

**COMPARACIÓN DE VALORES DE CALCIO, EXCRECIÓN FRACCIONAL DE
FÓSFORO Y PARATHORMONA EN YEGUAS ESPAÑOLAS, CON Y SIN
SUPRESIÓN DE SUPLEMENTACIÓN MINERAL A LAS 24, 48, 72 Y 96 HORAS**

VIVIANA CASTILLO VANEGAS

TOMÁS VÁSQUEZ MARÍN

MARIA PATRICIA ARIAS

Magister en veterinaria equina

**UNIVERSIDAD CES
MEDELLÍN
2018**

Resumen

En Colombia es común encontrar pasturas que contienen altos niveles de oxalatos, los cuales causan en equinos una disminución en la absorción del calcio, además, con frecuencia, se observan dietas desbalanceadas con respecto al calcio y al fósforo, lo cual causa una serie de adaptaciones metabólicas para poder mantener la homeostasis de las concentraciones de calcio extracelular, provocando una enfermedad que se conoce como hiperparatiroidismo secundario de origen nutricional (HNS). La medición de excreción fraccional de fósforo está catalogada como la prueba diagnóstica "*gold standard*" del HNS, aunque los parámetros normales de paratohormona (PTH) sérica también son útiles para determinar su cronicidad. El objetivo del presente estudio fue comparar los valores de la excreción fraccional de fósforo y niveles de PTH en yeguas españolas, con y sin supresión de suplementos minerales a las 24, 48, 72 y 96 horas. Se realizó un ensayo clínico controlado con un grupo de 6 yeguas con suplementación de calcio y un grupo igual con supresión de consumo de minerales 5 días antes de comenzar el estudio, período durante el cual se midieron los valores de fósforo sérico, urinario y creatinina para determinar la excreción fraccional de fósforo, calcio sérico y PTH cada 24 horas. Los resultados arrojaron cambios significativos en los niveles de PTH ($p < 0,05$) durante los días 2 y 3 de estudio en el grupo experimental, mientras que la excreción fraccional de fósforo no mostró cambios significativos durante el tiempo de estudio en los dos grupos de estudio. Se pudo establecer que en esta población de yeguas la medición de PTH resultó mostrar cambios más tempranos que la excreción fraccional de fósforo en yeguas bajo supresión mineral, por lo cual es importante continuar con este tipo de estudios para establecer cuál podría ser la prueba para el diagnóstico temprano de HSN en equinos.

Palabras clave: hiperparatiroidismo secundario nutricional, desbalance mineral, osteodistrofia fibrosa, paratohormona.

Introducción

El HNS es una enfermedad que afecta el metabolismo normal del calcio, fósforo y la secreción de PTH en equinos (Barry D, 1997). Esta enfermedad causa alteraciones en la densidad de los huesos, derivando en problemas que van desde claudicaciones cambiantes, hasta deformidades irreversibles de los huesos planos (osteodistrofia fibrosa) y del dorso, además se producen fracturas espontáneas (Ramirez S, 1997). Las yeguas tienen mayor predisposición a desarrollar estas patologías debido a sus particularidades fisiológicas (gestación y lactancia) y además la raza española, a causa de su talla y curva de crecimiento lo cual tiene un alto impacto económico en la producción equina (Reed SM et al, 2011). Se ha descrito que los desbalances en la relación ideal de calcio: fósforo en la dieta, la presencia de los oxalatos y fitatos en el forraje y el consumo de sub-productos de molinería de granos podrían ser factores detonantes en la aparición del HNS (Toribio R, 2010). Las características mencionadas son propias del manejo que se le da a los ejemplares equinos en Colombia, lo cual podría estar favoreciendo la presentación de esta enfermedad en el país.

En Australia, Nueva Zelanda y Hawai se ha identificado que los caballos que consumen pasturas ricas en oxalatos como *Pennisetum clandestinum* presentan desbalances de calcio y fósforo en la dieta, y por ende, tienen un riesgo mayor de desarrollar HNS (Pennington, 2011). Aunque se han descrito estos factores como potencialmente asociados al HNS, no se han realizado diagnósticos concluyentes que permitan determinar acciones preventivas y/o correctivas para reducir la aparición de esta enfermedad, especialmente considerando que el diagnóstico temprano permitiría una corrección del desbalance mineral, antes de que los síntomas de osteodistrofia aparezcan generando daños irreversibles (Jaramillo C, 2015).

Aunque se ha demostrado que la excreción fraccional de fósforo y la medición de la PTH son útiles para diagnosticar el HNS en otros países del mundo (Rossdale, 2006), no está claro si el uso de suplementos minerales afecta los resultados con respecto a la supresión de los elementos menores en la dieta. Es de esperar que

los minerales en la dieta tengan un efecto directo sobre los niveles de fósforo en sangre u orina, de ahí que, algunos autores recomiendan el retiro de la suplementación antes de la medición de la excreción fraccional de fósforo (Toribio R, 2012). Sin embargo, aún no es claro el efecto del retiro de estos suplementos en la excreción fraccional de fósforo, al igual que los márgenes de tiempo que se deben tener en cuenta para dicho retiro, pudiendo ser determinante en los resultados obtenidos y en la confianza diagnóstica de esta prueba.

En la zona del Oriente Antioqueño de Colombia donde hay una alta población caballar que se alimenta de pasturas como Kykuyu (*Pennisetum clandestinum*) y Pangola (*Digitaria decumbens*) se describen reportes de casos clínicos de caballos con HNS asociados a desbalances de minerales en la dieta (Jaramillo C, 2015). Los pastos ricos en oxalatos y fitatos quelan el calcio en la luz intestinal impidiendo su adecuada absorción (Lawrence L.A, 2000). La abundancia de pasturas ricas en oxalatos, sumado a un exceso de fósforo en la dieta por el suministro de granos y sales minerales, alteran la disponibilidad y absorción de calcio, predisponiendo así la aparición del HNS (Toribio, 2010).

Este estudio busca comparar los niveles calcio sérico, la excreción fraccional de fósforo y la PTH sérica en yeguas de Para Raza Española del Oriente Antioqueño con y sin supresión de suplementación mineral en la dieta durante 5 días para determinar la excreción fraccional de fósforo y PTH a las 24, 48, 72 y 96 horas.

Metodología

Tipo de estudio

Ensayo clínico controlado.

Población

La población objeto de estudio fue de aproximadamente 230 yeguas de raza española ubicadas en el Oriente Antioqueño y registradas en una Asociación de Criadores de Caballos Españoles (AMPRA, 2014).

Muestra

Se tomó una muestra por conveniencia de 12 yeguas adultas Pura Raza Española pertenecientes a un criadero ubicado en el municipio de La Ceja, Antioquia, Colombia. La dieta estaba basada en dos raciones de concentrado comercial para equinos a mañana y tarde (2,5 a 4 kg al día según su peso), pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) *ad libitum* y agua a voluntad. La diferencia esencial fue que el grupo control recibió durante el estudio el calcio comercial que se suministra regularmente en el criadero, y en el grupo experimental se suprimió suplementación mineral alguna.

Los animales fueron divididos en 2 grupos de 6 hembras cada uno, de la siguiente manera: el grupo experimental (Exp) fue sometido a supresión de suplementación mineral desde 5 días antes de la toma de las muestras, mientras el grupo control (C) recibió la suplementación tradicional del criadero con calcio comercial. Se excluyeron las yeguas que se encontraban bajo entrenamiento físico precompetitivo para evitar alteraciones en los valores de creatinina, y también aquellas que según la información de la historia clínica, presentaron alteraciones renales o hepáticas en el último año.

Protocolo experimental:

El presente proyecto fue aprobado por el comité institucional de ética CICUA de la Universidad CES, en el acta N° 22 del 22 de agosto de 2016.

Posterior a la selección de los individuos y la verificación del cumplimiento de los criterios de inclusión, se procedió a socializar la investigación con el propietario y se solicitó la supresión mineral 5 días antes de iniciar el estudio. Luego se realizó un examen clínico general y se tomaron muestras de sangre venosa en tubo tapa lila para realizar un hemo-leucograma y química sanguínea (AST, GGT, BUN y Creatinina) verificar el estado de salud de los animales seleccionados.

Se tomaron muestras de sangre y orina cada 24 horas durante 5 días. Para la toma de muestras de sangre se realizó veno-punción de la vena yugular previa

desinfección, utilizando aguja desechable para vacutainer calibre 21 con camisa y ensamble para tubos tapa roja y tapa lila.

Para tomar las muestras de orina se introdujo una sonda vesical de la siguiente manera: la cola fue envuelta en vendaje autoadhesivo, la región perineal y la región externa de la vagina se lavaron con abundante agua, usando guantes de látex, se realizó aplicación de jabón yodado y se froto dicha región hasta obtener abundante espuma, y luego se enjuagó con abundante agua, el procedimiento se realizó dos veces, luego la región fue secada con papel. Usando guantes de látex limpio y lubricante estéril se sondeó la vejiga con una sonda *Levin*® calibre 22 y se obtuvo la muestra de 5 ml de orina por cada yegua que luego se depositó en tubos desechables tapa roja. Las muestras se conservaron en nevera a 4°C, se transportaron hasta el laboratorio clínico donde se procesaron.

Calcio, Excreción Fraccional de Fósforo y PTH

Se midieron los valores séricos de calcio y los valores séricos y urinarios de fósforo por medio de Método Directo para la Determinación Cuantitativa de Fósforo por Ultravioleta (IVD). La medición de calcio en suero se determinó por medio del Método Colorimétrico en Medio Alcalino. Los valores de creatinina se midieron mediante el Método Cinético Colorimétrico, en el equipo *Chromate 4300*®. Todos los análisis se realizaron en el Laboratorio Clínico Veterinario Vitalab SAS. Para determinar la excreción fraccional de fósforo se utilizó la fórmula de Reed et al., 2010:

$$\frac{\text{Concentración de fósforo en orina} \times \text{Concentración de creatinina en suero}}{\text{Concentración de fósforo en suero} \times \text{Concentración de creatinina orina}} \times 100$$

La concentración sérica de PTH se midió mediante Quimioluminiscencia Intacta.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis univariado para cada una de las variables y se determinó la normalidad de los datos. Para las variables cuantitativas normales se utilizó las medidas de tendencia central y de dispersión (media y DS) de acuerdo con las

pruebas de normalidad realizadas previamente. Se realizó ANOVA para comparar los valores de calcio, de la excreción fraccional de fósforo y de PTH a las 24, 48, 72 y 96 horas con respecto al valor basal (en el tiempo) y pruebas de *t-student* para comparar los valores entre ambos grupos.

Se estableció una significancia estadística de $p < 0,05$.

La información se consignó inicialmente en *Microsoft Excel*®; para luego hacer el análisis estadístico en *SPSS 21,0*® (Licencia Universidad CES).

Resultados

En el presente estudio no se presentó diferencia significativa en los niveles de calcio en suero entre el grupo experimental y grupo control ni durante el tiempo de estudio. No se presentó diferencia en los niveles de excreción fraccional de fósforo entre ambos grupos ni al evaluar el tiempo de estudio.

Se presentó diferencia significativa en los niveles de PTH entre el grupo control y el grupo experimental en los días 2 y 3 del estudio. Además, en el grupo experimental se presentó un aumento significativo en los niveles de PTH en los días 2 y 3 con respecto a los valores medidos el primer día del estudio, mientras en el grupo control no se observó cambios significativos de los niveles de PTH en el tiempo con respecto a los valores basales.

Tabla 1. Niveles de calcio en suero en ambos grupos.

Niveles de calcio en suero en mg/dl durante 5 días en las yeguas de ambos grupos.					
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
Grupo Exp	11,09±0,85	11,67±0,63	11,0±1,66	11,69±0,92	11,80±0,69
Grupo C	10,86±0,29	11,30±0,41	11,86±0,52	11,81±1,03	11,48±0,97

Tabla 2. Se pueden observar los valores promedio y la desviación estándar de PTH de ambos grupos.

Niveles de PTH en sangre en pg/ml durante 5 días en yeguas con suplementación con calcio (Ca) y sin suplementación mineral (control).					
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
Grupo C	55,44±25,43	39,16±5,78 ^a	39,17± 19,18 ^a	47,08±39,16	55,78±6,30
Grupo Exp	79,88±20,9	106,89±95,37 ^{ab}	142,01±17,57 ^{ab}	56,99±34,84	32,21±14,85

Valores con significancia estadística entre grupos (a) y en el tiempo (b). ^{ab}p<0,05.

Tabla 3. Se pueden observar los resultados de la excreción fraccional de fósforo del grupo control durante los 5 días de estudio.

Niveles de creatinina y fósforo en sangre y orina, y excreción fraccional de fósforo en las yeguas del grupo control durante 5 días.					
	Creatinina sérica	Creatinina en orina	Fósforo sérico	Fósforo en orina	Excreción fraccional de P
Día 1	2,18±1,32	175,90±52,11	2,82±0,95	4,75±2,46	1,92±0,56
Día 2	1,42±0,18	230,93±51,08	4,61±0,90	8,88±2,24	1,22±0,35
Día 3	1,62±0,21	289,88±58,52	4,57±1,38	12,26±2,69	1,62±0,51
Día 4	1,45±0,20	296,88±54,23	4,33±1,60	12,98±2,51	1,80±0,60
Día 5	1,82±0,18	281,88±61,40	4,62±1,76	13,01±2,13	1,73±0,76

Valores con significancia estadística entre grupos (a) y en el tiempo (b). ^{ab}p<0,05.

Tabla 4. Se pueden observar los resultados de la excreción fraccional de fósforo del grupo experimental durante los 5 días de estudio.

Niveles de creatinina y fósforo en sangre y orina, y excreción fraccional de fósforo durante 3 días en las yeguas del grupo experimental.					
	Creatinina sérica	Creatinina en orina	Fósforo sérico	Fósforo en orina	Excreción fraccional de P
Día 1	1,60±0,07	190,92±47,49	3,36±0,76	9,25±2,47	2,51±0,88
Día 2	1,47±0,05	242,55±40,41	4,52±0,62	14,53±2,61	1,99±0,39
Día 3	1,62±0,09	283,17±41,94	3,43±1,39	15,47±5,54	2,72±0,71

Día 4	1,56±0,06	279,53±39,65	4,12±0,98	13,05±3,28	2,24±0,60
Día 5	1,81±0,05	288,61±38,43	4,01±0,66	14,33±2,32	2,37±0,55

Valores con significancia estadística entre grupos (a) y en el tiempo (b). ^{ab}p<0,05.

Discusión

La región del Oriente Antioqueño de Colombia concentra una población importante de caballos de Pura Raza Española (PRE). Las razas pesadas en particular presentan una susceptibilidad al HNS (Pozza, 2014). En el Oriente Antioqueño se encuentran presentes los principales factores de riesgo para la presentación de HNS, como lo son: pasturas con altos niveles de oxalatos y fósforo fítico, desbalances minerales en la dieta y uso indiscriminado de suplementos minerales (Pozza, 2014). De acuerdo con los estándares de la raza PRE (FEI, 2011), las yeguas reciben una alta puntuación en competencias según las características de conformación de la cara y alzada, además de ser castigados por enfermedades ortopédicas del desarrollo (OCD). Es por esto que las deformidades óseas en los animales que presentan HNS tienen un alto impacto en esta población y generan grandes pérdidas económicas debido a la desvalorización de los animales, los costos de los tratamientos médicos y los problemas ortopédicos.

En el presente estudio se logró establecer que la prueba de la excreción fraccional de fósforo, aún bajo supresión mineral durante 5 días, no mostró cambios significativos durante el tiempo de estudio, mientras que la medición de PTH mostró cambios significativos en las yeguas bajo supresión mineral a los dos días de haber retirado la suplementación mineral, por lo cual se sugiere continuar con estudios que permitan establecer si la medición de PTH es una prueba de mayor utilidad para el diagnóstico temprano del HNS en equinos.

El grupo control recibió durante el estudio el calcio comercial que se suministra regularmente en el criadero, razón por la cual no se esperaban variaciones

importantes en el nivel de calcio sérico, ni tampoco en la concentración plasmática de PTH ni la excreción fraccional de fósforo. Sin embargo, en este grupo se pudo observar una tendencia hacia la disminución en los niveles de PTH a los días 2 y 3 del estudio, aunque no hubo diferencias significativas. Esta es una respuesta inesperada para los investigadores, pero si se tiene en cuenta que la concentración sérica de calcio, aunque es el principal factor regulador de la liberación de PTH no es el único que interviene en ésta, es posible observar que no siempre existe una relación entre calcio libre y PTH (Toribio, 2011). Es factible que otros factores sean responsables de la variación de PTH, ya que su liberación está bajo el control de varios reguladores.

Uno de los factores que interviene en la liberación de PTH es el fósforo, aunque no hay efectos directos, su aumento provoca una disminución del calcio libre al formarse fosfato cálcico, lo cual disminuye el calcio plasmático libre, principal estímulo para la secreción de PTH (Berne, 2013). En el presente estudio se observó una tendencia al aumento de los niveles séricos de fósforo al día 2 y, aunque éste incremento no fue significativo, coincidió con el aumento de la liberación de PTH el mismo día. No se evidenció una variación del calcio total, pero el calcio libre no se midió en el presente estudio, y esto fue una limitación para poder concluir el papel del fósforo en la secreción de PTH bajo estas condiciones experimentales.

Otros factores que intervienen en la liberación de PTH, como el magnesio, las catecolaminas, la dopamina, la secretina y la histamina, tampoco fueron determinados en este ensayo, pero no se puede descartar que estos influyeron también en la liberación de PTH. Por ejemplo: se sabe que una disminución de la concentración plasmática de magnesio estimula, similar a como sucede con el calcio, la liberación de PTH (Berne, 2013). En cuanto a las catecolaminas, éstas estimulan la secreción de PTH, como también lo hacen la histamina, la dopamina, la secretina y la prostaglandina E₂. No se puede concluir para este estudio que estos factores influyeron en la liberación y por ende, en la concentración de PTH.

En las yeguas del grupo experimental se encontró un aumento significativo en los niveles de PTH a los días 2 y 3 del estudio, a pesar de no evidenciarse cambios significativos en el nivel sérico de calcio. Lo anterior puede explicarse porque la liberación de PTH en respuesta a la disminución del calcio libre se realiza en el orden de minutos a través del mecanismo regulador mediado por el AMPc. Igual efecto, aunque con menor potencia tiene el magnesio. Esta rápida liberación de PTH estimula la resorción ósea con el fin de regular, de una manera muy efectiva, los valores del calcio sérico libre, por lo cual, no es posible detectar en este corto periodo de tiempo dichas variaciones del calcio sérico (Gannong, 2014).

Este estudio permitió establecer que a los dos días de disminuir la suplementación mineral en la dieta hubo un aumento significativo de la liberación de PTH, mientras que la excreción fraccional de fósforo no cambió significativamente en el tiempo. Los valores de referencia para la excreción fraccional de fósforo tienen origen en estudios realizados en Australia, además, no existe claridad en la metodología del tiempo de la supresión con respecto al consumo de minerales para poder tomar la muestra y evitar obtener resultados alterados por la suplementación, por lo cual hay un margen de error en la interpretación de los resultados y su valor diagnóstico (Toribio, 2011).

A pesar que la excreción fraccional de fósforo ha sido sugerida como la mejor prueba diagnóstica disponible en equinos, con respecto a ella, algunos autores plantean dudas acerca de su utilidad. Según los resultados aquí presentados, la medición de PTH parece cambiar más rápidamente ante la disminución de calcio en la dieta que la excreción fraccional. Parece paradójico ya que como se mencionó anteriormente, los resultados no muestran grandes cambios del calcio sérico, sin embargo, vale la pena retomar que la rápida regulación de este ion por parte de la misma PTH con ayuda del calcitriol (Gannong, 2014) (no medido en este estudio) impiden ver las variaciones diarias del mismo.

En humanos se ha documentado que la secreción de PTH presenta un ritmo circadiano independiente al nivel de calcio libre, encontrándose una liberación máxima en las horas de la noche, presentándose niveles nocturnos dos veces superiores a los diurnos, e incluso, se han descrito episodios secretores que se correlacionan con la fase 3 y 4 del sueño, que posiblemente se deben a que existe un control nervioso mediado por terminales simpáticas que expliquen el comportamiento circadiano de la secreción (Cavalier, 2015). En equinos sin embargo no se ha descrito si existe esta influencia del ritmo circadiano en la liberación de PTH. Aunque no era objetivo del presente estudio, para evitar falsas interpretaciones, se midieron todas las variables en las horas de la mañana cuando teóricamente los niveles de secreción no se encuentran bajo esta influencia del sueño. Sería importante considerar la influencia del ritmo circadiano como un factor determinante en los resultados de la medición de PTH.

Se puede concluir que el tiempo de supresión de consumo de minerales no es un factor determinante en el presente estudio para variaciones en la excreción fraccional de fósforo; sin embargo, al analizar los resultados de la PTH, su variación temprana es sugestiva de la presentación de estadios iniciales de la enfermedad.

Ahora bien, para determinar el valor de PTH como prueba diagnóstica temprana del HNS es importante continuar con estudios similares a este con un mayor tamaño muestral. Ya que el HNS es una enfermedad de origen nutricional caracterizada por una excesiva liberación de la hormona PTH en respuesta a la disminución del nivel sérico libre o calcio ionizado en la sangre, es importante además continuar con este tipo de estudios clínicos midiendo tanto el calcio ionizado como el calcio total. Vale la pena esclarecer también si esta prueba diagnóstica se puede implementar en poblaciones equinas expuestas a una alimentación con forrajes ricos en oxalatos y fitatos o a desbalances en la proporción calcio: fósforo en la dieta, la proporción de minerales en el suelo, y el uso indiscriminado de suplementos minerales.

Conclusión

La medición de PTH evidenció cambios más tempranos que el resultado de la excreción fraccional de fósforo en yeguas bajo supresión mineral, por lo cual es importante continuar con este tipo de ensayos clínicos para establecer si la medición de PTH puede ser considerada la prueba *gold standard* para el diagnóstico temprano del HSN en equinos, relacionado el resultado con los factores de riesgo y la ruta de correlación clínica.

Referencias Bibliográficas

Azarpeykan S., Dittmer KE., Gee EK., Marshall JC., Elder P., Acke E., Thompson KG. (2016). Circadian rhythm of calciotropic hormones, serum calcium, phosphorus and magnesium during the shortest and longest days of the year in horses in New Zealand. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. 100(6), 1058-1066.

Barry D., Cohen N., Nachreiner R. (1997). Equine Nutritional Hyperparathyroidism, Compendium in Continuing Education, 19 (12), 1380-1387.

Berne and Levi. (2013). *Fisiología Student Consult*. 6th Edition. Elsevier.

Jaramillo C., Zapata J., Agudelo P., Sánchez L., García A., Aguilar L. (2015). Hiperparatiroidismo nutricional de origen secundario en 3 yeguas de raza Criollo Colombiano en Antioquia. *Journal of Agriculture and Animal Sciences*. 4 (1).

Cavalier E, Delanaye P, Nyssen L, Souberbielle JC. (2015). Problems with the PTH assays. *Ann Endocrinol*. 76(2):128-33.

Estepa JC, Aguilera-Tejero E, Mayer-Valor R, Almadén Y, Felsenfeld AJ, Rodríguez M. (1998). Measurement of parathyroid hormone in horses. *Equine Vet J*. 30(6):476-81.

Barrett K., Barman S., Boitano S., Heddwen L. (2012) Brooks. *Ganong Ganong's Review of Medical Physiology*, 25e. New York, N.Y : McGraw Hill Medical.

Brewer B., MA, DVM, Clement S., DVM, Lotz S., BS, and Gronwall R., DVM, PhD. Renal Clearance, Urinary Excretion of Endogenous Substances, and Urinary Diagnostic Indices in Healthy Neonatal Foals.

Ganong, W.F. (2014). "Fisiología Médica". 25ª Edición. El Manual Moderno. México.

Hagyard pharmacy formulary. A Practical Guide to Technology for Veterinary Technicians. Sponsored by MERK Animal Health. (2004). Recuperado de: <http://www.vmdtechnology.com/vet-appidemic-two-new-equine-apps/>.

Henneke et al. (1983) Henneke Horse body condition table.

Hiperparatiroidismo Secundario De Origen Nutricional En Equinos .Romero A. M.V. MSci. UNAL. Tesis de maestría para optar al título de Magister en Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional de Colombia.

Lawrence L.A. (2000) Nutrient Requirements and Balancing Rations for Horses. Animal and Poultry Sciences. Virginia Cooperative Extension.

Novak S., Shoveller AK. (2008). "Evaluating your Horse's Condition". In Ken Blackley. Nutrition and Feeding Management for Horse Owners. Alberta Agriculture and Rural Development. pp. 1. 3. ISBN 0-7732-6078-1.

Pennington N, Colles C and Dauncey E. (2011). Australian stringhalt in the UK. Veterinary Record. 169: 476

Pozza ME, Kaewsakhorn T, Trinarong C, Inpanbutr N, y Toribio RE. (2014). Serum vitamin D, calcium, and phosphorus concentrations in ponies, horses and foals from the United States and Thailand. Veterinary. Journal (London, England: 1997), 199(3), 451. 456.

Pug D.G., Schumacher J., Feeding and Nutrition of Brood Mares, Compendium on Continuing Education, Vol 15, No.1 Jan, 1.993, p.p.106-114.

Ramirez S., Seahorn T,. (1997). How to manage nutritional secondary hiperparathyroidism in horses. Veterinary Medicine. 978-985.

Reed SM., Bayly WM., Sellon DC. (2010). Disorders of Calcium and phosphorus. Equine internal medicine. St. Louis, Mo.: Saunders Elsevier.

Ronen N., Heerden J., and Vanamstel SR. (1992). Clinical and biochemistry findings, and parathyroid hormone concentrations in three horses with secondary hyperparathyroidism. J S Afr Vet Assoc. 63(3):134-6.

Sidney W. Ricketts. (2006). The beaufort cottage laboratories guide to equine clinical pathology, Rosedale & partners. United States.

Stewart J, Oliver L, y Gary W. (2010). Bighead in Horses - Not an Ancient Disease. The Australian Equine Veterinarian, 29(1), 55. 62.

Toribio RE. (2011). Disorders of calcium and phosphate metabolism in horses. Vet Clin North Am Equine Pract. 27(1):129. 47

Toribio R.E. (2010). Disorders of Calcium and phosphorus. En: Reed SM, Bayly WM, Sellon DC editors. Equine Internal Medicine. ST Louis Saunders/ Elsevier. 1277 . 1291.

Toribio RE, Kohn CW, Chew DJ, Sams RA, Rosol TJ. (2001). Comparison of serum parathyroid hormone and ionized calcium and magnesium concentrations and fractional urinary clearance of calcium and phosphorus in healthy horses and horses with enterocolitis. Am J Vet Res. 62(6):938-47.

Toribio RE. (2011). Vet Clin North Am Equine Pract. Disorders of calcium and phosphate metabolism in horses. 27(1):129-47.