

## Identificação dos níveis séricos do fator de crescimento tipo insulina 1 em potros com osteocondrose<sup>1</sup>

Raquel Y.A. Baccarin<sup>2\*</sup>, Marco A. Pereira<sup>2</sup>, Neimar V. Roncati<sup>3</sup>, Priscila V. Furtado<sup>4</sup>, Cláudio A. Oliveira<sup>4</sup> e Stefano C.F. Hagen<sup>5</sup>

**ABSTRACT.-** Baccarin R.A.Y., Pereira M.A., Roncati N.V., Furtado P.V., Oliveira C.A. & Hagen S.C.F. 2011. [Identification of insulin-like growth factor-I serum levels in foals with osteochondrosis.] Identificação dos níveis séricos do fator de crescimento tipo insulina 1 em potros com osteocondrose. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 31(8):677-682. Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Av. Orlando Marques de Paiva 87, Butantã, São Paulo, SP 05508-270, Brazil. E-mail: [baccarin@usp.br](mailto:baccarin@usp.br)

Osteochondrosis is the most common orthopaedic developmental disorder in horses and has been traditionally defined as a multifactorial disease. The disease had a very dynamic character in which the repair process starts almost immediately after the lesion has formed. The intensity and efficacy of this repair process is strongly age-related and is determined by the turnover rate of the components of the extracellular matrix of the articular cartilage. Since the insulin-like growth factor-I (IGF-1) acts regulating the growth of articular cartilage, this study aimed to describe the serum levels of IGF-1, insulin and glucose in healthy Lusitano foals and foals with osteochondrosis, from birth to 18 months of age. At one month 76.08% of the foals showed radiographic signs of osteochondrosis, but at age of 18 months the percentage dropped to 16.2%. The IGF-1 concentrations reached peak values at age of 14 to 16 months, equivalent to the onset of puberty. The IGF-1 concentrations in foals with osteochondrosis were lower than in healthy 2 to 5-month-old foals ( $P<0.05$ ), and the insulin at age of 2 months ( $P<0.05$ ). On farms with high incidence of osteochondrosis is recommended that measurement of serum IGF-1 and insulin occur during the first 6 months of age, to have enough time to establish preventive and therapeutic measures.

INDEX TERMS: Osteochondrosis, horse, insulin-like growth factor-I, foal

**RESUMO.-** A osteocondrose é uma das doenças ortopédicas do desenvolvimento mais comuns em cavalos, e deve ser encarada como uma desordem multifatorial. Caracteriza-se por ser uma doença dinâmica, onde o processo de reparo inicia-se quase que imediatamente após a formação da lesão osteocondral. A intensidade e eficácia deste reparo são fortemente relacionados à idade, e estão associados a reposição dos compo-

nentes da matriz cartilágnea. Uma vez que o fator de crescimento tipo insulina-1 (IGF-1) age regulando o crescimento da cartilagem articular, este estudo objetivou descrever os níveis séricos de IGF-I, insulina e glicose em potros Puro Sangue Lusitano hígidos ou com osteocondrose, desde o nascimento até 18 meses de idade. Dos potros acompanhados, 76,08% apresentaram sinais radiográficos de osteocondrose com um mês de idade, porém somente 16,2% mantiveram as lesões aos 18 meses. As concentrações de IGF-1 alcançaram picos entre 14 e 16 meses, equivalente ao início da puberdade. As concentrações de IGF-1 nos potros com osteocondrose foram menores que potros sadios, aos 2 e 5 meses ( $P<0,05$ ), e os de insulina aos 2 meses ( $P<0,05$ ). Em criatórios com alta ocorrência de osteocondrose recomenda-se que as mensurações dos níveis séricos de IGF-1 e insulina ocorram durante os primeiros 6 meses de idade, para que haja tempo hábil de se estabelecer medidas profiláticas e de tratamento.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Osteocondrose, equino, fator de crescimento tipo insulina-1, potro.

<sup>1</sup> Recebido em 8 de fevereiro de 2011.

Aceito para publicação em 30 de abril de 2011.

<sup>2</sup> Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade de São Paulo (USP), Av. Orlando Marques de Paiva 87, Butantã, São Paulo, SP 05508-270, Brasil. \*Autor para correspondência: [baccarin@usp.br](mailto:baccarin@usp.br)

<sup>3</sup> Curso de Medicina Veterinária, Universidade Anhembí Morumbi, Rua Dr. Almeida Lima 1134, Brás, São Paulo, SP 03164-000. E-mail: [neimar@anhembibr](mailto:neimar@anhembibr)

<sup>4</sup> Departamento de Reprodução Animal, FMVZ-USP, São Paulo, SP 05508-270. E-mail: [cadolive@usp.br](mailto:cadolive@usp.br)

<sup>5</sup> Departamento de Cirurgia, FMVZ-USP, São Paulo, SP 05508-270. E-mail: [hagen@usp.br](mailto:hagen@usp.br)

## INTRODUÇÃO

Em equinos um fato importante no primeiro ano de vida é o aparecimento das doenças ortopédicas do desenvolvimento, tais como: osteocondrose, fisites, deformidades angulares e deformidades flexurais. Destas desordens, a osteocondrose tem apresentado o maior impacto econômico, sendo sua prevalência entre 8% e 79% dependendo da população de cavalos e articulações estudadas (Verwilghen et al. 2009a).

A osteocondrose tradicionalmente é definida como uma falha da ossificação endocondral e é causada por distúrbio na diferenciação normal das células de cartilagem em crescimento (Hurtig & Pool 1996, Ytrehus et al. 2007).

Nas últimas décadas muitos trabalhos foram dedicados à definição da etiopatogenia da osteocondrose e tornou-se claro que a doença deve ser encarada como uma desordem multifatorial, sendo fatores importantes a genética, nutrição, desequilíbrios hormonais, crescimento rápido, conformação, trauma, e exercício irregular (Hurtig & Pool 1996, Wittwer et al. 2007, Olstad et al. 2008, Lepeule et al. 2009, Grevenhof et al. 2009), que segundo Ytrehus et al. (2007) culminaria na necrose dos canais vasculares cartilagíneos levando à necrose focal isquêmica da cartilagem em crescimento.

Diferentes fatores de crescimento agem tanto sistemicamente como localmente, regulando o crescimento da cartilagem. Dentre eles o fator de crescimento tipo insulina 1 (IGF-I) tem mostrado promover o crescimento e a diferenciação de condrócitos (Henson et al. 1997), além de estimulá-los a sintetizar constituintes da matriz cartilagínea como colágeno, proteoglicanos e ácido hialurônico (Verwilghen et al. 2009b), induzindo o reparo cartilagíneo (Fortier et al. 2001). Também foi relatado que o IGF-1 protege os condrócitos da apoptose induzida por diferentes estímulos, inibe os efeitos catabólicos da interleucina-1 sobre a síntese de proteoglicanos, e suprime a degradação dos componentes da matriz cartilagínea reduzindo a expressão e atividade de metaloproteinases 1 e 8 (Lejeune et al. 2007).

Os mecanismos que controlam os efeitos do IGF-1 incluem alteração na sua concentração, alteração na concentração de seu receptor, e/ou afinidade ou disponibilidade pelo seu receptor. Logo, qualquer distúrbio nos elementos acima pode desregular os mecanismos envolvidos no controle local da integridade articular (Lejeune et al. 2007).

Há inúmeros efeitos potencialmente benéficos em se restaurar os níveis de IGF-1 em cavalos enfermos. Estes efeitos são tão marcantes que alguns estudos têm focado a aplicação do IGF-1 para reparo cartilagíneo em cavalos com osteoartrite (Frisbie et al. 2002). Considerando terapias sistêmicas com hormônio do crescimento (GH) ou IGF-1, o ideal seria manter ou repor os níveis plasmáticos de IGF-1 não mais que os níveis encontrados na puberdade, pois altos níveis (maior que o dobro da puberdade) de IGF-1 estão associados a neoplasias, e à resistência a insulina, resultando em diabetes (Fortier et al. 2005). Contudo, os dados sobre concentração normal de IGF-1 de cavalos púberes não estão disponíveis para todas as raças.

Aparentemente, potros acometidos por osteocondrose apresentam uma atividade IGF-I significativamente menor do que potros saudáveis (Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan et al. 1999, Lejeune et al. 2007). Também foi relatado que a deficiência de energia e/ou proteína, ou principalmente o desequilíbrio en-

tre energia e proteína na dieta de potros entre 15 e 28 meses reduz a produção de IGF-1 (Lejeune et al. 2007).

Contraditoriamente, alguns trabalhos relacionam o aumento das concentrações de IGF-1, em potros desmamados e alimentados com dieta rica em grãos e amido, com o desenvolvimento da resistência à insulina. O aumento compensatório da secreção de insulina manteria a homeostase da glicose, mas alteraria a sinalização da insulina em outros sistemas, como no eixo somatotrófico, aumentando o risco de osteocondrose (Ralston 1996, Treiber et al. 2005).

Recentemente observou-se que os níveis plasmáticos de IGF-1 em cavalos pós-púberes acometidos por osteocondrose podem estar elevados, refletindo uma resposta de cicatrização da cartilagem ao dano causado pelas lesões osteocondrais (Verwilghen et al. 2009b).

A insulina tem efeito importante sobre o processo de ossificação endocondral, ou seja, ela estimula uma rápida remoção dos hormônios tireoideanos T3 e T4 da circulação, que estão envolvidos nos estágios finais da diferenciação dos condrócitos, e na invasão da cartilagem por vasos sanguíneos (Van Der Harst 2006). Logo, existe efeito da energia oriunda da dieta, mediada pela hiperinsulinemia pós prandial sobre os condrócitos.

Assim, o monitoramento plasmático de concentrações de IGF-1 e insulina, pode indicar potros susceptíveis ao aparecimento da doença e candidatos ao controle radiográfico, bem como uma resposta cicatricial da cartilagem articular. A alta incidência de osteocondrose justifica as pesquisas sobre metabolismo articular para se firmar parâmetros que possam prever o desenvolvimento da enfermidade. Desta forma o objetivo deste estudo foi descrever as diferenças dos níveis sanguíneos de IGF-1, insulina e glicose em potros Puro Sangue Lusitano (PSL) hígidos ou com osteocondrose nos primeiros 18 meses de idade.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em 46 potros da raça Puro Sangue Lusitano, machos ou fêmeas, criados em regime de semi-estabulagem. Estes animais foram acompanhados durante os primeiros 18 meses de vida.

Os animais que após 12 meses de idade não mais apresentaram alterações radiográficas, permanecendo sem alterações até 18 meses formaram o grupo hígido (31 potros). Já os animais que mantiveram as alterações radiográficas compatíveis com osteocondrose após 12 meses de idade formaram o grupo osteocondrose (6 potros). Durante o estudo nove potros foram excluídos por motivo de venda, óbito ou outro motivo que impedisse o exame radiográfico mais de uma vez até atingirem a idade de 18 meses.

**Exame radiográfico.** Os potros foram submetidos a exame radiográfico<sup>6</sup> desde o primeiro mês até 18 meses de vida. Os exames incluíram projeções dorsomedial-plantarolateral oblíqua, lateromedial e dorsoplantar de ambas articulações tíbio-társicas para avaliação do aspecto cranial da crista intermédica da tíbia e aspecto distal da crista troclear lateral do talus, e projeções lateromedial e caudolateral-cranio-medial de ambas articulações fêmuro-tíbio-patelares para avaliação da região central da crista lateral da tróclea do osso fêmur.

<sup>6</sup> Raios-x portátil, modelo PXP 20 HF plus - Poskom.

<sup>7</sup> Contador Cobra Auto Gama.

<sup>8</sup> Diagnostic Systems Laboratories Inc. Webster, Texas, USA.

<sup>9</sup> Glucose GOD FS - DiaSys.

<sup>10</sup> Analisador bioquímico automático - MAS, Liasys.

**Determinação do IGF-1, insulina e glicose plasmática.** Amostras de 10 mL de sangue da veia jugular externa dos potros foram colhidas mensalmente nos primeiros 10 meses, e aos 12, 14, 16 e 18 meses de idade. O sangue foi centrifugado e o soro obtido separado e congelado a -70°C para posterior processamento. Todas as amostras foram colhidas no período da manhã.

Também foram colhidas amostras de 5 mL de sangue em frascos contendo fluoreto de sódio 7,5mg e Na<sup>2</sup> EDTA 15mg.

A determinação do IGF-1 sérico foi realizada a partir de amostras de soro congelado a -70°C, por radioimunoensaio<sup>7</sup> de extração como previamente descrito por NAP et al. (1993), após extração com ácido etanol, utilizando o kit DSL 5600<sup>8</sup>. A dosagem de insulina foi realizada a partir de amostras de soro congelado a -70°C, por radioimunoensaio como previamente descrito por Freestone et al. (1991).

Em ambas as análises os valores de coeficiente de variação (CV) intra ensaio permaneceram abaixo de 10%, indicando que não houve variação na pipetagem das amostras. O CV inter ensaio permaneceu abaixo de 2%, demonstrando que as variações entre os ensaios foram mínimas.

As taxas de glicose plasmática foram determinadas com a utilização de reagente específico<sup>9</sup> em analisador bioquímico automático<sup>10</sup>.

**Análise estatística.** Os dados foram avaliados segundo a normalidade pela prova de Kolmogorov-Smirnov, em seguida foi utilizado modelo de análise de variância para verificar o efeito de grupos e momentos. O contraste entre médias foi feito pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade para o processamento dos dados. Para comparação de cada momento entre grupos foi utilizado o teste t não pareado também a nível de 5% de probabilidade.

Para o estudo de relação entre IGF-1 e insulina sérica foi utilizada a análise de regressão linear e o coeficiente de correlação. Foram consideradas diferenças significativas quando p foi inferior a 0,05, sendo uma correlação considerada forte quando  $r > 0,6$ ; média quando os valores de r estiveram entre 0,3 e 0,6; e fraca quando  $r < 0,3$  (Sampaio 1998).

## RESULTADOS

A porcentagem de potros com um mês de idade que apresentaram aparência alterada em alguma das imagens radiográficas foi de 76,08% (35 em 46 potros). Apesar disso, somente 16,2% dos potros (6 em 37 potros) mantiveram lesões radiográficas de osteocondrose aos 18 meses.

**Quadro 1. Médias e erros padrão da concentração sérica de IGF-1 (ng/mL), insulina (mUI/mL), e plasmática de glicose (mg/dL) de potros PSL hígdios (G1) e potros PSL acometidos por osteocondrose (G2) de 1 a 18 meses de idade**

Meses	IGF-1(ng/mL)		Insulina(mUI/mL)		Glicose (mg/dL)	
	Hígdios	Osteocondrose	Hígdios	Osteocondrose	Hígdios	Osteocondrose
1	288 ab±98,9	287ab±66,8	11 bc±1,5	9 b±2,2	120 a±5,3	120 a±5,2
2	343 ab A±36,2	159ab B±28,4	14 bc A±1,8	6 b B±1,1	99 ab±5,3	102 ab±7,0
3	379 b±67,0	311 ab±115,8	14 bc±2,2	7 b±1,6	97 ab±4,6	94 abc±8,3
4	312 ab±46,0	172 ab±7,5	8 ac±1,1	10 a±1,0	96 b±3,4	69 bc±1,0
5	289 ab A±39,1	86 a B±44,7	7 a±1,1	7 ab±1,0	91 b±4,0	77 abc±1,0
6	219 a±33,8	114 a±7,5	7 a±1,2	9 ab±4,8	83 bc±4,0	83 abc±7,0
7	186 a±28,9	234 ab±41,4	8 a A±1,2	17 ab B±5,3	83 bc±3,0	79 bc±13,5
8	190 a±33,5	242 ab±70,4	11 b±1,5	19 ab±7,8	94 b±6,6	82 abc±2,0
9	233 a±35,9	196 ab±33,2	12 abc±4,4	14 ab±5,2	87 bc±5,2	88 bc±7,7
10	207 a±25,8	329 ab±82,5	19c±6,6	22 a±5,0	89 b±4,1	87 abc±8,6
12	280 ab±21,4	337 ab±67,2	10 abc±2,1	5 b±1,0	83 bc±3,2	90 abc±7,1
14	299 ab±39,6	396 b±78,4	14 abc±4,5	4 b±1,4	80 bc±5,0	89 abc±1,9
16	385 ab±44,5	304 ab±113,5	11 abc±3,8	3 b±0,8	84 bc±4,1	88 abc±3,8
18	269 ab±30,1	214 ab±73,8	16 abc±8,0	5 b±3,5	64 c±3,7	62 c±15,7

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna representam diferenças significativas entre os momentos de cada grupo (meses). Letras maiúsculas diferentes na mesma linha representam diferenças significativas entre os grupos em cada mês.

## IGF-1 sérico

Examinando-se os valores séricos de IGF-1 em potros hígdios (G1), foram observadas altas concentrações até 3 meses de idade (379 ng/ml), com um declínio constante até os 7 meses (186 ng/ml) ( $P < 0,05$ ). Entre o sexto e o décimo mês os valores de IGF-1 foram significativamente menores do que os valores aos 3 meses de idade ( $P < 0,05$ ). Após o 10<sup>o</sup> mês as concentrações de IGF-1 aumentaram até níveis similares aos neonatais, apresentando um pico no 16<sup>o</sup> mês (385ng/ml), e então apresentaram novamente uma queda ( $P < 0,05$ ) (Fig.1).

Observou-se um comportamento similar das concentrações de IGF-1 nos potros acometidos por osteocondrose (G2), com declínio nos valores de IGF-1 até os 5 meses de idade (86ng/ml) sem significância estatística, seguido por aumento constante na concentração, até um pico no 14<sup>o</sup> mês (396ng/ml,  $P < 0,05$ ), e então novamente uma queda (Fig.1).

Apesar dos valores séricos de IGF-1 nos potros com osteocondrose terem sido menores do que os valores dos potros hígdios dos dois aos seis meses de idade, a diferença entre os grupos somente foi significativa no 2<sup>o</sup> (G1= 343ng/ml; G2= 159ng/ml,  $P < 0,05$ ) e 5<sup>o</sup> mês de idade (G1= 289ng/ml; G2= 86 ng/ml,  $P < 0,05$ ) (Quadro 1).

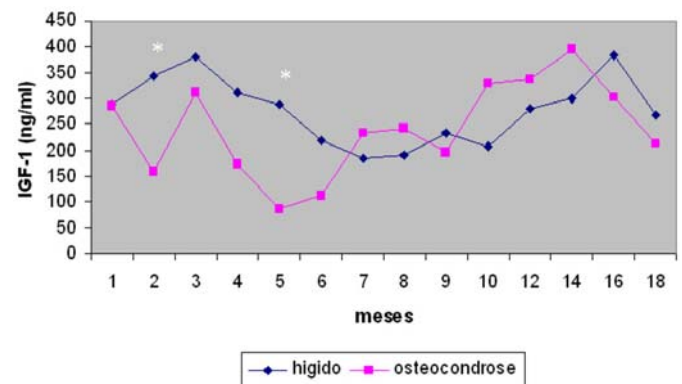


Fig.1. Médias da concentração sérica de IGF-1 (ng/ml) de potros PSL hígdios (G1) e potros PSL acometidos por osteocondrose (G2) de 1 a 18 meses de idade (\* diferença estatística;  $P < 0,05$ )

### Insulina sérica

Entre quatro e sete meses houve diminuição dos valores de insulina sérica nos potros hígdos ( $P < 0,05$ ) quando comparados aos valores entre um e três meses de vida. Em seguida observou-se um aumento contínuo desses valores até um pico no 10º mês (19 mUI/ml;  $P < 0,05$ ) (Fig.2).

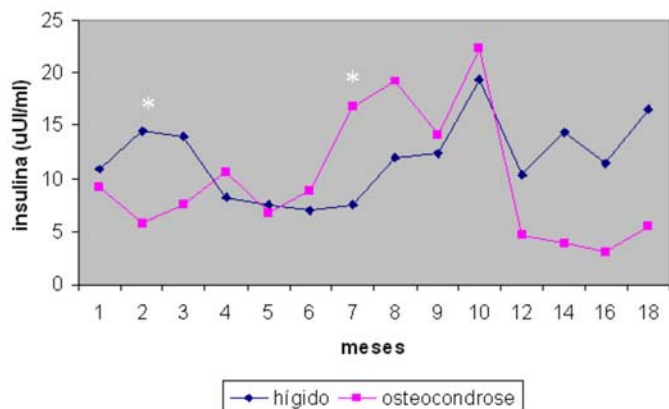


Fig. 2. Médias da concentração sérica de insulina (mUI/mL) de potros PSL hígdos (G1) e potros PSL acometidos por osteocondrose (G2) de 1 a 18 meses de idade (\* diferença estatística;  $P < 0,05$ )

Os potros com osteocondrose também apresentaram aumento contínuo dos valores de insulina a partir do sétimo mês até um pico aos 10 meses de idade (22 mUI/ml;  $P < 0,05$ ).

Os valores de insulina plasmática nos potros com osteocondrose foram menores do que os valores dos potros hígdos aos dois meses de idade ( $G1 = 14$  mUI/ml;  $G2 = 6$  mUI/ml,  $P < 0,05$ ), e maiores aos 7 meses ( $G1 = 8$  mUI/ml;  $G2 = 17$  mUI/ml,  $P < 0,05$ ) (Quadro 1).

A relação entre as concentrações plasmáticas de IGF-1 (ng/mL) e insulina (UI/mL) obteve coeficiente de correlação fraco ( $r = 0,1752$ ).

### Glicose plasmática

Ocorreu diminuição constante dos valores de glicose plasmática após o primeiro mês de idade tanto nos potros hígdos como nos acometidos por osteocondrose (Fig.3). Os valores plasmáticos de glicose entre os potros hígdos e com osteocondrose não diferiram estatisticamente ( $P > 0,05$ ) (Quadro 1).

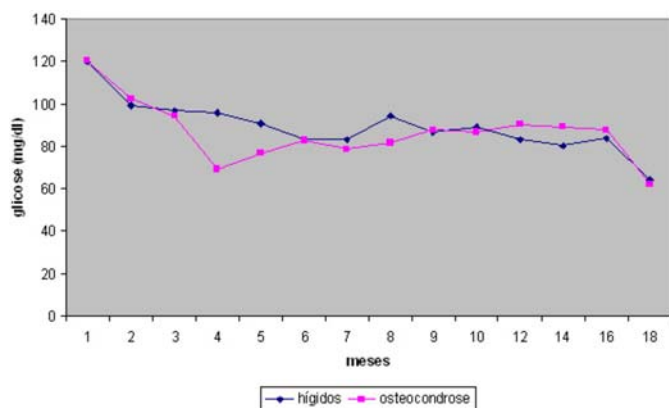


Fig.3. Médias da concentração de glicose plasmática (mg/dl) de potros PSL hígdos (G1) e potros PSL acometidos por osteocondrose (G2) de 1 a 18 meses de idade

### DISCUSSÃO

Já no primeiro mês de vida foi observado que vários potros PSL apresentavam alterações radiográficas, ou seja, respectivamente 43,3%, 30% e 26,7% dos potros apresentavam alterações na crista intermédia da tibia, crista troclear lateral do talus, e região central da crista tróclear lateral do fêmur. A regressão e resolução radiográfica destas lesões ocorreram principalmente até os cinco meses de idade na região central da crista troclear do fêmur e aspecto cranial da crista intermédia da tibia. Após este período ainda observaram-se casos de resolução até os 12 meses de idade, porém entre 12 e 18 meses as imagens radiográficas não se alteraram (Fig.4).

Vários autores sugerem que a etiologia da osteocondrose em potros está ligada a uma falha na vascularização local levando a necrose dos canais cartilagueos e necrose de condrócitos, segui-



Fig.4. Imagem radiográfica com projeção dorsomedial-plantarolateral da articulação tíbiotársica direita de um potro PSL de 12 meses acometido por osteocondrose. Evidência de fragmento grande e único na crista intermédia da tibia.

da de alteração da matriz cartilaguea (Olstad et al. 2007, Ytrehus et al. 2007). Sendo assim, as lesões da osteocondrose somente seriam formadas durante uma limitada janela de tempo, ou seja, durante o período onde a cartilagem epifisária é suprida por vasos sanguíneos vulneráveis (Ytrehus et al. 2007).

Como o desaparecimento dos canais cartilagueos significa o término do suprimento sanguíneo e início da ossificação endocondral, Fortier et al. (2005) concluíram que as medidas profiláticas para osteocondrose deveriam ser focadas nos primeiros meses de vida nos potros Puro Sangue Inglês, pois observaram, por meio de exame histopatológico, o desaparecimento dos canais cartilagueos em potros maiores que 7 meses.

A perda natural dos canais cartilagueos, antes da puberdade, pode tornar a cartilagem articular menos propensa a danos durante o rápido crescimento ósseo longitudinal na puberdade. Fortier et al. (2005) estabeleceram que, de acordo com as

concentrações de IGF-1 e IGFBP-3, potros Puro Sangue Inglês são considerados púberes entre 8,3 e 15 meses de idade. Esta relação deve-se ao fato da produção de IGF-1 também ser estimulada por andrógenos e estrógenos (Lejeune et al. 2007).

Os valores das concentrações séricas de IGF-1 nos potros PSL começaram a se elevar após 10 meses de idade, e alcançaram um pico entre 14 e 16 meses de idade, o que indica o início da puberdade. A queda que se observa após 16 meses pode ser parcialmente explicada pelo final do período púbere. Contudo, os dados obtidos neste trabalho não fornecem a idade final da puberdade e início do amadurecimento, pois aos 18 meses, os níveis de IGF-1 ainda encontravam-se elevados, sugerindo início mais tardio do amadurecimento. Puberdade é tecnicamente definida como o início da competência reprodutiva, porém segundo Brown-Douglas et al. (2004) existe dificuldade em se estabelecer uma idade exata do início da puberdade dentre as diferentes raças de cavalos devido a grande variedade de métodos utilizados para sua detecção, levando a inconsistências entre os estudos.

Este dado é importante pois ao final da puberdade observa-se uma cartilagem articular completamente desenvolvida, porém ela ainda continua a se remodelar estruturalmente até tornar-se madura, o que ocorre ao redor de 24 meses de idade em Puro Sangue Inglês (Fortier et al. 2005). Como os potros PSL apresentaram o início da puberdade entre 14 e 16 meses, e possivelmente um amadurecimento mais tardio, é de se esperar que a cartilagem articular nos potros PSL não esteja completamente desenvolvida aos 15 meses de idade como ocorre nos potros Puro Sangue Inglês.

Como já mencionado, a resolução radiográfica das lesões osteocondrais que estavam presentes no primeiro mês de vida dos potros PSL ocorreu em um número maior de articulações até cinco meses de idade. Neste período o IGF-1 sérico estava diminuído nos potros do grupo osteocondrose.

Partindo do pressuposto que o IGF-1 promove o crescimento e diferenciação dos condrócitos (Herson et al. 1997), sua baixa concentração sérica pode reduzir a diferenciação de condrócitos, e contribuir para o desenvolvimento da osteocondrose.

Segundo Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan et al. (1999) e Lejeune et al. (2007) potros com osteocondrose apresentam atividade de IGF-I significativamente menor que potros sadios. Como citado, os potros PSL com osteocondrose também apresentaram concentrações plasmáticas de IGF-1 menores que potros sadios, nos primeiros 6 meses de idade, sendo significativo aos dois e cinco meses.

O mecanismo de ação do IGF-1 é extremamente controlado pela sua disponibilidade ao redor das células, para que o mesmo possa promover crescimento e diferenciação dos condrócitos e influenciar no reparo cartilágneo (Fortier et al. 2001, Verwilghen et al. 2009b). Pode-se supor que nas articulações em que não havia quantidade suficiente de IGF-1 nos primeiros 6 meses de idade não foi possível a resolução das lesões.

Semevolos et al. (2001) observaram aumento na expressão de IGF-1 em cartilagens provindas de lesões osteocondrais, quando comparada a cartilagens normais. Porém, este aumento estava refletindo uma resposta cicatricial do tecido danificado e não uma alteração primária. A mesma observação foi feita por Verwilghen et al. (2009b), em níveis plasmáticos e estudando equinos de 15 meses a 10 anos. O aumento de IGF-1 observado após sete meses de idade nos potros com osteo-

condrose pode refletir uma cicatrização cartilágnea, ser influenciado pelos hormônios sexuais quando da proximidade com a puberdade, ou estar relacionado ao desmame e introdução de ração comercial.

Além do que foi exposto ressalta-se que a alta taxa metabólica dos condrócitos em proliferação implica em maior produção de espécies reativas de oxigênio (ROS). O acúmulo de ROS inibe a proliferação dos condrócitos em seus estágios finais de maturação e estimula sua hipertrofia (Morita et al. 2007), isto porque o excesso de ROS torna os receptores de IGF-1 insensíveis a este fator, ou seja, induzindo a hipertrofia precoce dos condrócitos e interferindo diretamente no processo de ossificação endocondral (Studer 2004). Resumidamente, altos níveis séricos de IGF-1 não garantem um ossificação endocondral satisfatória.

O IGF-1 plasmático também é influenciado pelo fornecimento energético da dieta (Stanjar et al. 2007). Lejeune et al. (2007) relatam que a deficiência de energia e/ou proteína, ou principalmente o desequilíbrio entre energia e proteína na dieta de potros entre 15 e 28 meses reduz a produção de IGF-1, mas não informam o que ocorreria nos potros com menos de seis meses.

É importante ressaltar que o manejo nutricional inapropriado de éguas durante a gestação pode afetar a dinâmica de glicose e insulina nos potros, levando-os a apresentar resistência a insulina e aparecimento de doenças metabólicas como a osteocondrose, decorrente de alterações no desenvolvimento de órgãos e sistemas que controlam o metabolismo energético (George et al. 2009).

George et al. (2009) também relatam que as mudanças na sensibilidade a insulina e dinâmica da glicose durante o período anterior ao desmame indica que o sistema metabólico dos potros ainda é relativamente plástico, sugerindo que a nutrição precoce pode ter papel em moderar os efeitos negativos do desenvolvimento fetal e ter um impacto na saúde a longo tempo. Logo, estudos focados no fornecimento de energia e/ou proteína de potros até seis meses de idade em criatórios com alta ocorrência de osteocondrose devem ser encorajados.

Reforçando a necessidade destes estudos, foi observado que os valores de insulina sérica eram significativamente inferiores nos potros acometidos por osteocondrose aos dois meses de idade comparativamente aos potros hígidos. Porém, a não regressão das lesões ou aparecimento das anormalidades radiográficas após 5 meses de idade também poderia estar relacionada a concentrações maiores de insulina sérica nos potros PSL entre 7 e 10 meses. Henson et al. (1997) sugerem que o papel da insulina é o de aumentar a sobrevivência dos condrócitos ou suprimir sua diferenciação e/ou apoptose na cartilagem de crescimento, diminuindo a velocidade com que as células entram na fase terminal de hipertrofia, e levando ao acúmulo de condrócitos hipertrofiados na cartilagem e à diminuição da velocidade de ossificação endocondral.

Os potros PSL foram desmamados aos seis meses de idade, quando foi introduzida ração comercial. Observando a Figura 2 nota-se um aumento significativo de insulina sérica nos potros acometidos por osteocondrose aos sete meses de idade. Isto poderia sugerir um maior aporte energético na dieta, criando uma resposta rápida de insulina pós-prandial, e aumento dos níveis circulantes de insulina, diminuindo assim os níveis

de tiroxina, o que também está associado à diminuição de IGF-1, possibilitando o desenvolvimento da osteocondrose (Ralston 1996, Shingleton et al. 1997, Treiber et al. 2005, Staniar et al 2007) ou dificultando a resolução das lesões osteocondrais.

A diminuição observada na concentração de glicose plasmática com o aumento da idade tanto nos potros hípidos como acometidos por osteocondrose refletiu a transição progressiva no substrato energético da dieta, ou seja, os potros começaram a ingerir mais forragens e menor quantidade de leite rico em lactose.

## CONCLUSÃO

Os potros Puro Sangue Lusitano com osteocondrose apresentam concentrações nitidamente menores de IGF-1 sérico nos primeiros seis meses de vida. Logo, como medida preventiva, recomenda-se que os exames radiográficos associados à mensuração dos níveis séricos de IGF-1 e insulina ocorram nesses primeiros meses, para que haja tempo hábil de se estabelecer medidas profiláticas e de tratamento.

## REFERÊNCIAS

- Brown-Douglas C.G., Firth E.C., Parkinson T.J. & Fennessy P.F. 2004. Onset of puberty in pasture-raised thoroughbreds born in southern hemisphere spring and autumn. *Equine Vet. J.* 36:499-504.
- Champion Z.J., Breier B.H., Ewen W.E., Tobin T.T. & Casey P.J. 2002. Blood plasma concentrations of insulin-like growth factor-I (IGF-1) in resting standardbred horses. *Vet. J.* 163:45-50.
- Fortier L.A., Kornatowski M.A., Mohammed H.O., Jordan M.T., O’Cain L.C. & Stevens W.B. 2005. Age related changes in serum insulin-like growth factor-I, insulin-like growth factor-I binding protein-3 and articular cartilage structure in Thoroughbred horses. *Equine Vet. J.* 37: 37-42.
- Fortier L.A., Balkman C.E., Sandell L.J., Ratcliffe A. & Nixon A.J. 2001. Insulin-like growth factor-I gene expression patterns during spontaneous repair of acute articular cartilage injury. *J. Orthop. Surg.* 19:720-728.
- Freestone J.F., Wolfshemer K.J. & Kaermerling S.G. 1991. Exercise induced hormonal and metabolic changes in thoroughbred horses: Effects of conditioning and acepromazine. *Equine Vet. J.* 23:219-223.
- Frisbie D.D., Ghivizzani S.C., Robbins P.D., Evans C.H. & McIlwraith C.W. 2002. Treatment of experimental equine osteoarthritis by in vivo delivery of the equine interleukin-1 receptor antagonist gene. *Gene Ther.* 9:12-20.
- George L.A., Staniar W.B., Treiber K.H., Harris P.A. & Geor R.J. 2009. Insulin sensitivity and glucose dynamics during pre-weaning foal development and in response to maternal diet composition. *Domestic Anim. Endocrinol.* 37:23-29.
- Grevenhof E.M., Ducro B.J., Van Weeren P.R., Tartwijk J.M.F.M., Belt A.J. & Bijma P. 2009. Prevalence of various radiographic manifestations of osteochondrosis and their correlations between and within joints in Dutch Warmblood horses. *Equine Vet. J.* 4:11-16.
- Henson F.M.D., Davenport C., Butler L., Moran I., Shingleton W.D., Jeffcott L.B. & Schofield P.N. 1997. Effects of insulin and insulin-like factors I and II on the growth of equine fetal and neonatal chondrocytes. *Equine Vet. J.* 29:441-447.
- Hurtig M.B. & Pool R.R. 1996. Pathogenesis of equine osteochondrosis, p. 362-383. In: McIlwraith C.W. & Trotter G.W. (Eds), *Joint disease in the horse*. W.B. Saunders, Philadelphia.
- Lejeune J.-Ph., Franck T., Gangl M., Scheider N., Michaux C., Deby-Dupont G. & Serteyn D. 2007. Plasma concentration of insulin-like growth factor I (igf-I) in growing Ardenner horses suffering from juvenile digital degenerative osteoarthropathy. *Vet. Res. Commun.* 31:185-195.
- Lepeule J., Bareille N., Robert C., Ezanno P., Valette J.P., Jacquet S., Blanchard G., Denoix J.M. & Seegers H. 2009. Association of growth, feeding practices and exercise conditions with the prevalence of developmental orthopaedic disease in limbs of French foals at weaning. *Prev. Vet. Med.* 89:167-177.
- Morita K., Miyamoto T., Fujita N., Kubota Y., Ito K., Takubo K., Miyamoto K., Ninomiya K., Suzuki T., Iwasaki R., Yagi M., Takaishi H., Toyama Y. & Suda T. 2007. Reactive oxygen species induce chondrocyte hypertrophy in endochondral ossification. *J. Exp. Med.* 204:1613-1623.
- Nap R.C., Mol J.A. & Hazewinkel H.A.W. 1993. Age-related plasma concentrations of growth hormone (GH) and insulin-like growth factor I (IGF-1) in great dane pups fed different dietary levels of protein. *Domestic Anim. Endocrinol.* 10:237-247.
- Olstad K., Ytrehus B., Ekman S., Carlson C.S. & Dolvik N.I. 2007. Early lesions of osteochondrosis in the distal tibia of foals. *J. Orthop. Res.* 25:1094-1105.
- Olstad K., Ytrehus B., Ekman S., Carlson C.S. & Dolvik N.I. 2008. Epiphyseal cartilage canal blood supply to the tarsus of foals and relationship to osteochondrosis. *Equine Vet. J.* 40:30-39.
- Ralston S.L. 1996. Hyperglycemia/hyperinsulinemia after feeding a meal of grain to young horses With Osteochondritis Dissecans (OCD) Lesions. *Pferdheilkunde.* 12:320-322.
- Sampaio I.B.M. 1998. *Estatística Aplicada à Experimentação Animal*. Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte. 221p.
- Semevolos S.A., Nixon A.J., Brent M.S. & Brower-Toland M.A. 2001. Changes in Molecular Expression of aggrecan and collagen types I,II, and X, insulin-like growth factor-I, and transforming growth factor-b1 in articular cartilage obtained from horses with naturally acquired osteochondrosis. *Am. J. Vet. Res.* 62:1088-1094.
- Shingleton W.D., Mackie E.J., Cawston T.E. & Jeffcott L.B. 1997. Cartilage canals I equine articular/epiphyseal growth cartilage and a possible association with dyschondroplasia. *Equine Vet. J.* 29:360-364.
- Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan M. M., Mol J. A. & Barneveld A. 1999. Hormones, growth factors and other plasma variables in relation to osteochondrosis. *Equine Vet. J.* 31(Suppl):45-54.
- Staniar W.B., Kronfeld D.S., Akers R.M. & Harris P.A. 2007. Insulin-like growth factor I in growing thoroughbreds. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 91:390-399.
- Studer R.K. 2004. Nitric oxide decreases IGF-1 receptor function *in vitro*: Glutathione depletion enhances this effect *in vivo*. *Osteoarthritis Cartilage* 12:863-869.
- Treiber K.H., Boston R.C., Kronfeld D.S., Staniar W.B. & Harris P.A. 2005. Insulin resistance and compensation in thoroughbred weanlings adapted to high-glycemic meals. *J. Anim. Sci.* 83:2357-2364.
- Van Der Harst M., Bull S., Brama P.A., Barneveld A.B., Van Weeren P.R., Van de Lest C. 2006. Nitrite and nitrotyrosine concentrations in articular cartilage, subchondral bone, and trabecular bone of normal juvenile, normal adult, and osteoarthritic adult equine metacarpophalangeal joints. *J. Rheumatol.* 33:1662-1667.
- Verwilghen D., Busoni V., Gangl M., Franck T., Lejeune J.P., Vanderheyden L., Detilleux J., Grulke S., Deberg M., Henrotin Y. & Serteyn D. 2009. Relationship between biochemical markers and radiographic scores in the evaluation of the osteoarticular status of warmblood stallions. *Res. Vet. Sci.* 87:319-328a.
- Verwilghen D.R., Vanderheyden L., Franck T., Busoni V., Enzerink E., Gangl M., Lejeune J.P., Galen G., Grulke S. & Serteyn D. 2009. Variations of plasmatic concentrations of Insulin-like Growth Factor-1 in post-pubescent horses affected with developmental osteochondral lesions. *Vet. Res. Commun.* 33(7):701-709b.
- Wittwer C., Hamann H., Rosenberger E. & Distl O. 2007. Genetic parameters for the prevalence of osteochondrosis in the limb joints of South German coldblood horses. *J. Anim. Breed. Genet.* 124:302-307.
- Ytrehus B., Carlson S. & Ekman S. 2007. Etiology and pathogenesis of osteochondrosis. *Vet. Pathol.* 44:429-448.