

# APLICAÇÃO DA TÉCNICA DA TAXA DE DEPURAÇÃO RENAL DE CREATININA PARA AVALIAÇÃO DO “STATUS” DO FÓSFORO EM EQUINOS<sup>1</sup>

CARVALHO, P. R.;<sup>2</sup> d'ARCE, R. D.;<sup>3</sup> NETO, R. M.;<sup>3</sup> MANZANO, A.<sup>4</sup>

**Resumo** – Objetivou-se avaliar a eficiência da determinação da taxa do clearance de creatinina para o fósforo (% DRCr- P) como ferramenta de diagnóstico na prevenção da osteopatias em equinos recebendo rações contendo diferentes proporções de cálcio (Ca) e de fósforo (P) nas dietas associadas a coletas diárias de sangue e urina nos tempos de 0, 48, 72, 96 e 120 horas após período de adaptação de 15 dias. Foram utilizadas 20 potras árabe e mestiça árabe com idade média de  $19,9 \pm 4,58$  meses, em delineamento inteiramente casualizado, com cinco potras por tratamento, submetidas a quatro níveis de cálcio e de fósforo na dieta por dia: A- Ca normal e P normal: 24 g de Ca e 18 g de P; B- Ca baixo e P alto: 4,42 g de Ca e 30,10 g de P; C - Ca baixo e P baixo: 15,6 g de Ca e 9,6 g de P; e D - Ca alto e P baixo: 29,04 g de Ca e 14,04 g de P. As médias variaram ( $P > 0,05$ ) de 0,83% (0 h) a 2,52% (96 h) para o %DRCr- P no tratamento A. Proporcionalmente ao decréscimo de P na dieta, as médias de %DRCr- P decresceram ( $P > 0,05$ ) de 1,41% a 0,62% no grupo C e de 1,25% a 0,79% no grupo D. O contrário foi assinalado com o excesso de P no tratamento B em que as médias apresentaram acréscimos ( $P < 0,05$ ) e variaram de 2,10% (0 h) e de 5,92% (48 h) a 22,71% (120 h), sendo os contrastes destas médias significativos entre tempos e tratamentos. As excreções médias de P aumentaram ( $P < 0,05$ ) de 4,15 mg (0 h) para 19,91 mg (48 h) a 31,20 mg P/dL (96 h) no grupo B (alto P) e opostamente as médias excreção de urinária de P de 3,06 mg P (C) e 1,20 mg/dL P (D) decresceram nos tempos nas dietas com P deficiente. As médias obtidas nos tratamentos permitiram concluir que a técnica do % DRCr- P detectou ( $P < 0,05$ ) com precisão em tempo hábil (48 h) se a dieta tem excessivo P.

**Palavras-chave:** urina, depuração renal, fósforo, equinos, creatinina, osteodistrofia

## Introdução

O rim desempenha papel diferenciado na homeostasia do cálcio (Ca) e P na espécie equina. Schryver et al. (1970) relataram que a digestibilidade real do P apresentou média 45% quando administrado em nível de dieta de manutenção. Entretanto, a absorção do P da dieta pode variar 30% a 50% e a perda fecal endógena tem apresentado média de 10 mg/kg PV/dia (SCHRYVER et al., 1971b; CYMBALUK & CHRISTENSEN, 1986) e é relativamente constante sobre ampla variação de ingestão destes minerais (SCHRYVER et al., 1974). Ao contrário dos ruminantes, a excreção urinária de P é sempre significativa em cavalos e é dependente da quantia absorvida (SCHRYVER et al., 1970; 1971a, b).

Segundo Schryver et al. (1971b), a excreção endógena renal aumentou de 1,5 mg (0,20% P - manutenção) para 42 mg/kg PV/dia com P alto (1,19% P) na dieta,

<sup>1</sup> Apoio financeiro da EMBRAPA – UEPAE, São Carlos-SP.

<sup>2</sup> Parte da Dissertação de mestrado do primeiro autor.

<sup>3</sup> Méd. Vet., Dr., Pesquisador, Secretaria Agricultura e Abastecimento. Av. Rodrigues Alves, 40-40, Horto Florestal, CEP 17030-000, Bauru-SP. E-mail: p\_reiscar@apta.sp.gov.br

<sup>4</sup> Professor da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz –ESALQ/USP, Piracicaba - SP.

<sup>4</sup> Engº Agrº., Dr., Pesquisador, EMBRAPA-UEPAE, São Carlos-SP.

evidenciando linearidade crescente da excreção de P na urina em função do aumento do consumo (CYMBALUK & CHRISTENSEN, 1986). Portanto, se equínos com alto P na dieta absorvem e excretam maior teor de fosfatos ( $\text{PO}_4^-$ ) na urina, a determinação da taxa do clearance de creatinina (Cr) para  $\text{PO}_4^-$  (% DRCr- P) segundo Traver et al. (1976), Coffman (1980), Caple et al. (1982) é considerada ferramenta estratégica na detecção precoce do desequilíbrio iônico do P ao permitir diagnosticar e corrigir o problema antes que ocorram lesões irreversíveis ao tecido esquelético (MASON et al., 1988).

A prática do cálculo do %DRCr- P é considerada aplicável em situações específicas onde exista quadros subclínicos e clínicos compatíveis com disfunção do mineral, determinantes de osteopatias agudas ou crônicas (TRAVER et al., 1976; MASON et al., 1988). Nestes, além da análise química completa dos alimentos, as análises bioquímicas do P no soro e urina podem ser realizadas, em face da complexidade das inter-relações minerais e de amplas variações na digestibilidade real do P dos diferentes ingredientes da dieta. Desta maneira, nesta pesquisa objetivou-se avaliar através de dosagens bioquímicas no soro e urina amostrados simultaneamente nos diferentes tempos de coleta, a eficiência do % DRCr- P em detectar precocemente, o status metabólico em equínos com dietas variáveis de P.

## Material e Métodos

A fase experimental deste estudo foi desenvolvido na Unidade de Pesquisa de Âmbito Estadual da EMBRAPA de São Carlos-SP, com clima subtropical chuvoso e inverno seco e precipitação anual média de 1502 mm.

Foram utilizadas 20 potras, sendo 10 potras puras da raça Árabe e 10 mestiças Árabe, com idade e desvio padrão médios de  $19,9 \pm 4,58$  meses. O peso e altura médios das potras e o desvio padrão no início do experimento foram, respectivamente, de  $277,2 \text{ kg} \pm 37,76$  e  $1,37 \text{ m} \pm 0,05$ .

Os tratamentos em número de quatro, foram aplicados a grupos de cinco potras e consistiam das seguintes proporções de Ca e P/ dia na dieta: A- Ca normal e P normal: 24 g de Ca e 18 g de P; B- Ca baixo e P alto: 4,42 g de Ca e 30,10 g de P; C - Ca baixo e P baixo: 15,6 g de Ca e 9,6 g de P; e D - Ca alto e P baixo: 29,04 g de Ca e 14,04 g P/dia na dieta (Tabela 1), associadas a diferentes tempos de coleta, após o período de adaptação dos animais. No período experimental, os animais receberam 6 kg de MS/dia (2% PV) em duas refeições a partir de formulações completas, sendo a primeira as 10 h e a segunda as 16 h. A composição química dos ingredientes das dietas experimentais foi determinada segundo a metodologia descrita pelo AOAC (1970). A composição mineral em Ca e P das dietas foram determinadas em espectrofotômetro de absorção atômica da marca Varian®.

O sangue total para obtenção do soro foi colhido por punção da jugular em tubo de vidro tipo vacutainer sem anticoagulante. Após 15 dias de adaptação, as amostras de urina e soro foram obtidas diariamente com colheita simultânea no horário entre 12 h e 14 h nos tempos 0, 48, 72, 96 e 120 h do início da fase experimental. O P e Cr no soro e urina para determinação do clearance percentual de P (%DRCr- P) foram dosados pelo método kit labtest - Sistemas Diagnósticos Ltda., por reação colorimétrica com leitura em espectrofotômetro modelo 382-B. Foi aplicada a fórmula estabelecida por Knudsen (1959) e adaptada por Traver et al. (1976) na qual os autores interrelacionaram a concentração do mineral pesquisado (P) na urina e soro com a concentração de creatinina (Cr) no soro e urina de equínos para obter o porcentual de depuração renal (%DRCr- ) do mineral pesquisado:

Tabela 1 - Composição das rações experimentais

Ingredientes, %	Tratamentos			
	A	B	C	D
Feno de Coast cross	59,2245	16,6550	100,0000	59,2660
Farelo de milho	26,7000	49,4600	-	26,7000
Farelo de trigo	4,0000	33,3400	-	4,0000
Farelo de soja	9,3000	-	-	9,3000
Carbonato de cálcio, p.a	0,5235	-	-	0,7340
Fosfato monossódico, p.a	0,2520	0,5450	-	-
Total	100,0000	100,0000	100,0000	100,0000
<u>Análise calculada, %</u>				
Matéria seca	88,7074	88,0207	89,3700	88,6818
Proteína bruta	10,0158	10,1738	4,6300	10,0180
Fibra bruta	25,0423	10,1505	39,5200	25,0609
Extrato etéreo	2,8838	3,1448	2,5000	2,8850
Matéria mineral	3,9734	2,6494	4,9900	3,9758
Extrato não nitrogenado	45,8684	61,3726	37,7300	45,8861
<u>Composição analisada, %</u>				
Cálcio	0,4000	0,0736	0,2600	0,4840
Fósforo	0,3000	0,5016	0,1600	0,2338

$$\%DRCr- P = \frac{P \text{ (urina)}}{P \text{ (soro)}} \times \frac{Cr \text{ (soro)}}{Cr \text{ (urina)}} \times 100$$

Na análise estatística dos dados, cada tratamento foi aplicado a cada unidade inteiramente ao acaso, a cinco animais. Os resultados das determinações do %DRCr- P, Cr no soro e urina foram analisados nos tempos de 0, 48, 72, 96 e 120 h para cada unidade experimental. Foram determinados os contrastes e interações de médias entre tempos e tratamentos. Para avaliar o comportamento das variáveis no P e Cr no soro e urina e %DRCr- P médio nos tempos também foram realizadas a análise conjunta dos tempos nos respectivos tratamentos. Os dados foram processados mediante o uso do software "Statistical Analysis System" (SAS, 1994). O efeito dos tempos foi estudado através da regressão polinomial, enquanto que as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de significância indicado.

### Resultados e Discussão

Com níveis de ingestão de 18 g de P/dia no grupo de A (0,30% de P/kg de MS), as potras mostraram variação de médias não significativas ( $P > 0,05$ ) entre tempos de 0,83% (0 h) a 2,52% DRCr- P, maior média. (Tabela 2; Figura 1). Segundo Schryver et al. (1972b) a técnica do óxido de crômio ( $Cr_2O_3$ ) indicou a existência de fluxo líquido P na primeira e equivalente absorção líquida do elemento na segunda metade do intestino delgado. A técnica revelou grande fluxo de P dentro do ceco e colon ventral e absorção líquida de quantidade maior do mineral no colon dorsal maior e pequeno colon. O conteúdo de Ca ou tipo de alimento não alteraram o sítio de secreção ou a absorção de P no equino, diferentemente dos ovinos, suínos e cão nos quais existe pouca absorção de P no intestino grosso. Para repor continua remoção óssea há necessidade de absorção de quantidade equivalente de P.

Tabela 2 - Valores médios dos % DRCr- P e de P na urina (mg/dL) nos tempos segundo os tratamentos estudados

Tratamentos	Tempos (h)				
	0	48	72	96	120
	Médias* % DRCr-P				
	5% de significância				
A	0,83 <sub>a</sub> <sup>A</sup>	1,01 <sub>a</sub> <sup>B</sup>	1,09 <sub>a</sub> <sup>B</sup>	2,52 <sub>a</sub> <sup>B</sup>	2,37 <sub>a</sub> <sup>B</sup>
B	2,10 <sub>c</sub> <sup>A</sup>	5,92 <sub>b</sub> <sup>A</sup>	12,46 <sub>ab</sub> <sup>A</sup>	6,02 <sub>b</sub> <sup>A</sup>	22,71 <sub>a</sub> <sup>A</sup>
C	1,41 <sub>a</sub> <sup>A</sup>	1,39 <sub>a</sub> <sup>B</sup>	0,89 <sub>a</sub> <sup>B</sup>	1,12 <sub>a</sub> <sup>B</sup>	0,62 <sub>a</sub> <sup>B</sup>
D	1,25 <sub>a</sub> <sup>A</sup>	1,00 <sub>a</sub> <sup>B</sup>	1,22 <sub>a</sub> <sup>B</sup>	1,08 <sub>a</sub> <sup>B</sup>	0,79 <sub>a</sub> <sup>B</sup>
	1% de significância				
A	0,83 <sub>a</sub> <sup>A</sup>	1,09 <sub>a</sub> <sup>B</sup>	1,10 <sub>a</sub> <sup>B</sup>	2,52 <sub>a</sub> <sup>B</sup>	2,37 <sub>a</sub> <sup>B</sup>
B	2,10 <sub>c</sub> <sup>A</sup>	5,92 <sub>ab</sub> <sup>A</sup>	12,46 <sub>ab</sub> <sup>A</sup>	6,02 <sub>ab</sub> <sup>A</sup>	22,71 <sub>a</sub> <sup>A</sup>
C	1,41 <sub>a</sub> <sup>A</sup>	1,39 <sub>a</sub> <sup>B</sup>	0,89 <sub>a</sub> <sup>B</sup>	1,12 <sub>a</sub> <sup>B</sup>	0,62 <sub>a</sub> <sup>B</sup>
D	1,25 <sub>a</sub> <sup>A</sup>	1,00 <sub>a</sub> <sup>B</sup>	1,22 <sub>a</sub> <sup>B</sup>	1,08 <sub>a</sub> <sup>B</sup>	0,79 <sub>a</sub> <sup>B</sup>
	Médias de P na urina, mg/dL (P<0,05)				
A	2,27 <sub>a</sub> <sup>A</sup>	1,38 <sub>a</sub> <sup>B</sup>	4,13 <sub>a</sub> <sup>B</sup>	7,55 <sub>a</sub> <sup>B</sup>	5,56 <sub>a</sub> <sup>B</sup>
B	4,15 <sub>b</sub> <sup>A</sup>	19,91 <sub>a</sub> <sup>A</sup>	25,22 <sub>a</sub> <sup>A</sup>	31,20 <sub>a</sub> <sup>A</sup>	24,03 <sub>a</sub> <sup>A</sup>
C	3,76 <sub>a</sub> <sup>A</sup>	2,03 <sub>a</sub> <sup>B</sup>	2,52 <sub>a</sub> <sup>B</sup>	2,67 <sub>a</sub> <sup>B</sup>	3,06 <sub>a</sub> <sup>B</sup>
D	3,49 <sub>a</sub> <sup>A</sup>	3,09 <sub>a</sub> <sup>B</sup>	2,68 <sub>a</sub> <sup>B</sup>	2,65 <sub>a</sub> <sup>B</sup>	1,20 <sub>a</sub> <sup>B</sup>

\*Médias com letras distintas minúsculas na linha ou maiúsculas na coluna diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância indicado

Nesta pesquisa foi calculada a ingestão total de 6 kg de MS (2% PV) para potras em crescimento entre 18 a 24 meses de idade para atendimento das exigências (Tabela 1 e Figura 1). Os animais submetidos à dieta do grupo A mostraram resultados concordantes aos obtidos nos estudos de balanço P realizados por Schryver et al. (1970; 1971a, b) e revisados por Schryver & Hintz (1972a) demonstrando que a retenção é zero para a ingestão de 19 mg P/kg PV/dia. A excreção renal de P foi diretamente proporcional à ingestão. Na presente pesquisa a equação de regressão linear  $Y = 0,9499X - 9,4037$  ( $R^2 = 0,89$ ) estimou que a excreção renal decresceu, tendendo a zero quando a ingestão foi menor que 31,35 mg P/kg PV/dia para potras com média 300 kg PV. Os tratamentos com 9,6 g P/dia (C) e 14,04 g P/dia (D), ainda que os decréscimos de excreção renal não tenham sido significativos ( $P > 0,05$ ) contrastes de médias notáveis ocorreram ( $P < 0,05$ ) com a excreção urinária de P dos animais do grupo B submetidos à dieta com teor elevado de P (Tabelas 1 e 2; Figura 1).

Concordando ainda com os resultados da presente pesquisa, Schryver et al. (1972a) encontraram para níveis de ingestão de P variando de baixo a alto, excreções urinárias de P crescentes de 1 mg (0,20% P - basal), 11 mg (0,54% P fítico), 19 mg (0,79% P) e 42 mg/kg PV/dia (1,19%) de P na urina segundo níveis de P na dieta. A base na variação foi de 30% a 50% (média de 40% a 45%) de digestibilidade real do P obtida nos estudos de balanço estimando exigência de manutenção entre 20 a 40 mg/kg PV/dia (HINTZ & SCHRYVER, 1972; HINTZ et al., 1973). Estudos com  $^{32}\text{P}$  mostraram que a excreção fecal endógena de P média de 10 mg/kg PV/dia não foi influenciada pela ingestão de teores crescentes de 0,20% P a 1,20% P na ração (SCHRYVER & HINTZ, 1972), contrastando com ratos e ruminantes, nos quais a excreção endógena fecal tem relação direta com a ingestão, confirma os rins como o principal órgão na homeostasia do P em eqüinos.

Nesta pesquisa, animais recebendo 30,10 g P/dia na ração do tratamento B, foram responsáveis pelos efeitos ( $P < 0,05$ ) significativos dos contrastes de médias entre os tratamentos A (0,30% P), C (0,16% P) e D (0,23% P) e entre tempos para o %DRCr- P (Tabelas 1 e 2). Neste grupo de potras (B) os acréscimos ( $P < 0,05$ ) de médias 2,10% (0 h) aumentaram de 5,92% (48 h) a 22,71% (120 h) entre tempos, sendo este maior que 10 vezes no %DRCr- P. Tais aumentos do %DRCr- P foram responsáveis pelos contrastes significativos de médias entre tempos e tratamentos e podem ser projetados pela equação de regressão polinomial cúbica:  $Y = 0,0001X^3 - 0,0102X^2 + 0,4838X + 1,8405$ ;  $R^2 = 0,8095$ ,  $P < 0,0352$  e desvio ( $P < 0,0046$ ) significativos (Tabela 2; Figura 1).

Na literatura há menção do tempo de 48 horas para detecção de desequilíbrios desta natureza através da determinação do % DRCr- P (TRAVER et al., 1976; COFFMAN, 1980; CAPLE et al., 1982), sendo usado para monitorar dieta rica em grão e pobre em Ca. Médias do % DRCr- P maiores que 4% segundo Caple et al., (1982) e Mason et al. (1988) são indicativas de desequilíbrio na dieta. Mason et al. (1988) mencionaram que eqüinos submetidos a dietas desequilíbradas, com excesso de P e pobre em Ca, por determinado tempo, manifestaram diferentes quadros de osteopatias: osteodistrofia fibrosa, osteíte, deformidades angulares, contratura dos tendões flexores, osteocondrose, laminites, fraturas de vértebras lombares e sacras.

Nesta pesquisa, o grupo A mostrou médias de normalidade variando de 0,83% a 2,52% de DRCr- P e o grupo B respondeu imediatamente (48 h) com média de 5,92% de DRCr- P, aumento expressivo e significativo para dieta alta em P. Ainda, estes dados foram confirmados pela excreção urinária média de P que variou de 4,15 mg (0 h) para 31,20 mg (96 h) com acréscimo ( $P < 0,05$ ) de 7,5 vezes entre tempos do grupo B (Tabela 2; Figura 1).

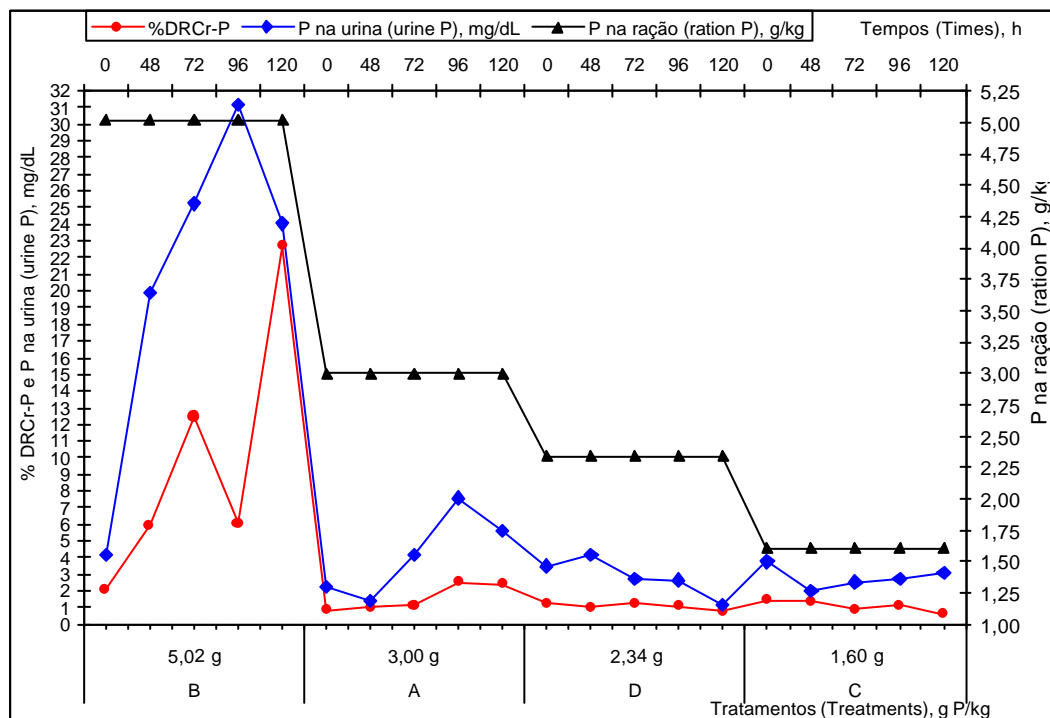


Figura 1- Médias do % DRCr- P e de P na urina (mg/dL) nos tempos em função dos níveis de P na ração (g/kg) nos tratamentos estudados

## Conclusões

O % DRCr- P é índice que detectou em tempo hábil (48 h) com probabilidade maior que 99% se a dieta de eqüinos tinha excesso de P. Eqüinos alimentados com excesso de P na ração excretaram mais P na urina com probabilidade maior que de 95% quando avaliados a partir de 48 horas do início na dieta.

Animais com dietas deficientes em P, grupos C e D, mostraram as menores médias do %DRCr- P e de excreção de P na urina comparados aos animais do grupo A com dieta equilibrada em P e B com excessivo P na dieta .

A coleta simultânea de urina e soro para determinação do % DRCr- P é técnica de fácil execução, praticidade, baixo custo, apresenta rapidez na execução e viabiliza emissão de resultados para tomada de decisão a tempo, ou seja, antes que as osteopatias subclínicas determinem quadros clínicos irreversíveis ao esqueleto dos eqüinos.

## Referências Bibliográficas

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 11.ed. Washington: AOAC International, 1970. 1015p.
- CAPLE, I.W.; DOAKE, P.A.; ELLIS, P.G. Assessment of the calcium and phosphorus nutrition in horses by analysis of urine. **Austr. Vet. J.**, v.58, n.4, p. 125-131, 1982.
- COFFMAN, J. Percent creatinine clearance ratios. **Vet. Med. Small and Anim. Clin.**, v.75, n.4, p.671-676, 1980.
- CYMBALUK, N.F.; CHRISTENSEN, D.A. Nutrient utilization of pelleted and unpelleted forages by ponies. **Can. J. Anim. Sci.**, v.66, n.2, p.237-244, 1986.
- HINTZ, H.F.; SCHRYVER, H.F. Availability to ponies of calcium and phosphorus from various supplements. **J. Anim. Sci.**, v.34, n.6, p. 979-980, 1972.
- HINTZ, H.F.; WILLIAMS, A.J.; ROGOFF, J. et al. Availability of phosphorus in wheat bran when fed to ponies. **J. Anim. Sci.**, v.36, n.3, p.522-525, 1973.
- KNUDSEN, E. Renal clearance studies on the horse. I: inulin, endogenous creatinine and urea. **Acta Vet. Scand.**, v.1, p.52-66, 1959.
- MASON, D.K.; WATKINS, K.L.; MCNIE, J.T. Diagnosis, treatment and prevention of nutritional secondary hyperparathyroidism in throughbred race horses in Hong kong. **Equine Practice**, v.10, n.3, p.10-17, 1988.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of horses**. National Academy of Sciences, 1978. 33 p.
- SAS Institute. SAS<sup>®</sup>/ STAT. **User's Guide**: statistical version. SAS Institute, 1994.
- SCHRYVER, H.F.; CRAIG, P.H.; HINTZ, H.F. Calcium metabolism in ponies fed varying levels of calcium. **J. Nutr.**, v.100, n.8, p.955-964, 1970.
- SCHRYVER, H.F.; HINTZ, H.F.; CRAIG, P.H. Calcium metabolism in ponies fed high phosphorus diet. **J. Nutr.**, v.101, n.2, p.259-264, 1971a.
- SCHRYVER, H.F.; HINTZ, H.F.; CRAIG, P.H. Phosphorus metabolism in ponies fed varying levels of phosphorus. **J. Nutr.**, v.101, n.9, p. 1257-1264, 1971b.
- SCHRYVER, H. F.; HINTZ, H.F. Calcium and phosphorus requirements of the horse: A review. **Feedstuffs**, v.44, p.35-36, 38, 1972a.
- SCHRYVER, H.F.; HINTZ, H.F.; CRAIG, P.H. et al. Site of phosphorus absorption from the intestine of the horse. **J. Nutr.**, v.102, n.1, p.143-148, 1972b.
- TRAVER, D.S.; COFFMAN, J.R.; MOORE, J.N. et al. Urine clearance ratios as diagnostic acid in equine metabolic disease. **Proc. Am. Assoc. Eq. Pract.**, v.22, p.177-183, 1976.