



Perfil bioquímico e nutricional do ácido glutâmico e da vitamina K no soro e no fígado de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade

Cibele Silva Minafra¹, George Henrique Kling de Moraes¹, Ana Cláudia Peres Rodrigues², Fernanda Alvares da Silva³, José Henrique Stringhini⁴, Cíntia Silva Minafra e Rezende⁴

¹ Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, UFV, CEP: 36571-000, Viçosa, MG.

² Departamento de Bioquímica, UFJF, Campus Universitário, Juiz de Fora, MG.

³ Ministério do Meio Ambiente - Recursos Genéticos.

⁴ Departamento de Produção Animal da Escola de Veterinária da UFG.

RESUMO - Foram investigados os efeitos nutricionais de dois níveis de ácido L-glutâmico (L-Glu) combinados a quatro níveis de vitamina K (vit. K) no soro e no fígado de pintos de corte machos, Hubbard, de 1 dia de idade, criados em baterias aquecidas recebendo dieta básica purificada suplementada com 6,25 e 12,5% de ácido glutâmico combinados a 0,02; 0,2; 2,0 e 20,0 mg de vit. K/kg. Duzentas e cinquenta e seis aves foram distribuídas em esquema fatorial 2×4 , em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições de oito aves. As concentrações de cálcio e a fosfatase alcalina (FA) no soro não diferiram aos 7, 14 e 21 dias de idade. Os níveis séricos de fósforo diferiram aos 21 dias de idade e foram maiores com 12,5% de ácido glutâmico. O peso de fígado foi maior nas aves alimentadas com a dieta com 6,25% de ácido glutâmico e 12,5% de ácido glutâmico + 0,02 mg vit. K/kg. Os níveis séricos de proteínas totais mantiveram-se muito abaixo do normal. As concentrações da enzima glutamato-piruvato transaminase (GPT) foram elevadas nas aves alimentadas com ácido glutâmico e vit. K nos níveis avaliados. A enzima alanina aminotransferase foi encontrada em concentração muito superior aos níveis considerados normais para aves alimentadas com dietas contendo ácido glutâmico e vitamina K nos níveis avaliados. Os níveis de vit. K estudados não afetaram a absorção de cálcio e fósforo e da enzima fosfatase alcalina nem o metabolismo do tecido ósseo. O nível de nitrogênio não-específico (ácido glutâmico) de 6,25% das dietas alterou o metabolismo do tecido ósseo, como resultado da maior concentração de fosfatase alcalina no soro das aves.

Palavras-chave: aves de corte, fosfatase alcalina, minerais, soro sanguíneo, tecido hepático, transaminase

Biochemical and nutritional profile of glutamic acid and vitamin K in serum and liver of broilers from 1 to 21 days

ABSTRACT - Nutritional effects of two levels of L-glutamic acid (L-Glu) combined with four levels of vitamin K (vit. K) in serum and the liver of chicks of day-old broilers, male, Hubbard, raised in brooded batteries, receiving basic purified diet supplemented with 6.25 and 12.5% of L-Glu combined with 0.02, 0.2, 2.0 and 20.0 mg vit. K/kg. Two hundred and fifty birds were allotted to completely randomized design in a 2×4 factorial arrangement, with four replications of eight birds each. Calcium and alkaline phosphatase (AP) enzyme concentrations in serum did not differ at 7, 14 and 21 days old. Serum phosphorus levels differed at 21 days and were higher with 12.5% L-Glu. Liver weight was higher in birds fed diet with 6.25% L-Glu and 12.5% L-Glu + 0.02 mg vit. K/kg. Total serum protein remained far below normal levels. Concentrations of the alanine aminotransferase enzyme were high in birds fed L-Glu and vit. K in the evaluated levels. Serum concentrations of alanine aminotransferase enzyme was much higher than that levels considered normal for birds fed diets containing L-Glu and vit. K, in the evaluated levels. Vitamin K levels affected nor the absorption of calcium and phosphorus and the AP enzyme neither the bone tissue metabolism. No-specific nitrogen level (glutamic acid) of 6.25% of the diets changed the metabolism of bone tissue, as a result of the higher concentration of alkaline phosphatase enzyme in the serum of birds.

Key Words: alkaline phosphatase, blood serum, liver tissue, minerals, poultry, transaminase

Introdução

Entre as diversas causas primárias de problemas de pernas em frangos (Morris, 1993), destaca-se o baixo teor

de aminoácidos não-essenciais. Aves submetidas a dietas purificadas com baixo teor de ácido L-glutâmico (L-Glu) por duas semanas apresentam alta incidência de problemas nas pernas.

A vitamina K (vit. K), co-fator para a enzima g-carboxilase, catalisa a conversão pós-síntese de resíduos específicos de ácido glutâmico a ácido g-carboxi-glutâmico (Gla) encontrado no tecido ósseo. Apesar de sua função biológica não ser totalmente conhecida, acredita-se que tenha importância na deposição de cálcio (Hauschka, 1996).

Enzimas séricas têm sido estudadas em patologias de várias etiologias. Entretanto, a disfunção bioquímica pode ocorrer sem modificações na estrutura celular. A atividade sérica enzimática pode aumentar por alterações de permeabilidade celular ou modificar-se em virtude da atividade específica intracelular da enzima sem provocar alteração na massa celular total (Kramer, 1989).

O raquitismo em aves é caracterizado pelo retardamento no crescimento corporal, pela atividade elevada de fosfatase alcalina (FA) no soro e pela severa distorção óssea (Hedstrom et al., 1986). Acredita-se que a fosfatase alcalina aumenta a concentração local de fósforo inorgânico ou ativa as fibras de colágeno, causando deposição de sais de cálcio. Em virtude da difusão no sangue, em geral, a fosfatase alcalina é um bom indicador da velocidade de formação óssea (Parthemore et al., 1993).

A fisiologia hepatocelular associa-se às transaminases, glutamato-oxaloacetato transaminase (GOT) e glutamato-piruvato transaminase (GPT), enzimas intracelulares, de rica concentração hepática, envolvidas no metabolismo de aminoácidos. Portanto, o teor protéico do fígado e a análise destas enzimas são recursos bioquímicos utilizados para verificar o bom funcionamento do órgão.

Na tentativa de controlar as disfunções ósseas e bioquímicas e as alterações do metabolismo, vários estudos são conduzidos para avaliar nutrientes, a fim de obter informações sobre cálcio, fósforo, fosfatase alcalina no soro sanguíneo, enzimas GOT, GPT e proteínas totais do fígado visando compreender o metabolismo hepático. Este estudo foi realizado para avaliar os efeitos da combinação de dois níveis de ácido glutâmico e quatro níveis de vitamina K da dieta sobre os níveis de cálcio e fósforo, a fosfatase alcalina no soro sanguíneo e as enzimas GOT, GPT e proteínas totais no fígado de pintos de 1 a 21 dias.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa. Duzentos e cinquenta e seis pintos de 1 dia, machos, Avian Farms foram pesados e distribuídos aleatoriamente nos tratamentos, que consistiram de uma dieta básica purificada (Tabela 1) contendo todos os aminoácidos essenciais (Baker & Han, 1994), minerais e vitaminas (exceto

Tabela 1 - Composição da dieta basal

Ingrediente	%
Aminoácidos essenciais ¹	9,77
Mistura vitamínica ²	3,45
Mistura mineral ³	9,98
Óleo de soja	15,00
Bicarbonato de sódio	1,00
Amido q.s.p.	60,80
Valores calculados	
Energia metabolizável	2.811 kcal
Proteínas: dietas com 6,25% ácido glutâmico	14,5%
dietas com 12,5% ácido glutâmico	20,1%
Relação cálcio:fósforo	1,94

¹ Aminoácidos (%): L-arginina - 1,20; L-histidina. HCl. H₂O - 0,42; L-lisina. HCl - 1,14; L-tirosina - 0,57; L-fenilalanina - 0,63; L-triptofano - 0,18; DL-metionina - 0,41; L-cistina - 0,41; L-treonina - 0,76; L-leucina - 1,26; L-isoleucina - 0,76; L-valina - 0,88; L-prolina - 0,50; glicina - 0,74.

² Mistura vitamínica (ingredientes - quantidade/kg dieta): colina 60% - 3,3 g; retinil palmitato - 5.000 UI; colecalciferol - 2.250 UI; D-a-tocoferil acetato - 22 UI; menadiona sódio bissulfito - variável; Inositol - 1,0 g; riboflavina - 9,0 mg; tiamina.HCl - 6,0 mg; pantotenato de cálcio - 20,0 mg; niacina - 50,0 mg; piridoxina - 8,0 mg; ácido fólico - 2,0 mg; biotina - 0,3 mg; B12 0,1% - 20,0 mg; BHT - 0,125 mg; excipiente - 30,0 g.

³ Mistura mineral (Ingredientes - quantidade/kg dieta): CaCO₃ - 18,65 g; CaHPO₄.2H₂O - 30,53 g; K₂HPO₄ - 11,20 g; NaCl - 6,00 g; FeSO₄ - 0,20 g; ZnO - 0,12 g; CuSO₄.5H₂O - 0,02 g; MnSO₄.H₂O - 0,51 g; KI - 0,04 g; MgCO₃ - 2,50 g; Na₂MoO₄.2H₂O - 1,00 g; Na₂SeO₃ - 0,22 mg; excipiente (casca de arroz) - 30,0 g.

vit. K) (Featherston & Rogler, 1978) e suplementada com dois níveis de ácido glutâmico (6,25 e 12,5%) combinados a quatro níveis de vit. K (0,02; 0,20; 2,0 e 20,0 mg/kg de dieta). Adotou-se um delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 × 4, composto de dois níveis de ácido glutâmico e quatro níveis de vit. K, cada um com quatro repetições de oito animais. As aves foram alojadas em baterias aquecidas com piso de tela elevado e receberam água e ração à vontade durante todo o período experimental de 21 dias. As aves e a ração foram pesadas no início do experimento e a cada semana após sua montagem.

Quando as aves atingiram 7, 14 e 21 dias de idade, foram feitas coletas do sangue, por punção cardíaca, de quatro animais de cada tratamento e a remoção e pesagem dos fígados, que foram numerados e congelados imediatamente em nitrogênio líquido. Em seguida, o sangue foi centrifugado (5.000 rpm por 10 minutos) e o soro foi separado e imediatamente congelado. As atividades das enzimas transaminases e proteínas totais no fígado, os teores de cálcio e fósforo e a atividade sérica enzimática da fosfatase alcalina foram determinados com *kits* reagentes comerciais obtidos no Laboratório Doles.

Resultados e Discussão

Não houve diferença estatística entre os níveis de cálcio aos 7, 14 e 21 dias de idade (Tabela 2), portanto, os níveis de ácido glutâmico e vitamina K não influenciaram os

níveis séricos desse mineral nas três idades avaliadas, o que permite considerar que não ocorreu raquitismo carencial atribuído a hipocalcemia fisiológica leve ou hipercalcemia compensatória.

Também não houve influência dos níveis de ácido glutâmico e vitamina C da dieta sobre os níveis séricos de fósforo aos 7 e 14 dias de idade (Tabela 3).

Tabela 2 - Íons-cálcio (mg/dL) no soro de pintos de corte alimentados com rações suplementadas com ácido glutâmico e vitamina K

Ácido glutâmico (%)	Vitamina K (mg/kg da dieta)			
	0,02	0,2	2,0	20,0
7 dias				
6,25	8,82	9,28	8,66	9,45
12,5	9,20	9,30	9,49	8,95
Média vitamina K	9,01	9,29	9,02	9,19
	P>0,05		CV = 7,96%	
14 dias				
6,25	7,94	8,35	7,80	8,50
12,5	8,28	8,37	8,54	8,05
Média vitamina K	8,11	8,36	8,17	8,28
	P>0,05		CV = 5,74%	
21 dias				
6,25	7,20	7,55	7,36	8,03
12,5	7,82	7,90	8,07	7,66
Média vitamina K	7,51	7,73	7,72	7,85
	P>0,05		CV = 6,77%	

* Médias seguidas por letras minúsculas diferentes diferem entre si pelo teste T a 5% de probabilidade.

Tabela 3 - Fósforo (mg/dL) no soro de pintos com 7, 14 e 21 dias de idade

Ácido glutâmico (%)	Vitamina K (mg/kg da dieta)			
	0,02	0,2	2,0	20,0
7 dias				
6,25	6,20	6,67	5,86	6,28
12,5	6,44	6,12	6,70	6,51
Média vitamina K	6,32	6,40	6,28	6,40
	P>0,05		CV = 13,27%	
14 dias				
6,25	4,96	5,37	5,05	5,02
12,5	5,15	4,89	5,36	5,21
Média vitamina K	5,06	5,13	5,21	5,12
	P>0,05		CV = 14,50%	
21 dias				
6,25	4,53ab	5,39ab	4,07b	4,66ab
12,5	4,88a	4,44a	4,82a	4,16a
Média vitamina K	4,71	4,92	4,45	4,41
	P<0,05		CV = 6,77%	

* Médias seguidas de letras minúsculas diferentes diferem pelo teste T a 5% de probabilidade.

Tabela 4 - Fosfatase alcalina (UI/L) no soro de pintos de corte alimentados com rações suplementadas com ácido glutâmico e vitamina K

Ácido glutâmico (%)	Vitamina K (mg/kg da dieta)			
	0,02	0,2	2,0	20,0
7 dias				
6,25	886,8	899,8	901,1	897,8
12,5	832,1	811,1	808,8	812,5
Média vitamina K	859,5	855,5	855,0	855,2
	P>0,05		CV = 4,53%	
14 dias				
6,25	784,1	793,8	793,6	786,8
12,5	723,3	703,8	703,9	703,8
Média vitamina K	753,7	748,8	748,8	745,3
	P>0,05		CV = 2,10%	
21 dias				
6,25	747,9	777,6	759,0	755,9
12,5	690,1	698,4	710,4	692,9
Média vitamina K	719,0	738,0	734,7	724,4
	P>0,05		CV = 6,77%	

* Médias seguidas por letras minúsculas diferentes diferem entre si pelo teste T a 5% de probabilidade.

No entanto, observou-se interação dos fatores aos 21 dias de idade, quando os valores sanguíneos foram maiores no nível de 12,5% de ácido glutâmico. Neste estudo, os níveis séricos de fósforo reduziram significativamente aos 21 dias de idade, o que significa uma quebra da relação 2:1 entre cálcio e fósforo, naturalmente nos organismos vivos e em estado de normalidade, demonstrando que, independentemente do percentual de ácido L-glutâmico, houve alteração do estado fisiológico normal para os níveis sanguíneos dos minerais. Verificou-se ainda que o aumento de vitamina K na dieta não alterou o balanço eletrolítico sérico das aves.

Os percentuais de ácido glutâmico e vitamina K não promoveram diferença nos níveis séricos de fosfatase alcalina sérica (Tabela 4). No entanto, com 6,25% de ácido glutâmico, as aves apresentaram menor concentração de cálcio e fósforo no soro sanguíneo aos 7, 14 e 21 dias de idade, o que não ocorreu para a fosfatase alcalina. Os maiores níveis séricos foram obtidos com 6,25% de ácido L-glutâmico.

Osteoblastos secretam grande quantidade de fosfatase alcalina quando há depósito ativo da matriz óssea. Acredita-se que essa enzima aumenta a concentração de fosfato inorgânico ou ativa fibras de colágeno para deposição de sais de cálcio. Em virtude da difusão de certa quantidade de fosfatase alcalina no sangue, o nível dessa enzima é, em geral, indicador da velocidade de formação óssea (Parthemore et al., 1993; Christenson, 1997).

Quando avaliados em conjunto os níveis de cálcio, fósforo e fosfatase alcalina, verificou-se que os níveis dos

minerais e da enzima no soro foram mais expressivos na primeira semana de idade das aves, o que sugere maior demanda do metabolismo e adaptação da ave à fase em que não há maturidade fisiológica. Ressalta-se que esses valores aumentaram, indicando que alterações do esqueleto estão relacionadas à remodelação óssea (Harper, 1994) em linhagens de frangos de corte de crescimento rápido.

Não houve diferença nos pesos do fígado aos 7 e 14 dias de idade (Tabela 5), porém, verificou-se significância para o peso aos 21 dias, provavelmente em virtude do crescimento da ave, em seu estado normal de desenvolvimento, quando há aumento considerável no peso.

A concentração normal sérica de proteínas totais no soro das aves varia de 3,0 a 6,0 g/dL (Tabela 6). Assim, houve divergência da normalidade nas três fases avaliadas, o que indica ser prudente formular rações com as combinações de ácido glutâmico 6,25% + 0,2 mg de vitamina K por kg de ração e ácido glutâmico 12,5% + 0,02 ou 2,0 mg de vitamina K por kg de ração na primeira semana de vida das aves para obtenção dos maiores níveis de proteína no tecido hepático. Valores baixos ou hipoproteïnemia estão associados a doenças hepáticas e nutricionais. Os valores encontrados para todas as fases de vida foram muito inferiores à normalidade, portanto, indicam alteração hepática grave. Além disso, houve diferença em todos os valores e níveis de ácido L-glutâmico e vitamina K proporcionaram hipoproteïnemia nas três fases. Segundo Batina et al. (1995), a diminuição das concentrações séricas de proteína e

albumina são indicadores confiáveis de hepatotoxicidade e inflamações agudas ou crônicas em frangos e perus.

Quando analisados os resultados da glutamato-oxaloacetato transaminase (GOT) ou aspartato aminotransferase no tecido hepático, foram encontrados valores de 203-267 aos 7 dias, 251-375 aos 14 dias e 253-345 aos 21 dias (Tabela 7). Borsa et al. (2006), por sua vez, definiram os valores de 259-332, 208-251, 202-325 para GOT nas fases de 7, 14 e 21 dias de idade, respectivamente, e concluíram que os níveis da enzima não são afetados pela idade das aves.

Com base nos resultados obtidos para a enzima glutamato-oxalacetato transaminase, é possível verificar que, tanto para o soro como para o tecido hepático, os valores foram semelhantes, o que é respaldado pelas informações obtidas no experimento conduzido por Borsa et al. (2006).

Aos 14 dias de idade, os valores foram maiores no nível de 12,5% de ácido glutâmico e nos níveis de 0,02; 0,2 e 20 mg de vitamina K/kg de ração. Esses resultados podem ser sinalizadores de danos ao tecido hepático, pois o aumento da GOT é indicativo bioquímico de alterações em hepatócitos. Ainda aos 21 dias de idade, os valores da enzima não indicaram alteração hepática, apesar de apresentarem diferença entre as dietas avaliadas.

A enzima GPT ou alanina aminotransferase, segundo Bush (1991), é o melhor indicativo de dano hepático em pequenos animais, porém, nem sempre é um fator de verificação deste tipo de alteração em aves, portanto, tem valor

Tabela 5 - Tecido hepático e peso do fígado (g) de pintos de corte alimentados com rações suplementadas com ácido glutâmico e vitamina K

Ácido glutâmico (%)	Vitamina K (mg/kg da dieta)			
	0,02	0,2	2,0	20,0
7 dias				
6,25	3,81	3,90	3,63	3,66
12,5	3,21	3,85	3,14	3,60
Média vitamina K	3,51	3,88	3,39	3,63
	P>0,05		CV = 15,89%	
14 dias				
6,25	6,76	6,21	6,78	6,54
12,5	7,17	7,03	7,09	5,02
Média vitamina K	6,93	6,62	6,93	5,78
	P>0,05		CV = 15,66%	
21 dias				
6,25	15,00	14,47a	14,46a	14,66a
12,5	22,72	12,85b	15,34b	14,60b
Média vitamina K	18,86	13,66b	14,90b	14,63b
	P<0,001		CV = 12,70%	

*Médias seguidas por letras minúsculas diferentes diferem entre si pelo teste T a 5% de probabilidade.

Tabela 6 - Tecido hepático e concentração de proteínas totais (mg/dL) em pintos de corte alimentados com rações suplementadas com ácido glutâmico e vitamina K

Ácido glutâmico (%)	Vitamina K (mg/kg da dieta)			
	0,02	0,2	2,0	20,0
7 dias				
6,25	40,29b	43,48a	39,42b	22,75c
12,5	32,33a	27,25b	33,33a	32,17a
Média vitamina K	36,31a	35,36a	36,38a	27,46b
	P<0,001		CV = 4,41%	
14 dias				
6,25	51,16c	74,21a	68,12b	38,27d
12,5	55,20b	52,32b	63,77a	45,36c
Média vitamina K	53,18b	63,27a	65,94a	41,81c
	P<0,001		CV = 3,75%	
21 dias				
6,25	31,30d	77,53a	70,15b	66,81c
12,5	62,60b	57,25c	67,25a	50,57d
Média vitamina K	61,95b	67,39a	68,70a	58,69c
	P<0,001		CV = 5,51%	

* Médias seguidas por letras minúsculas diferentes diferem entre si pelo teste T a 5% de probabilidade.

Tabela 7- Concentração de GOT (UI/L) de pintos de corte alimentados com rações suplementadas com ácido glutâmico e vitamina K

Ácido glutâmico (%)	Vitamina K (mg/kg da dieta)			
	0,02	0,2	2,0	20,0
7 dias				
6,25	199,9a	216,7a	201,6a	203,6a
12,5	206,7c	316,7a	295,3a	247,0b
Média vitamina K	203,3c	266,7a	248,5ab	225,3bc
	P<0,001		CV = 8,69%	
14 dias				
6,25	248,7b	245,0b	252,5b	355,0b
12,5	272,5b	506,3a	250,0b	190,0c
Média vitamina K	260,6b	375,6a	251,3b	272,5b
	P<0,001		CV = 6,25%	
21 dias				
6,25	237,4b	244,4b	235,1b	358,5a
12,5	270,0b	285,1b	285,1b	331,7a
Média vitamina K	253,7b	264,7b	260,1b	345,0a
	P<0,001		CV = 5,17%	

* Médias seguidas por letras minúsculas diferentes diferem entre si pelo teste T a 5% de probabilidade.

Tabela 8 - Concentração de GPT (UI/L) em pintos de corte alimentados com rações suplementadas com ácido glutâmico e vitamina K

Ácido glutâmico (%)	Vitamina K (mg/kg da dieta)			
	0,02	0,2	2,0	20,0
7 dias				
6,25	74,4 b	81,1a	84,7a	76,0 b
12,5	72,3a	75,8a	74,4a	72,2a
Média vitamina K	73,3b	78,4a	79,5a	74,1b
	P<0,05		CV = 3,12%	
14 dias				
6,25	72,5a	73,8a	76,3a	61,3b
12,5	72,5b	72,5b	88,8a	85,0a
Média vitamina K	72,5b	73,1b	82,5a	73,1b
	P<0,05		CV = 7,42%	
21 dias				
6,25	76,7	79,1	79,1	86,0
12,5	61,6	65,1	72,1	72,1
Média vitamina K	69,18b	72,09ab	75,58ab	79,06a
	P>0,05		CV = 8,19%	

* Médias seguidas por letras minúsculas diferentes diferem entre si pelo teste T a 5% de probabilidade.

limitado para o diagnóstico bioquímico nesta espécie animal (Willard et al., 1993).

Borsa et al. (2006) definiram esses valores para glutamato-piruvato transaminase (GPT) no soro de 2-13, 9-22 e 14-34 para aves aos 7, 14 e 21 dias, respectivamente, o que revela resultados divergentes quanto aos parâmetros bioquímicos de normalidade para esta enzima no tecido hepático. Todos os valores encontrados mantiveram-se em limites superiores aos considerados normais (Tabela 8), o que pode indicar possíveis alterações do fígado e de seu metabolismo nas aves analisadas.

Esses resultados sugerem que a combinação de ácido glutâmico e vitamina K nos níveis avaliados pode predispor a altos níveis séricos de GPT e, conseqüentemente, a disfunções hepáticas, de metabolismo e de formações ósseas decorrentes da desordem metabólica instaurada na fase inicial de vida de pintos de corte.

Conclusões

Os níveis de vitamina K estudados não afetam a absorção de cálcio e fósforo e da enzima fosfatase alcalina pelas células intestinais nem o metabolismo do tecido ósseo. O nível de nitrogênio não-específico (L-Glu) de 6,25% das dietas altera o metabolismo do tecido ósseo, em virtude da maior concentração de fosfatase alcalina no soro das aves.

Literatura Citada

BATINA, P.N.; LOPES, S.T.A.; SANTURIO, J.M. et al. Efeitos da adição de montmorilonita sódica na dieta sobre o perfil bioquímico de frangos de corte intoxicados com aflatoxina. **Ciência Rural**, v.35, n.4, p.826-831, 2005.

BORSA, A.; KOHAYAGAWA, A.; BORETTI, L.P. et al. Níveis séricos de enzimas de função hepática em frangos de corte de criação industrial clinicamente saudáveis. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.4, p.675-677, 2006.

BUSH, B.M. **Interpretation of laboratory results for small animal clinicians**. Oxford: Blackwell Scientific, 1991. 200p.

CHRISTENSON, R.H. Biochemical markers of bone metabolism: an overview. **Clinical Biochemistry**, v.30, p.573-593, 1997.

HARPER, H.A. **Manual de química fisiológica**. 7.ed. São Paulo: Atheneu, 1994. 529p.

HAUSCHKA, P.V. Osteocalcin: the vitamin K dependent calcium binding protein of bone matrix. **Haemostasis**, v.16, p.258-272, 1996.

HEDSTROM, O.R.; CHEVILLE, N.F.; HORST, R.L. Pathology of vitamin D deficiency in growing turkeys. **Veterinary Pathology**, v.23, p.485-498, 1986.

KRAMER, J.W. Clinical enzymology. In: KANEKO, J.J. (Ed.) **Clinical biochemistry of domestic animals**. San Diego: Academic Press, 1989. p.338-63.

MORRIS, M.P. National survey of leg problems. **Broiler Industry**, v.93, n.5, p.20-24, 1993.

PARTHMORE, J.G.; BURTON, D.W.; DEFTOS, L.J. Associations and dissociations between serum bone Gla protein and alkaline phosphatase in skeletal metabolism. **Journal of Orthopaedic Research**, v.11, p.671-676, 1993.

WILLARD, M.D. Afecciones gastrointestinales, pancreáticas y hepáticas. In: WILLARD, M.D.; TVEDTEN, H.Y.; TURNWALD, G. (Eds.) **Diagnóstico clínico-patológico práctico en los animales pequeños**. Buenos Aires: Intermédica, 1993. p.213-257.