Paried.

Os resultados obtidos neste estudo para a idade de fechamento da placa epifisária de asininos, mostrou-se próximos aos resultados notificados para equinos por Myers & Emmerson (1966), que realizou estudo em machos e fêmeas, da raça Árabe, por Pezzoli & Del Bue (1973), em animais da raça Trotadora Italiana, Mamprim, et al., (1992) em fêmeas da raça Mangalarga, Vulcano et al., (2000) em machos e fêmeas da raça Puro Sangue Inglês e Luiz et al., (2007) em potros crioulos. Entretanto, os estudos de Godoy et al., (2004) mostraram valores superiores em machos da raça Brasileiro de Hipismo, tal diferença ocorreu possivelmente pela característica da raça, a qual foi desenvolvida para a atividade física de salto, informação esta consolidada com relatos de Freeman (1990). Verificou-se também, que os animais usados em tração tiveram fechamento da placa epifisária com idade inferior (figura 8), quando comparados com os que não estavam em atividade (figura 9). Tal diferença pode ser atribuída ao fato de que a atividade física interfere no desenvolvimento ósseo, evento esse confirmado em pesquisas realizadas por Kannus et al., (1992), Hart et al., (2001) e Maranhão et al.,(2006) em humanos.



**FIGURA 8:** Gráfico da evolução do grau de fechamento da placa epifisária do grupo de animais que não trabalhavam (ANT).



**FIGURA 9:** Gráfico da evolução do grau de fechamento da placa epifisária do grupo de animais que trabalhavam (ANT).

Por outro lado, Bebachuk (2003) em seus estudos sobre formação de placa epifisária, notificou que as adaptações morfológicas e mecânicas são importantes para o crescimento da placa em condições de exercício voluntário. Porém, os asininos usados no presente estudo realizavam atividades físicas com intensidade extrema, o que acelerou o processo de ossificação da placa e interferiu no crescimento longitudinal do osso, observação essa que é está corroborada pelos estudos de Niehoff et al. (2004), em desenvolvimento do tecido ósseo.

Na comparação entre o crescimento ósseo e o fechamento da placa, os animais do grupo ANT apresentaram o valor médio de 28,20 cm, enquanto que os do AT foram de 12,40 cm, resultados esses que ao serem analisados mostraram diferença estatística significativa (tabela 2).

**Tabela 02-** Médias e desvio padrão do crescimento ósseo, em centímetros, dos asininos grupos ANT e AT relacionado com o fechamento da placa epifisária.

<b>Relação altura /fechamento de placa em cm</b>			
	<b>Grupo ANT</b>	<b>Grupo AT</b>	<b>valor p&gt;0,05</b>
Média de Crescimento ósseo	28,20 ± 13, 44 <sup>a</sup> (min 9,0; max 58,0)	12,40 ± 8,69 <sup>b</sup> (min 3,0; max 35,0)	0,0006*

médias seguidas por letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente com intervalo de confiança de 5%.

Os valores obtidos no crescimento do eixo ósseo, demonstrou que a atividade física que exerciam os animais do grupo AT interferiu significativamente no desenvolvimento ósseo, fato esse já comentado por Reich et al. (2005), que ao realizarem estudos em potros, afirmaram que o estímulo mecânico resultado de um peso excessivo, é um importante fator na maturidade e remodelação óssea. Informações similares são verificados em trabalhos desenvolvidos com tecido ósseo por Rubin & Lanyon (1984), Pead et al., (1988), Jones (1989), Skerry et al., (1989), Junqueira e Carneiro (2005), Vervuert et al., (2002) e Jackson et al., (2003), e vêm a corroborar e

fortalecer os resultados obtidos neste estudo. De acordo com Stashak (2006) uma força excessiva aplicada em uma articulação e em suas fises próximas, pode levar a lesão epifisária, devido à fragilidade das placas em seu crescimento. Tal informação não foi verificada neste estudo, devido provavelmente que, embora os asininos usados no estudo realizassem atividades físicas constantes, seus proprietários alternavam períodos de descanso com os de atividade.

Quanto ao desenvolvimento corporal, houve diferença estatística entre a média dos grupos ANT e AT e que os animais que trabalhavam tiveram um maior ganho de peso (tabela 03).

**Tabela 03** – Médias e desvio padrão do ganho de peso (kg) dos asininos dos grupos ANT e AT.

<b>Grupo</b>	<b>N</b>	<b>Ganho de peso (kg) (<math>\bar{X} \pm S</math>)</b>	<b>valor de P &gt; 0.05</b>
ANT	20	17,60 ± 10,44 <sup>a</sup> ( <i>min</i> 4,0; <i>max</i> 41,0)	0,0006*
AT	20	7,00 ± 5,18 <sup>b</sup> ( <i>min</i> 0,0; <i>max</i> 21,0)	

médias diferem estatisticamente com intervalo de confiança de 95% teste T Paried

No desenvolvimento corporal, verificou-se que os animais do grupo ANT apresentaram ganho de peso de 17,60 kg, enquanto que o outro foi de 7,00 kg. Resultado esse com diferenças estatisticamente significativas, demonstrando ser a ingestão e conversão dos alimentos influenciada possivelmente pela condição de estresse, velocidade de ingestão e à proporção que são utilizados, já que os asininos do grupo ANT encontrava-se em repouso e com alimentação a disposição, enquanto os do grupo AT recebiam seus alimentos durante o período de descanso ou no final de suas atividades. Essas observações são reforçadas por estudos feitos por Lewis (1994), Shahin (1993) e Oliveira (1998) quando comentam que atividades extenuantes e prolongadas, podem levar a deficiência aguda de energia e eletrólitos e ainda, a



eficiência com que os alimentos são utilizados, interfere diretamente na composição do ganho de peso. Todavia, estudos de Silva Filho et al. (2004) relataram que os equídeos de tração apresentam certo grau de subnutrição, com escore corporal abaixo do recomendado. Tais observações foram verificadas nos animais do grupo AT deste trabalho. É importante mencionar que o fator financeiro dos proprietários tem papel importante na alimentação oferecida aos animais, que dividem recursos com essa população e concorrem pelo alimento (ZANELLA, 2003).

O início das atividades físicas (tração) dos asininos ocorre antes ou logo após o desmame, o que resulta em indivíduos de tamanhos menores, massa corporal subdesenvolvida e, muitas das vezes, em membros locomotores encurvados, aspectos esses também mencionados por Mamprim et al. (1992), em pesquisas com equinos. O bem estar desses animais pode melhorar se forem desenvolvidos programas educacionais, capacitação de seus proprietários e assistência profissional, medidas essas mencionadas também por Aluja (1998).

Os valores séricos de cálcio e fósforo foram semelhantes em ambos os grupos, o mesmo não tendo sido observado para a fosfatase alcalina que apresentou diferença estatística entre os grupos (tabela 04).

**Tabela 04-** Médias e desvio padrão dos valores séricos de fosfatase alcalina (Alkp), cálcio (Ca) e fósforo (P) de asininos do grupo ANT e AT.

<b>Grupo</b>	<b>fosfatase alcalina (U/L)</b> <b>(X ± S)</b>	<b>cálcio (mg/dL)</b> <b>(X ± S)</b>	<b>fósforo (mg/dL)</b> <b>(X ± S)</b>
<b>ANT</b>	154,78 ± 35,70 <sup>a</sup> (min 105,40; max 223,30)	7,79 ± 0,77 <sup>c</sup> (min 6,07; max 9,18)	4,84 ± 0,77 <sup>d</sup> (min 3,38; max 6,51)
<b>AT</b>	193,55 ± 44,19 <sup>b</sup> (min 109,56; max 270,63)	7,41 ± 0,71 <sup>c</sup> (min 5,73; max 8,70)	4,84 ± 0,92 <sup>d</sup> (min 3,62; max 7,30)

médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente, médias seguidas por letras diferentes, diferem estatisticamente, segundo teste T Paried. Alkp valor de  $p < 0.05$  (0, 0041\*); Ca valor de  $p > 0.05$  (0, 1145\*); P valor de  $p > 0.05$  (0, 9926\*).

Os valores obtidos da fosfatase alcalina, entre 105,40 e 223,30 U/L para o grupo ANT e 109,56 e 270,63 U/L para o AT, mostraram uma grande variação dos níveis séricos, observação essa confirmada por Mundin et al. (2004), em trabalho realizado para avaliar o perfil bioquímico e enzimático em cavalos de trabalho. As médias da AlkP obtidas neste estudo no grupo AT mostram-se próximas dos valores encontrados por Harvey et al.,(1984); Carlson (1994), Messer (1995) e Mundin et al. (2004), acima dos mencionados por Ramos et al. (2007) e abaixo dos relacionados por Kaneko (1989) e Van Heerden et al. (1990), para equinos, tal diferença pode estar relacionada à espécie animal estudada (FESSEL, 1998; FREEMAN, 1990), tipo de atividade desenvolvida pelos animais (CARVALHO, 2000), estado fisiológico (FESSEL, 1998; CARVALHO, 2000) e ainda, pelo manejo alimentar praticado em cada estudo (REZENDE, 2004; STASHAK, 2006). A pesquisa mostrou, ainda, valores inferiores para o grupo ANT, tal discrepância provavelmente deveu-se a que essa enzima no osso, encontra-se geralmente localizada nos osteoblastos, células que participam ativamente da formação óssea, a qual ocorre constantemente em indivíduos que praticam atividade física. Tal observação está corroborada por Price et al.(1995<sup>a</sup>) e Harris (1997), que evidenciaram aumento dos níveis séricos dessa enzima em resposta ao exercício físico.

Na análise do cálcio, verificou-se que as variações encontradas dentro dos grupos foram de 6,07 mg/dL e 9,18 mg/dL para os asininos do grupo ANT, enquanto que 5,73 mg/dL e 8,70 mg/dL para o AT. Tais intervalos encontram-se abaixo dos limites apontados por Duncan & Prasse (1982) e inferiores aos relatados por Kaneko (1989), Caviglia et al. (2000), Mundin et al. (2004) e Ramos et al.(2007). As oscilações informadas no presente estudo, e ainda pelos autores já citados, apenas demonstram que a entrada e saída do Ca na corrente sanguínea ocorre continuamente, promovendo um equilíbrio (homeostase) e consequente normocalcemia, fatos esses já notificados por Capen et al., (1989), em estudos realizados sobre o metabolismo do cálcio. Por outro lado, verifica-se deficiência clara do mineral, o que evidencia problemas no manejo alimentar o que vai de encontro às recomendações de Rezende (2004).

Os valores do fósforo sérico também mostraram variações dentro dos grupos, sendo notificados quantidades entre 3,38 mg/dL e 6,51 mg/dL para animais do

grupo ANT e de 3,62 mg/dL a 7,30 mg/dL para os que realizam atividade de tração. Esses resultados são similares aos mencionados por Kaneko (1989), Duncan & Prasse (1982) e Mundin et al. (2004), em estudos realizados na espécie equina. Por outro lado, ao confrontar os valores obtidos nesta pesquisa com os publicados por Ramos et al. (2007), verificamos que as mensurações dos asininos foram superiores ao do autor acima citado, tais diferenças podem ocorrer devido ao tipo de alimentação fornecida, horário da coleta das amostras e ainda a faixa etária dos animais usados no experimento, fatos esses que também já foram mencionados por Vieira (2007). A susceptibilidade à deficiência de fósforo já tem sido estudada e, de acordo com Timm (2001), a espécie equina é mais resistente.

O estudo da osteocalcina demonstrou valores entre 0,88 e 14,55 ng/ml para o grupo ANT e de 5,53 a 11,30 ng/ml para o grupo AT (Tabela 05), não havendo diferenças significativas entre os grupos do estudo.

**Tabela 05-** Médias e desvio padrão dos valores séricos de osteocalcina (ng/ml) nos asininos dos grupos ANT e AT.

<b>Grupo</b>	<b>Osteocalcina (ng/ml) (X ± S)</b>	<b>P &gt; 0.05</b>
ANT	7,29 ± 4,97 <sup>a</sup> (min 0,88; max 14,55)	0,5799*
AT	8,72 ± 2,45 <sup>a</sup> (min 5,53; max 11,30)	

média seguida por letras iguais não diferem estatisticamente, segundo o teste de T Paried.

Ao compararmos o valor da curva de análise da osteocalcina no soro de asinino, verificamos que tem valor de 0,0360 ng/ml, inferior à informada para equinos por Lepage et al. (1998), que foi de 0,463 ng/ml, tal discrepância pode estar relacionada com o tipo de atividade que os animais realizam (HARRIS, 1997) e ainda com a taxa de atividade óssea (FLETCHER et al., 2000). Os valores observados para os asininos estudados foram inferiores aos encontrados por Reller et al. (2003) e Harris (1997), tal

diferença pode estar influenciada pela espécie animal usado no experimento. Já ao compararmos os resultados desta pesquisa com os estudos de Carstanjen et al. (2004) na mesma espécie, observamos que estes valores são maiores, tal diferença pode estar relacionada com diversos fatores como condições de coleta, preparo da amostra ou ainda ritmo circadiano, fatos esses já mencionados por Rosal & Capen, (1997); Saraiva et al., ( 2002) e Vieira (1999), fatos esses que foram bastante considerados no estudo.

Os asininos são muitos usados em regiões metropolitanas das cidades do norte e nordeste, tornando-se uma espécie importante no campo social e financeiro de muitas famílias. Contudo, poucos estudos são realizados para promover uma melhor qualidade de vida dos mesmos ou ainda pesquisas sobre os elementos que os tornam resistentes ao meio que vivem. É, porém este trabalho, uma forma de divulgar que mais atenção investigativa deve ser dada a esses animais.

## 5. CONCLUSÃO

A análise dos resultados obtidos neste estudo permite concluir que:

- Os asininos usados em atividade física de tração desde os primeiros meses de vida apresentaram fechamento da placa epifisária em tempo menor (18,35 meses) quando comparados com aos que não realizam essa atividade física (25,20 meses).

- Os níveis séricos de fosfatase alcalina foram maiores nos animais que realizavam atividade física, o mesmo não ocorrendo com os valores séricos de cálcio, fósforo e osteocalcina, quando comparados.

- Os asininos que não foram submetidos à atividade física desde os primeiros meses de vida, tiveram um desenvolvimento corporal maior do que aqueles que realizaram a atividade de tração.

Os resultados deste estudo confirmam a hipótese de que a atividade de tração interfere no fechamento da placa epifisária, no desenvolvimento corporal e no crescimento ósseo. Estes resultados servem para determinar a idade adequada para iniciar as atividades de tração em asininos, que é a partir dos 25 meses de idade, o que conseqüentemente dará ao animal uma melhor qualidade de vida, além de um maior desempenho na atividade praticada.

## REFERÊNCIAS

- ADAMS, O.R. Radiographic determination of bone maturity as a guide to training horse. In: STASHAK, T.S. **Lameness in horse**. 3. ed. Philadelphia : Lea & Febiger, 2001. 550p
- AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL - AFRC.. Technical committee on responses to nutrients, Report 6. A reappraisal of the calcium and phosphorous requirements of sheep and cattle. **Nutrition Abstrac. Revista.**, 61(9):576-612. 1991
- ALLEN, M. J., HOFFAMANN, W.E., BREUR, G.J., RICHARDSON, D. C. Serum markers of bone metabolism in dogs. **Research Veterinary Science**, v. 59, p. 250-254, 1998.
- ALLEN, L. C., ALLEN, M. J., BREUR, G.J., HOFFAMANN, W.E., RICHARDSON, D. C. A comparison of two techniques for determination of serum bone-specific alkaline phosphatase activity in dogs. **Research Veterinary Science**, v. 68, p. 231-235, 2000.
- ALLEN, M. J. Biochemical markers of bone metabolism in animals: uses and limitations. **Veterinary Clinical Pathology**. v. 32, :101– 113, 2003.
- ALUJA, S. A. The welfare of working equids in Mexico, *Applied Animal Behaviour Science*, v. 59, p.19-29, 1998.
- AUER, J. A.; STICK, J. A. *Equine surgery*. 2. ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1999, 937 p.
- BANKS, William J. **Histologia veterinária aplicada**. Ed. São Paulo: MANOLE, 1991.
- BEBCHUK, T. N. Cause and effect of premature physal closure. **Proceedings ACVS**. Saskatoon: Canada, 2003.
- BÉLANGER, L.F.; ROBICHON, J.; MIGICOVSKY, B.B.; COPP, D.H.; VINCENT, J. (1993) Resorption without osteoclasts (osteolysis). In Sognaes.
- BLACK, A.; SCHONECHT, P.A.; RALSTON, S.L.; SHAPSES, S.A. Diurnal variation and age differences in the biochemical markers of bone turnover in horses. *Journal of Animal Science* 77:75-83. 1998.
- BILLINGHURST, R.C.; BRAMA, P.A.J.; VAN WEEREN, P.R.; KNOWLTON, M.S.; MCILWRAITH, C.W. Evaluation of serum concentrations of biomarkers of skeletal metabolism and results of radiography as indicators of severity of osteochondrosis in foals. *Am J Vet Res*. 65(2):143-150.2004.
- BLOSSON, E. S. **El Cavallo de Carrera en el mundo: 2005**. banco de dados. [on line]. Disponível em: <http://www.acpccp.com.br/artigos03ehtm> Acesso em: 29 de maio 2009, 1:29 h.

BONASSAR, L. J.; TRIPPAL, S. B. Interaction of epidermal growth factor and insulin-like growth factor-1 in the regulation of growth plate chondrocyte. *Experimental Cell Research*. v. 234, , p. 1-6. 1997.

BREUR, G. J., ALLEN, M. J., CARLSON, S. J., RICHARDSON, D. C. Markers of bone metabolism in dog breeds of different size. *Research Veterinary Science*, v. 76, p.53-55,2004.

BREGUEZ, S. G. GT. FOLKCOMUNICACION MIDIA E FOLCLORE: O Caso do Jumento.– UNIVALE, Brasil, 2000, site: [www.breguez.jor.br](http://www.breguez.jor.br), acesso em 26 de maio de 2009, às 23:18 h.

BUZATO, E.A. Casqueamento em potros nos primeiros seis meses – Curso de Ciências Equinas – Pontifca Universidade Católica do Paraná, escrito em junho 2008, disponível em internet, [www.harasgarden.com.br/ferrageamento.html](http://www.harasgarden.com.br/ferrageamento.html)- acesso em 29 de junho de 2009.

CAPEN, C.C., ROSOL, T.J. Calcium – regulating hormones and diseases of abnormal mineral (calcium, phosphorus, magnesium) metabolism. In:KANEKO, J.J. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**, 4 ed San Diego, Califórnia: Academic Press, 1989, p.678-752.

CARDOSO, M. J. L., MUNIZ, L. M. R.,GASPARINI, T. J., MELUSSI, M. Homeostase do Cálcio e Marcadores do Metabolismo Ósseo no Hipertiroidismo Felino: *Archives of Veterinary Science*, v. 12, n. 1, p. 17-27, 2007.

CARSTANJEN, B.; AMORY, H.; YOUSAO, I.; REMY, B. Serum osteocalcin in donkeys as evaluated with an equine – specific radiomunoassay. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, volume 88, p. 1-6, fev. 2004.

CARVALHO, L.A. Problemas Ortopédicos. *Revista Alimentação Animal*. n. 17, Jan-Mar 2000. Disponível em internet <http://www.bichoonline.com.br/artigos/aa0023.htm>. Acesso em 29 de junho de 2009.

CARVALHO, C.F. Sistema Locomotor de Equinos – Alterações Radiográficas do Sistema locomotor de Equinos, 2005. Disponível em internet: [http://www.cibelefcarvalho.vet.br/derived/tgi.htm\\_cmp\\_indust110\\_hbtn\\_a.gif](http://www.cibelefcarvalho.vet.br/derived/tgi.htm_cmp_indust110_hbtn_a.gif). Acesso em: 14/04/2007.

CARLSON, G.P. Teste de química clínica. In: SMITH, B.(Ed.) **Tratado de medicina interna de grandes animais**. São Paulo: Manole,1994, v.1, p 395-423.

CAVIGLIA, J.F.E.; PERRONE, G.M.; CHIAPPE, A.; TAFFAREL, C.; GONZALEZ,G. Evolucion de parámetros hematologicos em caballos de pato. **Revista de Medicina Veterinária**, Buenos Aires, v. 81, n. 1, p. 75-78, 2000.

COELHO DA SILVA, J.F. Exigências de macroelementos inorgânicos para bovinos: o sistema ARC/AFRC e a experiência mo Brasil. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE RUMINANTES, 1., 1995, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1995. p. 467-504.

COLEMAN, R.E. The clinical use of bone resorption markers in patients with malignant bone disease. *Cancer*, v.94, p.2521-2533, 2002.

COOPER, C.; CAWLEY, M.; BHALLA, A. Childhood growth, physical activity, and peak bone mass in women. ***Journal Bone Mineral Research***. v.10: 940-947, 1995.

DAVICCO, M.J., FAULCONNIER, Y. COXAM, V., DUBROEUCQ, H., MARTIN-ROSSET, W. BARLET, J.P. Systemic bone growth factors in light breed mares and their foals. *Archives Internationales de Physiologie, de Biochimie et de Biophysique* 102. 115-119. 1994.

DECRETO nº 19.456 de 08 de outubro de 1999. Regulamenta o Serviço Público de Tração no Município de São Luís/MA.

DELMAS, P.D. et al. Immunoassay of pyridinoline crosslink excretion in normal adults and in Paget's disease. ***Journal of Bone and Mineral Research***, v.8, n.3, p.643-648, 1993.

DELMAS, P.D.; EASTELL, R.; GARNARNERO, P.; SEIBEL, M.J.; STEPAN, J. The use of biochemical markers of bone turnover in osteoporosis. *Osteoporos International*, v.11, n. 6:S2-17, 2000.

DELLMANN, D.H.; EURELL, A. J. *Textbook of Veterinary Histology*. 5 ed. Baltimore: Lippincott Williams & Williams , 1998.

DUCY, P.; DESBOIS, C.H.; BOYCE, B.; PINERO, G.; STORY, B. Increased bone formation in osteocalcin-deficient mice. *Nature*. 382:448-452, 1996.

DUKES. ***Fisiologia dos Animais Domésticos***. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 835p. 1996.

DUNCAN, J.R.; PRASSE,K.W. ***Patologia Clínica Veterinária***. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 217 p. 1982.

FEESSEL, G. *A biologia das células, tecidos e órgãos*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.

FIRTH, E.C., Rogers C.W., vanWeeren, P.R., Barneveld, A.; Kawcak., C.E.; McIlwraith3, C.W.; Goodship, A.E.; Smith, R.K.W. Changes in diaphyseal and epiphyseal bone parameters in thoroughbred horses after withdrawal from training. ***Journal Musculoskelet Neuronal Interact***. v.7(1):74-76, 2007.

FLETCHER, K.L.; TOPLIFF, D.R.; COOPER, S.R; FREEMAN, P.D.W.; GEISERT, R.D. Influence of age and sex on serum osteocalcin concentrations in horses at weaning and during physical conditioning. ***Journal of Equine Veterinary Science***. v.20, nº 2 :124 – 126, 2000.

FREEMAN, D.W. *Managing young horses for sound growth*.1990. Division of Agricultural Sciences and Natural Resources. Oklahoma State University. Disponível



em: <<http://www.ansi.okstate.edu/exten/horses/f-3977-1/f-3977-4.html>>. Acesso em: 17 de março. 2007.

GARDNER, E.; GRAY, D.J.; RAHILLY, R.O. Anatomia estudo regional do corpo humano. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. 815p.

GODOY, C. L. B. VULCANO, L. C.; SANTOS, F. A. M.; SOARES, J. C. M. Fechamento epifisário da extremidade distal do rádio de equinos da raça brasileira de hipismo (BH). **Ciência Rural**, v.34, n° 06, p.1813-1815, nov-dez, 2004.

GRAY, J. A. Investigations into the use of biochemical markers of bone metabolism in the horse. PhD thesis. University of Cambridge. 1996.

HAUSHKA, P.V.; REID, M.L. Vitamin K dependence of a calcium-binding protein containing gama-carboxyglutamic acid in chicken bone. *J Biol Chem.* 1978. 253:9063-9068.

HANK, A. M.; HOFFMANN, W. E.; SANEKI, R. K.; SCHAEFFER, D. J.; DOMER, J. L. Quantitative determination of equine alkaline phosphatase isoenzymes in foal and adult serum. 1993. *J Vet Int Med.* 7:20-24.

HARRIS, P.; GRAY, J.A. Biochemical bone markers. In: *Current therapy in Equine Medicine* 4.ed : 1997 Robinson, N.E. W.B. Saunders.USA.

HARVEY, R.B; HAMBRIGHT, M.P; ROWE, L.D. Clínical biochemical and hematologic values of the American miniature horse: reference values. **American Journal of Veterinary Research.** Cshaumburg, v. 45, n. 5, p. 987-990, may.1984.

HART, K.J.; SHAW, J.M.; VAJDA, E.; HEGSTED, M.; MILLER, S.C. Swim – trained rats have greater bone mass, density, strenght, and dynamics. **Journal Applicat Physiology.** v.91 :1663-1668, 2001.

HINTZ, H, F. Self selection of calcium by horse, *Equine Pract.*, v. 9, n. 6, p. 5-6, 1987.\_\_\_\_\_. Interactions among minerals. *Equine Pract.*, v. 15, n. 6, p. 7-8, 1993.

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

HORST, R. L. Regulation of calcium and phosphorus homeostasis in the dairy cow. *J. Dairy Sci.*, Champaign, v. 69, n. 2, p. 604-616, 1986.

HUNT, R. J.; MCGEE, H. D. Management of physéal fractures in foals. *Proceedings ACVS.* Lexington, 2003.

JACKSON, B. F.; LONNELL, C.; VERHEYEN, K.L.P.; DYSON, P.; PFEIFFER, D.U.; PRICE, J.S. (2003) Gender differences in bone turnover in 2-year-old thoroughbreds. *Equine Vet J.* 35 (7):702-706.

JACKSON, B.; EASTELL, R.; LANYON, L. E.; RUSSEL, R.G.G.; PRICE, J.S. (1996) The measurement of bone specific alkaline phosphatase in the horse: A comparison of two techniques. *Research in Veterinary Science*. 61:160-164.

JEFFCOTT, L. B. Osteochondrosis in the horse – searching for the key to pathogenesis. *Equine Veterinary Journal*. v. 23, n. 5, 1992, p. 331-338.

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

JONES, W.E. **Genética e criação de cavalos**. Ed.São Paulo: Roca, 1987. 666p.

JONES, W. E. **Equine Sports Medicine**, Philadelphia: Lea & Febeger, 1989.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Tecido ósseo. In: *Histologia Básica*. ed. Junqueira, L.C. & Carneiro, J.; 2005. Cap 8. p. 109-126. ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro.

KAARI, P. A exploração de eqüídeos por carroceiros no Distrito Federal: direito, diagnóstico e educação ambiental. 2006. 109 f. Trabalho de conclusão de curso (Especialização) – Centro de Desenvolvimento Sustentável e Direito Ambiental, Universidade de Brasília, Brasília, 2006.

KANECO, J.J.; *Clinical biochemistry of domestic animals*. 4 ed. San Diego: Academic Press, 1989. 932 p.

KANNUS, P.; JOZSA, L.; RENSTRÖM, P.; JÄRVINEN, M.; KVIST, M.; LEHTO, M.; OJA, P.; VUORI, I. The effect of training, immobilization and remobilization on musculoskeletal tissue. 1. Training and immobilization. **Scandinavian Journal Medicine Science Sports**.v.2 :100-118, 1992.

KERBER, C.E. Métodos para avaliação da mineralização de equinos em crescimento. *Redevet-Portal Veterinário*, São Paulo, 2001. Capturado em 27 maio. 2007. online. Disponível na Internet: <http://www.redevet.com.br/artigos/metodos.htm>.

KROOK, L. *Metabolic diseases of bone and bones*. New York: State College of Veterinary Medicine, 1982. 54 p. (Special Pathology Lectures, 632).

KUSHIDA, K.; TAKAHASHI, M.; KAWANA, K.; INOUE, T. Comparison of markers for bone formation and resorption in pre-menopausal and postmenopausal subjects and osteoporotic patients. **Journal Clinical Endocrinol Metabolism**. v.80 :2447-2450, 1995.

LEPAGE, O.M, MARCOUX, M. TREMBLAY, A. Serum osteocalcin or boneglaprotein, a biochemical marker for bone metabolism in horses:differences in serum levels with age. *Can J Vet Res* 1990;54:223-6

LEPAGE, O.M. MARCOUX, M. TREMBLAY, A. DUMAS, G. Sex does not influence serum osteocalcin levels in standardbred horses of different ages. *Can J Vet Res* 1992;56:379-381.

LEPAGE, O.M.; EICHER, R.; UBELHART, B.; TSCHUDI, P. Influence of type and breed of horses on serum osteocalcin concentration and evaluation of the applicability of a bovine RIA and human IRMA to measure the hormone. *Am J Vet Res.* 58:574-578. 1997.

LEPAGE, O.M.; HARTMANN, D.J.; EICHER, R.; UBELHART, B.; TSCHUDI, P.; UBELHART, D. Biochemical markers of bone metabolism in draught and warmblood horses. *Veterinary Journal.* 156:169-175.1998.

LEPAGE, O.M., Carstanjen, B., Uebelhart, D. Non-invasive assessment of equine bone: an update. ***Veterinary Journal.*** v. 161, 10– 23, 2001.

LEWIS, L.D. Papel da nutrição no desenvolvimento e nas doenças musculoesqueléticas. In: In: STASHAK, T.S. (ed). *Claudicação em eqüinos segundo Adams.* 4 ed. São Paulo: Roca, 1994. 943 p.

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

LINS, L. A., VELHO, J., RIBAS, L. D. M., FREY, Jr. F., NOGUEIRA, C. E. W. Osteocondrose Dissecante em Potros da Raça Crioula. 2005. Disponível em internet, [www.ufpel.edu.br/cic/2005/arquivos/CA\\_00661.rtf](http://www.ufpel.edu.br/cic/2005/arquivos/CA_00661.rtf)- acesso 12 de junho de 2009.

LOPES, J. B., FURTADO, C. E., VITTI, D. M. S. S., ABDALLA, A. L., HADDAD, M. L. R. **Metabolismo do Fósforo em Eqüinos. Avaliação Dietética de Diferentes Fontes de Fósforo.** *Bras. Zootec.,* v.32, n.6, p.1339-1347, 2003

LUIZ, R. C., DE LA CORTE, F. D., BRASS, K. E. Fechamento das placas epifisárias do metacarpiano principal, do rádio e da tíbia em potros Crioulos. *Ciência Rural,* Santa Maria, v. 37, n. 4, p.1052-1055, jul - ago, 2007.

LUMSDEN, J.H.; ROWE, R.; MULLEN, K. Hematology and biochemistry reference values for the light horse. ***Canadian Journal Comparative Medicine,*** Ottawa, v.44,n.1, p. 32-42, jan.1980.

McCARTY, R.N.; JEFFCOTT, L.B. Effects of exercise on cortical bone in the third metacarpus of young horses. *Rev. Veterinary Science.* 52, 28-37.1992.

MÄENPÄÄ, P. H. et al. Biochemical indicators of bone formation in foals after transfer from pasture to stables for the winter months. *Am J Vet Res.* v. 49, n. 11, 1988, p.1990-1992.

MALLUCHE, H.H., FAUGERE, M.C., FANTI, P. & PRICE, P.A. Plasma levels of bone Gla-protein reflect bone formation in patients on chronic maintenance dialyses. **Kidney international**, v.26, p. 869-74, 1984.

MAMPRIM, M. J. et al. Estudo radiográfico do fechamento da epífise distal do rádio em potras da raça Manga-larga. *Veterinária e Zootecnia*. n. 4, 1992, p. 59-62. \_\_\_\_\_. Radiographic study of distal radial physeal closure in thoroughbred horses. *Veterinary Radiology & Ultrasound*. v. 38, n. 5. 1997, p. 352-354.

MARANHÃO R.P.A., PALHARES, M.S., MELO, U.P.; REZENDE, H.H.C.; BRAGA, C.E., SILVA FILHO, J.M., , VASCONCELOS, M.N.F. Afecções mais freqüentes do aparelho locomotor dos eqüídeos de tração no município de Belo Horizonte. [Most frequent pathologies of the locomotor system in equids used for wagon traction in Belo Horizonte] **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**. v.58, n.1, p.21-27, 2006.

MAROUDAS, A. Metabolism of cartilaginous tissues: A quantitative approach. In: *Studies in Joint Disease*. vol 1. ed: Maroudas, A.; Holborrow, E.J. Tunbridge Wells, England. Pitman Medical. 1980.

MARTINS, A. S., ROCHA, D. F., MELLO, F. A., SANTOS, M. V. C., MEDEIROS, V. A., Fosfatase Alcalina óssea. [www.fisioweb.com.br](http://www.fisioweb.com.br)  
[www.wgate.com.br/.../fosfatase.../fosfatase\\_2006\\_universo.htm](http://www.wgate.com.br/.../fosfatase.../fosfatase_2006_universo.htm), acesso em 27 de junho 2009.

MASON, T. A.; BOURKE, J. M. Closure of the distal radial epiphysis and its relationship to insoundness in two years old thoroughbreds. *Australian Vet. J.*, Victoria, v. 49, p. 221-228, 1973.

MATALOUN, M. M. G. B., LEONE, C. R. **Mineral metabolism characterization in the perinatal period.** Peculiaridades do metabolismo de cálcio e fósforo no período perinatal: HCFM USP - Rev Pediatr, 1998 - [pediatriasaopaulo.usp.br](http://pediatriasaopaulo.usp.br), **disponível em internet**, [www.pediatriasaopaulo.usp.br/index.php?p=browse&id=40](http://www.pediatriasaopaulo.usp.br/index.php?p=browse&id=40) acesso em 12 de junho de 2009, 00:28 h.

MENEZES, A. M. S.; PRADAL, M. G.; BARBÉRIO, J. C. ; DI DIO, R. Osteocalcina, *Ver. Ass. Méd. Brasil* 1994; 40(3): 225-7.

MESSER, N.T. The use of laboratory tests in equine practice. **Veterinary Clinics North America:** equine practice, Philadelphia, v.11, n.3, p.345-350, dec.1995.

MIRANDA, R.M. Genética e melhoramento dos eqüinos. *Eqüinos*, n.85, p.11-33, 1988.

MYERS JR, V.S.; EMMERSON, M.A. The age and manner of epiphyseal closure in the forelegs of two Arabian foals. **American Veterinary Radiology Society**, v.7, p.39-47, 1966.

MONSONEGO, E. et al. Growth hormone inhibits differentiation of avian epiphyseal growth-plate chondrocytes. *Molecular and Cellular Endocrinology*. v. 114, 1995, p. 35-42.

MUNDIN, A.V., TEIXEIRA, A. A., GALO, J. A., CARVALHO, F. S. R. Perfil Bioquímico e Osmolariedade Sanguínea de Equinos utilizados para trabalho em centros urbanos. *Biosci. J. Uberlândia*, v.20, nº 1, p. 135-142, jan/apr. 2004.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (NIH): Consensus development panel on optimal calcium intake. *Journal American Medicine Association*. v. 272 :1942-1948, 1994.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL SUBCOMMITTEE ON HORSE NUTRITION Nutrients requirements of horses. 5. ed. Washington: National Academic Press, 1989. 100 p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7.ed. Washington, D.C.: 1996. 242p.

NAVIAUX, J. L. Cavalos na Saúde e na Doença, São Paulo: Roca, 1988, 2. ed. P. 32.

NETTER, F.H.: The Ciba collection of medical illustrations. **Musculoskeletal System, New Jersey, Vol. 8** – Ciba-Geigy Corporation, 1987.

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

NIEHOFF, A. et al. Adaptation of mechanical morphological, and biochemical properties of the rat growth plate to dose-dependent voluntary exercise. **BONE**. v. 35, 2004, p. 899-908.

NISHIMOTO, S.K. & PRICE, P.A. Secretion of vitamin K- dependent protein of bone by rat osteosarcoma cells. Evidence for an intracellular precursor. **Journal of Biological Chemistry**, v.255, p.6579-83,1980.

OLHAGARAY, N. R. *Semiologia Clinica de Las Cojeras y su Diagnostico Diferencial*, 1984, p.62.

OLIVEIRA, S.R. **Desempenho e características da carcaça denovilhos Nelore não castrados**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1998. 58p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1998.

OLIVEIRA, L. M., MARQUES, R. L., NUNES, C. H., CUNHA, A. M. O. Carroceiros e equideos de tração: um problema sócio-ambiental. *Caminhos de Geografia, Uberlândia*, v. 8, nº 24, dez 2007, p. 204-216.

OLSEN, W.A & LLOYD, M.L: **Bockus Gastroenterology**, 5ed, Saunders, 1994, Vol. 2, p. 955-963.

PASCHOALINI, M. A. Fisiologia Humana. Centro de Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Santa Catarina. CFS/CCB/UFSC. 3º fase da Medicina, 2005.

PEAD, M.J.; SKERRY, T.M.; LANYON, L.E. Direct transformation from quiescence to bone formation in the adult periosteum following a single brief period of loading. *J Bone Miner Res* 3:647-656. 1988.

PEREIRA, Marcelo de Campos. **O CAVALO: ORIGEM E EVOLUÇÃO**: banco de dados disponível em: [http://www. Cavalo.com.Br/conteúdo.asp?id=60&área=3](http://www.Cavalo.com.Br/conteúdo.asp?id=60&área=3), 2005. Acesso em: Março 2006.

PEZZOLI, G.; DEL BUE, M. Valuazione radiografica della maturità ossea nel cavallo Trotatore al fini del l'allenamento. **Atti de la Societa Italiana della Scienze Veterinarie**, v.27, p.360-364, 1973.

PRICE, J.S. Biochemical markers of bone metabolism in horses: potentials and limitations. *The Veterinary Journal*. 156:163-165, 1998.

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

PRICE, J.S., JACKSON, B.;EASTELL, R.;GOODSHIP, A.E.; BLUMSOHN, A.; WRIGHT, I.; STONEHAN, S.; LANYON, L.E.; RUSSELL; R.G.G. Age related changes in biochemical markers of bone metabolism in horses.1995<sup>b</sup> . *Eq Vet J*. 27:201.

PRICE, J.S.; JACKSON, B.;EASTELL, R.; WILSON, A.M.; RUSSEL, R.G.G.; LANYON, L.E.; GOODSHIP, A.E. The response of the skeleton to physical training: A biochemical study in horses. *Bone*. 1995<sup>a</sup>. 17(3):221-227.

PRICE, J. S., JACKSON, B., GRAY, J. A., HARRIS, P. A., WRIGHT, I., PFEIFER, D. U., ROBINS, S. P., EASTELL, R., RICKETTS, S.W. Biochemical markers of boné metabolism in growing thoughbreds: a longitudinnal study. **Research Veterinary Science**, v. 71, p.37-44, 2001.

RAMOS, L. C. V. O., FERREIRA, W. M., GONÇALVES, L. C., GAZZINELLI, F. J. Hidroxiprolina e Fosfatase Alcalina como parâmetros fisiológicos indicadores do status metabólico do cálcio e fósforo em eqüinos. **Rev. Acad., Curitiba**, v. 5, n. 4, p. 359-368, out./dez. 2007.

RAUCH, F.; SCHONAU, E.; WOITGE, H. Urinary excretion of hydroxy-piridinium cross-links of collagen reflects skeletal growth velocity in normal children. **Experimetal Clininical Endocrinology**; v.102 :94-7, 1994.

RAIZ. L. G. Physiology and pathophysiology of bone remodeling. *Clinical Chemistry*, v.45, n.8, p.1353-1358, 1999.

REECE, W. O. **Fisiologia de Animais Domésticos**. 1. ed. São Paulo: ROCA, 1996. 351p.

REICH, A., et al. Weight loading young chicks inhibit bone elongation and promote growth plate ossification and vascularization. *J Appl Physiol*. v. 98, 2005, p. 2381-2389.

REICHMANN, P. Projeto Carroceiro V – assistência médico veterinária aos carroceiros e seus animais de tração da região de Londrina – PR. *Revista Eletrônica Estação – Pró-reitoria de Extensão da Universidade Estadual de Londrina, Londrina, n. 2, set. 2003*. Disponível <http://www.proex.uel.br/>. Acesso em: jan. 2009.

RELLER, E., KIVIPELTO, J., OTT, E. A. Age-related Changes for Serum Bone Metabolism Markers in Thoroughbred and Quarter Horse Foals. **Journal of Equine Veterinary Science**, March 2003, Volume 23, Number 3. P. 117-120.

REMES, T., VÄISÄNEN, S. B., MAHONEN, A., HUUSKONEN, J., KRÖGER, H., JURVELIN, J. S., PENTILÄ, I. M., RAURAMAA, R. The association of bone metabolism with bone mineral density, serum sex hormone concentrations, and regular exercise in middle-aged men. **Bone**, v.34, p.439-447, 2004.

REZENDE, H.H.C. PALHARES, M.S.; AGUIAR, E.G.; SILVA, R.H.A.; PEREIRA, M.S.N. Impacto ambiental, perfil sócio-econômico e migração dos carroceiros em Belo Horizonte do setor formal para o informal no período de 1998 a 2003..Dissertação (Mestrado em Medicina e Cirurgia) -**Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais**, Belo Horizonte. 61f, 2004.

REZENDE. A.S.C. **A importância da ingestão de sal mineral na nutrição de eqüinos**. Abcpampa, 2004. Disponível em:<<http://pc2.powerline.com.br/jalencar/alehnut.htm>>. Acesso em: 18 abril. 2007.

ROSAL, T.J; CAPEN, C.C. Biochemical markers of bone metabolism. In: *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. Cap. 23. p. 672-674. Ed. Kaneko, J.J.; Harvey, J.W. and Bruss, M.L., Academic Press, 1997.

RUBIN, C.T.; LANYON, L.E. Regulation of bone formation by applied dynamic loads. 1984 *J Bone Joint Surg* 66A:308-314.

RUOHONEMI, M.; LAUKKANEN, H.; OJALA, M. Effects of sex and age on the ossification of the collateral cartilages of the distal phalanx of the Finnhorse and relationships between ossification and bodysize and type of horse. **Revista Veterinary Science.**, v 62, p 34-38, 1997.

SARAIVA, G. L., LAZARETTI-CASTRO, M. **Marcadores Bioquímicos da Remodelação Óssea na Prática Clínica**. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia. vol.46 nº.1 São Paulo Fevereiro 2002.

SCHALM, O.W.;JAIN, N. C.; CARROL, E.J. **Veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger,1975. 807 p.

SCUDELLER, P. S. O. Estudo das correlações entre lesões ósseas podais diagnosticadas pela radiografia com o peso vivo, circunferência torácica, densidade mineral óssea (determinada por densitometria óptica radiográfica) concentrações séricas de Ca, P, Mg, Mn, Zn, fosfatase alcalina, proteínas totais, globulina, CK, GGT, Alb, AST, osteocalcina, pH do rúmen e hemograma, em bovinos fêmeas da raça Nelore, sem sintomas clínicos de doença podal. 2004. Tese de Doutorado em Medicina Veterinária, área de Cirurgia Veterinária, Faculdade de Medicina e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Campus de Botucatu.

SEIBEL, M.J. Molecular markers of bone turnover: biochemical, technical and analytical aspects. **Osteoporosis Internacional**, v.11, p.18-29, 2000.

SHAHIN, K. A., BERG, R. T., PRICE, M. A. The effect of breedtype and castration on tissue growth patterns and carcass composition in cattle. **Livestock Production Science**, v. 35, n. 3, 4, p. 251 – 264, 1993.

SILVEIRA, J. M. Patologia clínica veterinária. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988a. 196 p.\_\_\_\_\_. Interpretação de exames laboratoriais em veterinária. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988b, 214 p.

SILVA FILHO, J. M.et al, Manejo alimentados animais de tração da regional Pampulha,Belo Horizonte, Belo Horizonte, MG. In: 7º Encontro de Extensão da Universidade Federal de Minas Gerais, 2004, Belo Horizonte, MG, Anais ... Belo Horizonte, Pró Reitoria de Extensão, v. 1, 148 p., p. 34 -37.

SKERRY, T.M.; BITENSKY, L.; CHAYEN, I.; LANYON, L.E. Early strainrelated changes in enzyme activity in osteocytes following bone loading in vivo. 1989. *J Bone Miner Res.*4:793-788.

SMITH, B.P. Clinical Chemistry: Normal range for large Animals, Box. In: **Large Animal Internal Medicine**, 3th Ed., Mosby Inc., st. Louis, Missouri, 2002, p. 1735.

SOWERS, M.; EYRE, D.; HOLLIS, B.W. Biochemical markers of bone turnover in lactating and nonlactating postpartum women. **Journal Clinical Endocrinology Metabolism**. v.80 :2210-2216, 1995.

STASHAK, T. S. Claudicação em Equinos segundo Adams. 5ª edição, São Paulo: Roca, p. 32-33, 345, 2006.

STEIN, G.S., LIAN, J.B., OWEN, T.A. Relationship of cell growth to the regulation of tissue-specific gene expression during osteoblast differentiation. *FASEB J* 1990;4:3111-23.

TIMM, C.D. Deficiência de fósforo. In: Doenças de ruminantes e equinos. 2. ed. São Paulo: Varela, 2001. v. 2, cap. 4, p. 321-328.

THOMASSIAM, A. Enfermidades dos Cavalos. 4ª Ed. São Paulo: Varela, 2005, 573 p.



VAN HEERDEN, J.; DAUTH, J.; DREYER, M.J. NICHAS, E.; MARSHALL, C.; WALL, D.T. Selected laboratory parameters of thoroughbreds. *Journal of the South African Veterinary Association*, Pretoria, v.61, n. 4, p. 155-158, dec. 1990.

VAN WEEREN, P.R.; Osteochondrosis. In: *Equine Surgery*. 2005 pp. 1166-1178. 3 edition, ed. Auer, J.A. and Stick, J.A., W.B. Saunders.

VERVUET, I.; COENEN, M.; WEDMEYER, U.; HARMEYER, J. (2002) Biochemical markers of bone activity in young standardbred horses during different types of exercise and training. 2002. *J Vet Med A*. 49:396-402.

VERZIIL, N.; DEGROOT, J.; THORPE, S.R. Effect of collagen turnover on the accumulation of advanced glycation end products. 2000. *J Biol Chem*. 275:39027.

VIEIRA, J. G. H. Considerações Sobre os Marcadores Bioquímicos do Metabolismo Ósseo e Sua Utilidade Prática: Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia, vol. 43, n.6, São Paulo, Dez 1999.

VIEIRA, J. G. H., Diagnóstico laboratorial e monitoramento das doenças osteometabólicas. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. vol.43, nº 2, Rio de Janeiro – RJ, Abril 2007.

VULCANO, L.C. et al. Determinación de los valores normales de la densidad mineral ósea del carpo accesorio de equinos de la raza Puro Sangre Ingles (PSI) por medio de la densitometría óptica en imagen radiográfica. **Imagen Veterinaria**, v.3, n.6 p. 237- 240, 2000.

YOUNG, D.R.; RICHARDSON, D.W.; MARKEL, M.D.; NUNAMAKER, D.M. 1989 Mechanical and morphometric analysis of the third carpal bone of thoroughbreds. *Am J Vet Res*. 52:402-409.

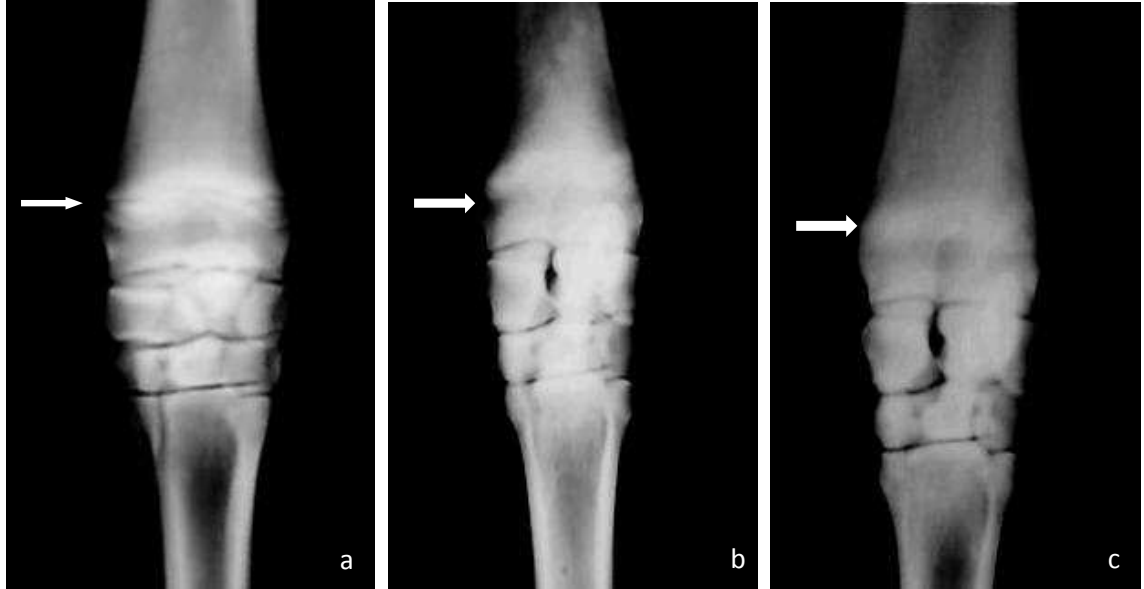
WASSERMAN, R.H. Bones. In: *Dukes Physiology of Domestic Animals*. Cap.32. pp. 467 - 485. 10 edition.1989.

WISHART, J. M.; NEED, A. G.; HOROWITZ, M. Effect of age on bone density and bone turnover in men. **Clinical Endocrinology (Oxford)**. v.42 :141-146, 1995.

WOLTER, R. **Alimentacion del caballo**. 2.ed. Zaragoza: Acríbia, 1977. 172p.

ZANELA, A. J. Intervenção para melhorar o bem-estar dos cavalos de tração na grande porto Alegre. *Revista A Hora Veterinária*. 2003. P. 23.

## ANEXOS



**FIGURA 10-** Imagens radiográficas da epífise distal do rádio de um asinino do grupo ANT aos 7 meses (a) em grau “C”, aos 16 meses (b) em grau “B” e aos 24 meses de idade (c) em grau “A”.

**Tabela 06-** Evolução do grau de fechamento epifisário dos asininos do grupo ANT, correlacionado com idade em meses.

<b>Nº do animal</b>	<b>Sexo</b>	<b>Idade inicial</b>	<b>Grau C ⇨ B</b>	<b>Período (meses)</b>	<b>Grau B ⇨ A</b>	<b>Período (meses)</b>
1	M	08	22	14	26	4
2	F	07	23	16	27	4
3	F	08	14	06	24	10
4	F	07	21	14	28	7
5	M	07	21	14	25	4
6	M	07	21	14	23	2
7	F	11	15	04	25	10
8	M	07	21	14	27	6
9	F	07	13	06	27	14
10	F	07	11	04	23	22
11	F	08	21	13	26	5
12	F	09	19	10	24	5
13	F	08	18	10	23	5
14	F	14	18	04	24	6
15	F	07	23	16	28	5
16	F	08	22	14	24	2
17	F	10	22	12	25	3
18	M	07	23	16	27	4
19	F	09	21	12	25	4
20	M	10	14	04	27	13

**Tabela 07-** Evolução do grau de fechamento epifisário dos asininos do grupo AT, correlacionado com a idade em meses.

<b>Nº do animal</b>	<b>Sexo</b>	<b>Idade Inicial</b>	<b>Grau C ⇨ B</b>	<b>Período (meses)</b>	<b>Grau B ⇨ A</b>	<b>Período (meses)</b>
21	M	15	19	04	21	2
22	F	09	11	02	17	6
23	F	11	15	04	18	3
24	M	12	14	02	17	3
25	M	17	18	01	19	1
26	F	14	18	04	20	2
27	F	09	15	06	18	3
28	F	12	14	02	17	3
29	F	08	14	06	17	3
30	F	10	16	06	19	3
31	M	11	17	06	19	2
32	M	11	17	06	19	2
33	F	09	13	04	17	4
34	M	09	15	06	19	4
35	M	13	17	04	20	3
36	M	08	16	08	18	2
37	M	08	14	06	18	4
38	M	08	16	08	20	4
39	F	07	15	08	17	2
40	F	09	15	06	17	2

**Tabela 08-** Crescimento ósseo dos animais do grupo ANT observado em um período de vinte e um meses.

Animal		Altura (cm)		Crescimento Ósseo (cm)	Período de Observação	Taxa de Crescimento cm/mês
Idade	Sexo	Inicial (cm)	Final (cm)			
1	M	92	117	25	18 meses	1,39
2	F	61	100	39	20 meses	1,95
3	F	90	115	25	16 meses	1,56
4	F	61	97	36	21 meses	1,71
5	M	55	113	58	18 meses	3,22
6	M	55	80	25	16 meses	1,56
7	F	80	90	10	14 meses	0,71
8	M	88	117	29	20 meses	1,45
9	F	80	102	22	20 meses	1,10
10	F	91	104	13	16 meses	0,81
11	F	75	106	31	18 meses	1,72
12	F	75	100	25	15 meses	1,67
13	F	78	91	13	15 meses	0,87
14	F	105	114	9	10 meses	0,90
15	F	66	118	53	21 meses	2,52
16	F	57	81	24	16 meses	1,50
17	F	65	91	26	15 meses	1,73
18	M	51	99	48	18 meses	2,67
19	F	71	104	33	16 meses	2,06
20	M	82	102	20	16 meses	1,25

**Tabela 09** - Crescimento ósseo dos animais do grupo AT observado em um período de até doze meses.

Animal		Altura (cm)		Crescimento Ósseo (cm)	Período de Observação	Taxa de Crescimento cm/mês
Idade	Sexo	Inicial (cm)	Final (cm)			
21	M	98	110	12	6 meses	2,00
22	F	97	100	3	8 meses	0,38
23	F	100	111	11	7 meses	1,57
24	M	100	105	5	5 meses	1,00
25	M	65	71	6	2 meses	3,00
26	F	91	100	9	6 meses	1,50
27	F	100	105	5	9 meses	0,56
28	F	98	101	3	5 meses	0,60
29	F	78	85	7	9 meses	0,78
30	F	110	120	10	9 meses	1,11
31	M	91	102	11	8 meses	1,38
32	M	100	106	6	8 meses	0,75
33	F	80	103	23	8 meses	2,88
34	M	81	100	19	10 meses	1,90
35	M	68	78	10	7 meses	1,43
36	M	76	105	29	10 meses	2,90
37	M	83	102	19	10 meses	1,90
38	M	78	94	16	12 meses	1,33
39	F	65	100	35	10 meses	3,50
40	F	91	100	9	8 meses	1,13

**Tabela 10-** Ganho de peso (kg) dos animais do grupo ANT em período de observação de até vinte e um meses

Animal		Peso (kg)		Ganho de peso (kg)	Período de Observação	Taxa do Peso kg/mês
Idade	Sexo	Inicial	Final			
1	M	98	106	8	18 meses	0,44
2	F	52	86	34	20 meses	1,70
3	F	85	118	35	16 meses	2,19
4	F	82	105	23	21 meses	1,10
5	M	66	107	41	18 meses	2,28
6	M	82	94	12	16 meses	0,75
7	F	98	103	5	14 meses	0,36
8	M	98	113	15	20 meses	0,75
9	F	94	101	7	20 meses	0,35
10	F	98	108	10	16 meses	0,63
11	F	100	123	23	18 meses	1,28
12	F	100	104	4	15 meses	0,27
13	F	93	104	11	15 meses	0,73
14	F	103	116	13	10 meses	1,30
15	F	81	111	30	21 meses	1,43
16	F	82	96	14	16 meses	0,88
17	F	88	103	15	15 meses	1,00
18	M	74	94	20	18 meses	1,00
19	F	89	105	16	16 meses	1,00
20	M	91	107	16	16 meses	1,00

**Tabela 11-** Ganho de peso (kg) dos animais do grupo AT em período de observação de até doze meses

Animal		Peso (kg)		Ganho de peso (kg)	Período de Observação	Taxa do Peso kg/mês
Idade	Sexo	Inicial	Final			
21	M	102	104	2	6 meses	0,33
22	F	102	110	8	8 meses	1,00
23	F	110	122	12	7 meses	1,71
24	M	110	115	5	5 meses	1,00
25	M	95	98	3	2 meses	1,50
26	F	108	115	7	6 meses	1,17
27	F	100	104	4	9 meses	0,44
28	F	108	111	3	5 meses	0,60
29	F	99	100	1	9 meses	0,11
30	F	111	124	13	9 meses	1,44
31	M	102	102	0	8 meses	-
32	M	98	100	2	8 meses	0,25
33	F	94	105	11	8 meses	1,38
34	M	96	105	9	10 meses	0,90
35	M	96	100	4	7 meses	0,57
36	M	94	104	10	10 meses	1,00
37	M	94	105	11	10 meses	1,10
38	M	96	100	4	12 meses	0,33
39	F	70	91	21	10 meses	2,10
40	F	81	91	10	8 meses	1,25



**Tabela 12** – Valores médios dos níveis séricos de fosfatase alcalina (Alkp), cálcio (Ca) e fósforo (P) de asininos do grupo ANT.

<b>Nº do animal</b>	<b>Fosfatase Alcalina (U/L)</b>	<b>Cálcio (mg/dL)</b>	<b>Fósforo (mg/dL)</b>
1	213,36	7,43	4,91
2	172,15	7,60	5,96
3	168,56	6,07	4,67
4	119,92	8,28	4,32
5	115,91	9,18	5,89
6	198,49	7,16	3,38
7	120,57	7,85	4,15
8	160,63	8,13	4,25
9	105,40	8,28	4,72
10	196,12	7,21	4,39
11	223,30	7,05	6,51
12	164,57	8,80	4,54
13	110,70	8,98	5,30
14	132,26	7,20	4,17
15	163,15	8,00	5,40
16	129,33	8,88	4,14
17	158,72	7,53	5,58
18	118,82	7,29	4,90
19	147,75	7,30	4,22
20	186,18	7,63	5,40

**Tabela 13-** Valores médios dos níveis séricos de fosfatase alcalina (Alkp), cálcio (Ca) e fósforo (P) de asininos do grupo AT.

<b>Nº do animal</b>	<b>Fosfatase Alcalina (U/L)</b>	<b>Cálcio (mg/dL)</b>	<b>Fósforo (mg/dL)</b>
21	191,35	6,77	4,40
22	226,34	7,22	4,12
23	212,88	6,76	5,18
24	174,07	7,80	3,90
25	131,97	5,73	4,90
26	187,70	6,45	5,12
27	229,90	7,70	7,30
28	270,63	7,45	5,97
29	169,93	7,36	4,21
30	206,18	7,16	4,86
31	150,42	8,11	5,00
32	222,28	7,12	5,80
33	109,56	8,00	4,70
34	187,58	8,02	3,98
35	185,42	8,16	3,90
36	212,16	8,27	4,72
37	166,23	7,01	3,62
38	247,61	7,60	5,56
39	121,10	8,70	3,81
40	202,18	6,82	5,80

**Tabela 14** – Valores médios e desvio padrão dos níveis de osteocalcina (Oc) em asininos do grupo ANT e AT.

<b>GRUPO</b>	<b>Animal Nº</b>	<b>(X ± S) ng/mL</b>
<b>ANT</b>	04	14.55 ± 15.66
	09	5.30 ± 8.17
	10	8.41 ± 7.39
	11	0.88 ± 2.49
	12	7.32 ± 8.21
<b>AT</b>	29	8.83 ± 8.40
	30	5.75 ± 7.79
	31	11.05 ± 11.65
	36	7.31 ± 11.75
	38	11.43 ± 13.10