
HIDROXIPROLINA E FOSFATASE ALCALINA COMO PARÂMETROS FISIOLÓGICOS INDICADORES DO *STATUS* METABÓLICO DO CÁLCIO E DO FÓSFORO EM EQUINOS

*Hydroxyproline and Alkaline Fosfatase as Physiological Parameter
Indicative of the Metabolic Status of Ca and P in Horses*

Luiz Carlos Vargas de Oliveira Ramos
Médico Veterinário, M. Sc., Prof. da UNIPAC, Belo Horizonte - MG. e-mail: lucav@terra.com.br

Walter Motta Ferreira
Zootecnista, Dr., Prof. da UFMG, Belo Horizonte - MG. e-mail: waltermf@vet.ufmg.br

Lucio Carlos Gonçalves
Agrônomo, Dr., Prof. da UFMG, Belo Horizonte - MG. e-mail: luciocg@vet.ufmg.br

Felipe José Gazzinelli
Graduando de Medicina Veterinária, Belo Horizonte - MG. e-mail: fgazzinelli@yahoo.com.br

Resumo

Estudaram-se dois haras de cavalos Mangalarga Marchador com o objetivo de observar parâmetros fisiológicos avaliadores do metabolismo do cálcio e fósforo (Ca e P). Na primeira propriedade, estudaram-se 33 animais num sistema de criação intensivo e, na segunda, 31 animais num sistema extensivo. Em ambas as propriedades, os animais foram agrupados em quatro faixas etárias, com quatro, 14, 24 e 48 meses. Os valores médios encontrados no primeiro haras para o Ca sérico foram respectivamente 12,78; 13,65; 14,09 e 13,30 mg/dl. Para o P, foram 3,88; 3,68; 3,67 e 3,27 mg/dl. Fosfatase alcalina: 185,95; 161,96; 130,18 e 134,64 UI/l. Para hidroxiprolina 68,50; 41,07; 30,03 e 21,31 mmol/l para os grupos de quatro, 14, 24 e 48 meses respectivamente. No segundo haras, os valores médios do Ca foram 13,45; 12,29; 13,71 e 13,53 mg/dl. Para P: 4,46; 3,87; 3,97 e 3,03 mg/dl. Para fosfatase alcalina: 176,55; 149,57; 189,91 e 153,23 UI/l. E para hidroxiprolina: 61,78; 34,45; 31,79 e 20,08 mmol/l. Observou-se que a hidroxiprolina, fosfatase alcalina, Ca e P não apresentaram diferenças estatisticamente significantes entre os dois haras. Encontrou-se uma equação confiável, permitindo estimar valores de hidroxiprolina por meio dos resultados das dosagens da fosfatase alcalina, além de estabelecer parâmetros séricos para hidroxiprolina na raça Mangalarga Marchador.

Palavras-chave: Cálcio; Fósforo; Hidroxiprolina; Fosfatase alcalina; Equino.

Abstract

Two horse-breeding farms of Mangalarga Marchador's were studied with the purpose of the observation of some physiological parameters values of the metabolism of calcium and phosphorous (Ca and P). The first horse-breeding farm had an intensive system of breeding and the other an extensive one. The animals were grouped in four age groups, with four, 14, 24, 48 months aged. The average values founded on the first farm for serum Ca were 12.78, 13.65, 14.09 and 13.30 mg/dl; for P 3.88, 3.68, 3.67 and 3.27mg/dl; for alkaline Phosphates 185.95, 161.96, 130.18 and 134.64 UI/l and for hidroxyproline 68.50, 41.07, 30.03 and 21.31mmol/l for the groups of 4, 14, 24 and 48 months respectively. At the second farm the average values of Ca were 13.45, 12.29, 13.71 and 13.53mg/dl; for P: 4.46, 3.87, 3.97 and 3.03mg/dl; for Alkaline phosphates: 176.55, 149.57, 189.91 and 153.23UI/l and for hidroxyproline: 61.78, 34.45, 31.79 and 20.08mmol/l. It was observed that hidroxyproline, alcaline fosfatase, Ca and P did not differ at significant probability levels between both farms. It was founded too a reliable equation which allows to estimate the values of hidroxyproline through the results of the dosages of fosfatase alcaline, beyond that it was possible to settle serum parameters for hidroxyproline on the Mangalarga Marchador's race.

Keywords: Calcium; Phosphorous; Hidroxyproline; Alcaline Fosfatase; Equine.

INTRODUÇÃO

O mecanismo de autocontrole da ingestão de minerais em cavalos não é muito eficiente (HINTZ, 1987). Dessa forma, acredita-se haver alguma diferença basicamente com relação à ingestão e ao metabolismo do cálcio (Ca) e do fósforo (P) entre os animais criados em um regime extensivo e os animais 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. Na criação intensiva, os animais são induzidos à ingestão forçada de minerais, uma vez que estão sendo alimentados com concentrados, que encerram níveis determinados, além de terem também, à sua disposição, os minerais presentes nos alimentos verdes e a suplementação da mistura mineral oferecida livremente para a ingestão voluntária.

Sabe-se que o Ca é mantido em equilíbrio com o P no sangue por meio da ação do paratormônio, que atua fundamentalmente nos ossos, rins e nos intestinos, em uma ação conjunta com a vitamina D (HORST, 1986; SILVEIRA, 1988a). 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. Esse hormônio também é responsável por um estímulo na formação do 1,25 dihidroxicalciferol, que tem atuação direta, aumentando a eficiência na absorção do Ca (KROOK, 1982; HORST, 1986; SILVEIRA, 1988a).

Em Silveira (1988a) e em relatos de Hintz (1993), tem-se também a informação de que a eficiência na absorção do Ca dietético é dependente da sua necessidade ou da sua exigência pelo animal. Na medida em que aumenta sua exigência, aumenta também a eficiência na sua absorção. Krook (1982) acreditava que desequilíbrios do Ca e do P na dieta podiam resultar em alterações dos níveis séricos desses minerais e que a persistência dessa condição poderia induzir a graves problemas metabólicos. Em trabalhos realizados com bovinos, Horst (1986) afirmava que o Ca sofria menor influência da dieta, quando comparado com trabalhos realizados por Hintz, Schryver e Lowe (1986), que afirmaram que as dietas ricas em Ca podiam concorrer para o aparecimento de osteocondrose

em potros, além de predispor-los a fraturas. De acordo com as suas observações, as elevadas taxas de Ca na dieta de éguas prenhes podem induzir a um aumento da calcitonina, que via placenta agirá diretamente nos potros, inibindo a conversão de cartilagem para osso. Nesse caso, pode-se ter até mesmo uma recomendação limite para um consumo diário de 34 g de Ca por animal. No entanto, Hintz, Schryver e Lowe (1986) não parecem concordar com essas considerações. Para eles, o problema seria maior quando o Ca encontra-se em índices inferiores aos das exigências nutricionais. Sabe-se que a insuficiente ingestão de Ca é que poderia conduzir a problemas de osteocondrose. Esses autores observaram que os menores índices de problemas ósseos estavam relacionados com as propriedades e com os maiores níveis de Ca e, também, de P em suas dietas. Afirmaram ainda que, para os potros, dietas com até 0,8% de Ca e até 0,6% de P eram adequadas para os cavalos em crescimento. O *National Research Council Subcommittee On Horse Nutrition* (1989) considerou que os mecanismos de homeostasia cálcica mantêm o Ca em uma estreita faixa no soro (10,5 a 13,2 mg/dl). Em trabalhos realizados em cães, valores de Ca que ultrapassam 11,5 mg/dl são considerados hipercalcêmicos, nesse caso poderia considerar como normais valores da ordem de 10,15 mg/dl (\pm 0,4 mg/dl) para as raças consideradas grandes (SILVEIRA 1988a).

Autores, como Luvizotto (1984), em estudos realizados considerando condições patológicas como o hiperparatireoidismo em bovinos, encontraram correlação entre os níveis do Ca e os níveis da fosfatase alcalina e afirmaram que a relação entre eles era de proporcionalidade inversa. Simensen (1970) e Coles (1984) consideraram que a fosfatase alcalina participa dos processos de aposição óssea e também do processo de reabsorção e, por isso, em casos de hiperparatireoidismo, seus níveis mostram-se elevados. A condição de hiperparatireoidismo a que se referem esses autores é condizente com o a situação de baixos índices de Ca na dieta animal (Hiperparatireoidismo nutricional secundário).

A Hidroxirolina é um aminoácido não essencial, presente quase exclusivamente no colágeno. Cerca de 90% da matriz óssea está constituída por colágeno. Assim sendo, as variações da concentração da hidroxirolina plasmática e urinária dependem diretamente do catabolismo da matriz óssea, induzido pela ação do paratormônio (CHIAPPE; CAPAUL, 1985; CHIAPPE; GONZALES; CAPAUL, 1986).

Esse trabalho pretendeu estudar a influência que o manejo e o perfil nutricional da alimentação dos cavalos nos sistemas de criação extensivo e intensivo exerce sobre indicadores e parâmetros fisiológicos do sangue, como a dosagem de hidroxirolina, fosfatase alcalina, Ca e P.

MATERIAL E MÉTODOS

Duas propriedades de criação de cavalos da raça Mangalarga Marchador com modelos de criação uniformes e constantes foram estudadas, porém, distintos entre si no que se refere ao sistema adotado para a alimentação dos animais. A primeira propriedade, localizada no município de Lagoa Santa, Minas Gerais, mantinha seus animais em um sistema intensivo, alimentando-os de uma maneira quase exclusivamente a cocho. A segunda propriedade, localizada no município de Pedro Leopoldo, também em Minas Gerais, de maneira oposta, criava os animais em um regime extensivo, mantendo a alimentação em um sistema aberto, onde os animais tinham como fontes de alimentos principalmente as gramíneas presentes nas pastagens. Em ambas as propriedades, os animais mais jovens estavam sendo submetidos às mesmas condições de criação pelas quais passaram os animais mais velhos, o que determinou uma regularidade no sistema de criação. Assim sendo, a amostragem que foi realizada nas diferentes categorias etárias estudadas representaram uma visão global dos reflexos do sistema de criação sobre alguns parâmetros fisiológicos estimadores do metabolismo do Ca e do P. A composição dos grupos experimentais, de acordo com a propriedade e faixa etária dos animais, encontra-se apresentada na Tabela 1.

TABELA 1 - Composição dos grupos experimentais das propriedades estudadas
Table 1 - Composition of experimental groups in the studied horse breeding farms

Haras A	Idade dos animais (meses)	Machos Número	Fêmeas Número	Total de animais do grupo
GRUPO 1	4	5	3	8
GRUPO 2	14	4	4	8
GRUPO 3	24	4	4	8
GRUPO 4	48	5	4	9
Sub Total		18	15	33
Haras B				
GRUPO 1	4	2	6	8
GRUPO 2	14	1	6	7
GRUPO 3	24	5	3	8
GRUPO 4	48	4	4	8
Sub Total		12	19	31
TOTAL				64

Os animais, assim distribuídos pelos tratamentos experimentais, receberam o alimento normalmente oferecido de acordo com o sistema adotado em cada propriedade.

O delineamento experimental usado foi o inteiramente ao acaso, em esquema fatorial 4x2x2, cujos fatores foram idade, sexo e sistema de criação, respectivamente. As análises estatísticas foram efetuadas pelo método GLM (General Linear Model), do programa SAS (SAS, 1985). As comparações das médias foram feitas por contrastes ortogonais pelo método dos quadrados mínimos (SAMPALIO, 1993). A análise estatística considerou a situação de possíveis interações entre os fatores estudados de acordo com a análise de variância decomposta na Tabela 2.

TABELA 2 - Esquema de Análise de variância
Table 2 - plan of analyzes of variable

Fontes de variação	Graus de liberdade
Total	63
Tratamento	15*
Erro	48
* Desmembramento	
Idade (4 - 1)	3
Sexo (2 - 1)	1
Sistema de criação (2 - 1)	1
Interação idade x sexo (3 x 1)	3
Interação sexo x sistema de criação (1 x 1)	1
Interação sexo x sist. de criação x idade(1x1x3)	3
TOTAL	15

A dosagem do Ca no soro dos animais do experimento foi realizada pelo método Analisa* do Ca titulométrico, que determina o elemento por meio da sua titulação com EDTA, utilizando como indicador o ácido calcón carboxílico. Devido à permeabilidade das hemácias ao Ca, o soro foi separado do plasma dentro da primeira hora após a colheita por meio de centrifugação, sendo que o sangue foi colhido por venopunção jugular, com equipamento individual a vácuo.

O soro colhido dos animais para a dosagem do Ca também foi submetido à dosagem do P por meio de uma técnica que se baseava na reação dos íons fosfato com molibdênio em meio ácido da Analisa*. A medição foi feita colorimetricamente pela absorbância, determinada em um comprimento de onda de 650 nm ou filtro vermelho. A análise foi elaborada em duplicata, utilizando-se como resultado final a média das duas avaliações.

Para a dosagem da fosfatase alcalina, o método utilizado baseou-se no fato de que a fosfatase alcalina do soro hidrolisa a timolftaleína monofosfato, liberando a timolftaleína, que apresenta uma cor azul em meio alcalino. O método utilizado foi também do *kit* Analisa* e a avaliação foi colorimétrica. O material colhido dos animais foi analisado a exemplo das duas dosagens anteriores, em duplicata e o valor final sempre foi o resultado da média aritmética entre as duas análises executadas.

Na dosagem da hidroxiprolina, usou-se o *kit* Analisa*, sendo feitas as análises no laboratório CEPE**. O sangue foi colhido por venopunção, em tubos de vácuo esterilizados, sendo o soro, logo em seguida, separado do plasma por centrifugação na primeira hora após a colheita e enviado ao laboratório para análise imediata.

Uma fração da amostra colhida nos animais de cada uma das duas fazendas foi também submetida a uma dosagem da hidroxiprolina com base na técnica descrita por Fujii et al. (1981), no Laboratório de Apoio à Pós-Graduação da Escola de Veterinária da UFMG. Os reagentes foram feitos segundo as determinações da referida técnica, sendo produzidos os seguintes: tampão (acetato-citrato), tampão para cloramina - T, tampão para reação de cor, solução de cloramina - T, reagente de cor e o padrão de hidroxiprolina. De acordo com a metodologia proposta, 0,5 ml do soro sanguíneo de cada animal do experimento é adicionado a 15 mg de ácido sulfosalicílico e submetido à centrifugação a 1500 rpm por 3 minutos para a desproteinização da amostra.

Em seguida, uma fração dessa amostra foi colhida e a ela adicionado o tampão acetato-citrato, cloramina - T, para a oxidação à temperatura ambiente. Adicionou-se, em seguida, o reagente de cor para a incubação e finalmente a adição do isopropanol para a leitura em espectrofotômetro a 546 nm. A leitura foi feita mediante o uso de uma curva padrão de hidroxiprolina pura com concentrações conhecidas. Embora todos os passos descritos pelo trabalho de Fujii et al. (1981) tenham sido seguidos a rigor, as leituras das concentrações da hidroxiprolina dos animais do experimento só foram feitas com maior número de repetições com os valores encontrados nas dosagens elaboradas pelo laboratório CEPE*, e de acordo com as concentrações relacionadas pela literatura, em especial a partir das indicações do trabalho original de Stegemann (1958).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As concentrações de Ca, P, fosfatase alcalina e hidroxiprolina no soro sanguíneo dos animais encontram-se na Tabela 3.

Os níveis séricos do Ca não apresentaram diferença significativa entre os haras e entre as quatro faixas etárias dos animais de cada propriedade (TABELA 3). É importante observar, no entanto, que todos os valores encontrados como médias para cada grupo, com exceção apenas para o grupo A do haras A e grupo B do haras B, sempre foram superiores aos valores considerados pelo *National Research Council Subcommittee On Horse Nutrition* (1989), ou pelo menos ficaram muito próximos de seu limite superior. Silveira (1988b) considerou a faixa normal do Ca sérico entre 9,0 mg/dl e 13,0 mg/dl.

*Analisa Indústria e Comércio Ltda. - Brasil Av. N. Sra. Fátima - Belo Horizonte.

** CEPE - Laboratório / Centro de Pesquisas Especiais - Belo Horizonte - MG.

TABELA 3 - Concentrações séricas médias de Ca, P, Fosfatase Alcalina e hidroxiprolina nos animais, de acordo com a propriedade
 Table 3 - Seric concentrations of Ca, P, Alkaline Fosfatase e hidroxyproline in animals at the horse breeding farms

	Concentrações médias e desvios							
	Cálcio mg/dl		Fósforo mg/dl		Fosfatase UI/l		Hidroxiprolina mol/l	
	A*	B*	A	B	A	B	A	B
Categoria	12,78	13,45	3,88	4,46	185,95	176,55	68,50	61,78
4 meses	(1,49) a	(1,38) a	(0,86) a	(0,37) a	(10,08) a	(22,57) a	(6,39) a	(9,23) a
Categoria	13,65	12,29	3,68	3,87	161,96	149,57	41,07	34,45
14 meses	(1,31) a	(2,40) a	(0,58) a	(0,71) a	(19,38) a	(32,13) a	(9,28) b	(8,26) b
Categoria	14,09	13,71	3,67	3,97	130,18	189,91	30,03	31,79
24 meses	(0,32) a	(0,72) a	(0,53) a	(0,88) a	(12,49) a	(15,19) a	(5,67) c	(3,65) c
Categoria	13,3	13,53	3,27	3,03	134,64	153,23	21,32	20,08
48 meses	(1,39) a	(0,77) a	(0,57) a	(0,41) a	(45,01) a	(41,28) a	(6,51) d	(6,39) d

(a, b, c, d,) Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0.05$).

* Propriedades onde se realizou o experimento.

Honoré e Uhlinger (1994) analisaram dietas oferecidas a eqüinos na Carolina do Norte e concluíram que as dietas eram excessivas em sua oferta de proteína e energia e que também continham incorretos níveis de minerais, fatores que certamente comprometem a qualidade dessas dietas. Esses autores encontraram o Ca e o P em níveis de oferta que chegam a ultrapassar em até 80% e 78% as recomendações para o Ca e o P feitas pelo *National Research Council Subcommittee On Horse Nutrition* (1989) respectivamente. Southwood et al. (1993) observaram níveis dos nutrientes de dietas de cavalos da raça PSI e outras e em sua conclusão consideraram que por vezes se faz necessária a suplementação de Ca e de NaCl, ao passo que a suplementação com minerais como o ferro é desnecessária.

Szenci et al. (1994) encontraram uma correlação significativa entre a concentração do Ca ionizado com a concentração desse mineral no plasma e também no soro. Eles observaram que a desprezível alteração nos níveis de Ca pode ser atribuída ao decréscimo do pH e também em função da temperatura durante o armazenamento de amostras.

Deve-se considerar, nesse caso, a estabilidade das duas propriedades com relação a seu manejo, alimentação ou sistema de criação, que confere a todos os animais ali criados uma mesma condição, em uma avaliação global. Pode-se considerar que os jovens animais ali nascidos foram submetidos, de maneira geral, às mesmas condições a que foram submetidos os animais das categorias etárias imediatamente superiores nascidos e criados naquela propriedade.

De acordo com *National Research Council Subcommittee On Horse Nutrition* (1989), o P sérico é um melhor indicativo do *status* desse mineral que os níveis séricos do Ca, em função dos mecanismos de homeostasia.

Na análise do soro dos animais e com base na comparação das médias dos resultados obtidos com a dosagem sérica do P, não foi observada diferença significativa entre as análises de uma ou de outra propriedade. Também não foi observada diferença significativa entre os níveis de P sérico entre as categorias etárias dentro de cada um dos haras envolvidos nesse experimento. Os valores de referência

para o P sérico indicados por Silveira (1988b) para a concentração desse mineral no soro dos cavalos são de 3,0 - 7,0 mg/dl. No trabalho de Fujii et al. (1981), os autores encontraram para potros de oito meses de idade um valor de 5,40 mg / dl ($\pm 0,41$). Os mesmos autores encontraram para animais com idade entre 4 e 5 anos valor de 3,31 mg/dl ($\pm 0,51$). Em seu trabalho, não é difícil observar que à medida que a idade dos animais aumenta, diminuem-se os valores encontrados nas dosagens do P sérico dos animais. Os teores médios de P encontrados neste experimento foram maiores nos animais das categorias mais jovens, embora sem diferença significativa. Na propriedade B existe, no entanto, inversão nessa observação com relação ao Grupo 2 e o Grupo 3 de animais (14 e 24 meses, respectivamente).

Krook (1982) demonstrou haver influência do P dietético sobre os níveis séricos desse mesmo mineral. Para Marion e Engels (1986), os níveis séricos do P não são indicativos de um fornecimento aumentado desse mineral.

Com a observação da Tabela 4, que apresenta as correlações entre os parâmetros analisados, pode-se observar que não existe correlação do Ca com os demais parâmetros analisados, no entanto, observou-se que o P teve correlação com a hidroxirolina, com a fosfatase alcalina e também com o sistema de criação de cada propriedade.

Fujii et al. (1981) encontraram, em seu trabalho, valores médios para a fosfatase alcalina para potros de 8 meses da ordem de 372,3 U/l com desvio 63,4 U/l. Os animais com idade de quatro meses, observados nesse experimento, tiveram valores de dosagem da fosfatase alcalina da ordem de 185,95 U/l ($\pm 10,08$) e 176,55 U/l ($\pm 22,57$) respectivamente para as propriedades A e B. Silveira (1988b) apontou para a fosfatase alcalina valores entre 110 e 310 U/l. Os valores encontrados para potros, segundo esse mesmo autor, são normalmente aumentados em função do alto índice de metabolismo ósseo decorrente do crescimento desses jovens animais.

Para animais de 14 meses, encontraram-se valores de fosfatase alcalina nas propriedades A e B respectivamente da ordem de 161,96 U/l, ($\pm 19,38$) e 149,57 U/l ($\pm 32,13$). Fujii et al. (1981), para animais de 16 meses, idade próxima à dos animais deste experimento, encontraram valores de 341,9 U/l ($\pm 62,2$). Para animais de 24 meses, os valores foram de 287,1 U/l ($\pm 60,5$). Já para animais de 48 a 60 meses, os valores foram de 145,3 U/l ($\pm 30,7$). No presente experimento, nos grupos C e D das duas propriedades envolvidas, os valores de fosfatase alcalina foram de 130,18 U/l ($\pm 12,49$) e de 189,91 U/l ($\pm 15,19$) para os haras A e B respectivamente. Os valores de fosfatase alcalina encontrados nos animais de 48 meses foram de 134,64 U/l ($\pm 45,01$) e 153,23 U/l ($\pm 41,28$) para as propriedades A e B, respectivamente. Aparentemente, os valores da fosfatase alcalina encontrados no experimento realizado e os da literatura foram próximos apenas no grupo D, ao passo que nos outros 3 grupos (A, B e C), os valores encontrados são numericamente inferiores aos valores indicados pela literatura. No entanto, não se observou diferença significativa entre os grupos e fazendas estudadas. Os dados da Tabela 4 indicam que existiu uma correlação entre as dosagens de fosfatase alcalina e as diferentes idades dos grupos estudados. Igualmente, na Tabela 4, estão apresentadas as correlações entre os demais parâmetros analisados, podendo-se ver que a fosfatase alcalina apresentou correlação com a hidroxirolina e com o P. Foi possível chegar a uma fórmula que correlaciona os níveis de hidroxirolina e os de fosfatase alcalina, podendo-se, assim, estimar os valores de hidroxirolina no soro de eqüinos, mediante a equação:

$$\text{Hidroxirolina} = 56,098 + \text{Fosfatase} \times 0,097 - \text{Idade} \times 2,566 + (\text{idade} \times 0,032)^2$$

($R^2 = 0,8516$; C.V. = 18,68 %).

TABELA - 4 Correlação entre parâmetros fisiológicos e fatores estudados
 Table 4 - Correlation between physiological parameters and studied factors

	Haras	Idades	Sexo	Cálcio	Hidroxi.	Fosfat.	Fósforo
Haras	1.00000 (0.0)	-0.01295 (0.9191)	0.15859 (0.2107)	-0.0642 (0.6139)	-0.07047 (0.5800)	0.22629 (0.0722)	0.15091 (0.2339)
Idades		1.00000 (0.0)	-0.11242 (0.3765)	0.14305 (0.2595)	-0.87907 (0.0001)	-0.37054 (0.0026)	-0.47284 (0.0001)
Sexo			1.00000 (0.0)	-0.12481 (0.3258)	-0.02175 (0.8646)	-0.03575 (0.7791)	0.08994 (0.4797)
Cálcio				1.00000 (0.0)	-0.14062 (0.2677)	0.02195 (0.8633)	-0.02514 (0.8437)
Hidroxi.					1.00000 (0.0)	0.49344 (0.0001)	0.39431 (0.0013)
Fosfat.						1.00000 (0.0)	0.34110 (0.0058)
Fósforo							1.00000 (0.0)

Considerando que o desenvolvimento da técnica para a dosagem da hidroxiprolina é bastante trabalhosa e que a fórmula encontrada para a correlação é de considerável confiança, torna-se possível chegar ao valor da hidroxiprolina por meio de dados como a idade do animal e o valor obtido com a dosagem da fosfatase alcalina no soro, que por sua vez, é de relativa facilidade. Dessa forma e de acordo com autores como Chiappe, Gonzales e Capaul (1986), pode-se avaliar se determinadas condições podem estar interferindo com o perfil bioquímico ósseo de animais por meio dos valores encontrados para a hidroxiprolina, já que esse aminoácido é considerado de grande valia e segurança para essa informação.

Com relação às análises da hidroxiprolina no soro dos animais, observou-se que não houve diferença significativa entre os animais analisados em uma e em outra propriedade. Porém, se os dados forem analisados comparando-os entre as categorias etárias de uma ou de outra propriedade, percebe-se que existe diferença significativa entre essas categorias ou grupos etários de animais. A diferença entre as categorias etárias é um dado perfeitamente esperado, uma vez que segundo observações feitas no trabalho de Chiappe, Gonzales e Capaul (1986), à medida que os animais aumentam sua idade, reduzem-se as concentrações da hidroxiprolina no soro. Essa redução é esperada, uma vez que, com o avançar da idade dos animais, diminui-se a intensidade do metabolismo ósseo. No trabalho desse autor, quando analisados animais considerados clinicamente normais, observou-se que os maiores níveis séricos da hidroxiprolina coincidiam também com os maiores níveis do Ca sérico. Outra consideração desse mesmo trabalho concerne às dietas tradicionais dos animais ali estudados, que eram geralmente excessivas em P e, no entanto, elas eram carentes em Ca, o que predisporia os animais à osteodistrofias de origem nutricional. Fujii et al. (1981), utilizando-se de um método colorimétrico para a determinação da hidroxiprolina sérica em cavalos baseado no método de Stegemann (1958), encontrou valores séricos para os potros de oito meses da ordem de 39,0 mmol/l com desvio de $\pm 6,2$. O presente trabalho utilizou-se de animais no primeiro grupo etário analisado com média de idade de quatro meses. O valor médio da hidroxiprolina encontrado para uma e para outra propriedade, dentro desse primeiro grupo de animais estudados, com base nas análises estatísticas, não pode ser considerado diferente um do outro. No haras A, o valor encontrado foi 68,50 mmol/l ($\pm 6,39$), ao passo que no haras B o valor encontrado para a mesma dosagem foi 61,78 mmol/l com um desvio de $\pm 9,23$. Embora esses

números sejam razoavelmente maiores que os valores indicados por Fujii et al. (1981), deve-se considerar a diferença de idade entre o grupo de animais analisados nesse e naquele trabalho. No presente experimento, utilizou-se de potros muito jovens nessa categoria e, certamente, ainda com base em informações como as existentes no trabalho de Chiappe, Gonzales e Capaul (1986), deve-se esperar que maiores valores para os níveis da hidroxirolina sejam encontrados para os animais mais jovens, que possuem certamente maior atividade metabólica. Para os animais que Fujii et al. (1981) estudaram, com idade de 12 meses, bem próxima da idade dos animais do segundo grupo analisado neste trabalho, o valor das dosagens da hidroxirolina foi de 35,3 mmol/l com um desvio da ordem de $\pm 4,6$. O segundo grupo do experimento tinha 14 meses de idade, para ambas as propriedades estudadas. No haras A e no haras B, os valores encontrados foram respectivamente 41,07 mmol/l ($\pm 9,28$) e 34,45 mmol/l ($\pm 8,26$). Nesse caso, pode-se observar que os valores encontrados são bastante aproximados. Para o terceiro grupo de animais estudados, com idade de 24 meses, os valores encontrados foram de 30,03 mmol/l ($\pm 5,67$) e 31,79 mmol/l ($\pm 3,65$) para as dosagens da hidroxirolina. Fujii et al. (1981), para animais com esta mesma idade, encontraram 21,4 mmol/l e um desvio de $\pm 3,3$. Aparentemente, como aqui foram estudados cavalos da raça Mangalarga Marchador e não PSI, como os estudados pelo referido autor, é possível admitir que essa seja uma diferença real para as diferentes raças em questão.

CONCLUSÕES

A criação intensiva ou extensiva de eqüinos da raça Mangalarga não interfere nos valores sanguíneos de Ca e P, fosfatase alcalina e hidroxirolina.

A concentração de hidroxirolina no soro pode ser estimada em função da concentração da fosfatase alcalina sérica, por meio de equação de predição.

REFERÊNCIAS

- CHIAPPE, A. M.; CAPAUL, E. G. Niveles plasmáticos de hidroxirolina en relación con el parto en la vaca lechera: su posible aplicación en el diagnóstico precoz de paresia puerperal. **Rev. Med. Vet.**, Buenos Aires, v. 66, n. 5, p. 302-307, 1985.
- _____.; GONZALES, G. O.; CAPAUL, E. G. La hidroxirolina en perfiles bioquímicos ósseos de potrillos S.P.C. normales e patológicos. **Rev. Med. Vet.**, Buenos Aires, v. 67, n. 4, p. 164-173, 1986.
- COLES, E. H. **Patologia clínica veterinária**. 3. ed. São Paulo: Manole, 1984.
- FUJII, Y.; Dagnostic value of free hydroxyproline in horse serum. **Equine Res. Inst.**, n. 18, p. 73-83, 1981.
- 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.
- HINTZ, H. F.; SCHRYVER, H. F.; LOWE, J. E. Calcium for pregnant mares and growing horse. **Equine Pract.**, v. 8, n. 9, p. 5-9, 1986.
- HONORÉ, E. K.; UHLINGER, C. A. Equine practices in central north carolina: a preliminary survey. **J. Equine Vet.**, v. 14, n. 8, p. 424-429, 1994.
- 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.
- KROOK, L. **Metabolic diseases of bone and bones**. New York: State College of Veterinary Medicine, 1982. 54 p. (Special Pathology Lectures, 632).

- LUVIZOTTO, M. C. R. **Aspectos morfológicos, morfométricos e funcionais da tireóide e das paratireóides na doença periodontal dos bovinos**. 1984, 38 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - UFMG, Escola de Veterinária. Belo Horizonte, 1984.
- MARION, V. P. R.; ENGELS, E. A. N. Phosphorus and the grazing ruminant. 4 Blood and faecal grab sample as indicator of de P status of cattle. **S. Afr. J. Anim. Sci.**, View, v. 16, n. 1, p. 18 -22, 1986.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL SUBCOMMITTEE ON HORSE NUTRITION **Nutrients requirements of horses**. 5. ed. Washington: National Academic Press, 1989. 100 p.
- SAMPAIO, I. B. M. **Relatório das atividades de Pós-Doutorado desenvolvidos no período de 1992 a 1993**. Madrid: Universidad Politecnica de Madrid, 1993. 123 p.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS. **User guide: statistics** 5. ed. Cary: SAS Institute Inc., 1985.
- 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.
- SIMENSEN, M. G. Calcium, inorganic phosphorus, and magnesium metabolism in health and disease. In: KANEKO, J. J., CORNELIUS, C.E. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 2. ed. New York: Academic Press, 1970. p. 313-365.
- SOUTHWOOD, L. L. Nutrient intake of horse in thoroughbred and standardbred stables, **Austr. Vet. J.**, v. 70, n. 5, p. 164-168, 1993.
- STEGEMANN, H. Mikrobestimmung von hydroxyprolin mit chloramin-T und p-dimethylaminobenzaldehyd. **Z. Physiol. Chem.** v. 311, n. 1/3, p. 41-46, 1958.
- SZENCI, O. et al. Effects of storage time and temperature on ionized calcium concentration in equine blood, plasma, and serum. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 204, n. 8, p. 1224-1226, 1994.

Recebido em: 13/04/2007

Received in: 04/13/2007

Aprovado em: 31/07/2007

Approved in: 07/31/2007