

Componentes químicos selectos de biopsia ósea y sangre durante osteopatías metabólicas subclínicas en bovinos

Jaroslav Doubek *
Jan Bouda **
Gerardo F. Quiroz-Rocha **
Norma Calderón Apodaca ***

Abstract

Chemical constituents were determined in bone biopsies and blood of healthy fattened bulls and healthy dairy cows, and during subclinical metabolic osteopathies. The sample included bulls (n = 143, Holstein × Czech Spotted Breed) aged 10 - 15 months with a body weight of 300 to 450 kg and cows (n = 118, Czech Spotted Breed) aged 3 to 8 years and 2 to 20 weeks postpartum. The following groups were formed: Group I of bulls (control, n = 47) and Group I of cows (control, n = 57), each group from 4 herds included healthy animals with balanced rations; without clinical signs of osteopathies in other animals, Group II of bulls included animals without clinical signs of metabolic osteopathies (n = 96) proceeding from 8 herds with frequent cases of clinical rickets (21% to 50%) in other animals; and Group II of cows included animals without clinical signs of metabolic osteopathies (n= 61) from 5 herds, but with some cases of generalized osteopathies (10% to 18%) in other animals. Rations of Groups II were deficient in phosphorus, additionally, cows of Group II had a calcium excess. Samples of biopsies from the iliac crest and blood were taken once from all animals. Blood concentrations of Ca²⁺, inorganic P and acid-base values were no significant for the diagnosis of subclinical metabolic osteopathies. Significant decreases (P < 0.05) were found in biopsies regarding ash weight/g fat-free dry matter (FFDM) and ash weight/cm³ spongy in animals of Groups II in comparison with Groups I. In bulls of Group II, subclinical rickets was diagnosed as ash weight/g FFDM decreased. Osteomalatic and osteoporotic subclinical processes were diagnosed in cows of Group II, as ash/g FFDM and per cm³ of spongy was decreased. Chemical analysis of bone biopsies demonstrated the applicability on the diagnosis of subclinical metabolic osteopathies in bovines.

Key words: COW, FATTENING BULL, METABOLIC OSTEOPATHIES, BONE BIOPSY, ASH, CA, P, BLOOD ACID-BASE STATUS.

Resumen

Se determinaron componentes químicos en biopsias de huesos y sangre en toros de engorda y vacas lecheras sanos, y durante osteopatías metabólicas subclínicas. Al muestreo los toros (n = 143 Holstein × Czech Spotted Breed) de 10-15 meses de edad tenían un peso de 300 a 450 kg. Las vacas (n = 118, Czech Spotted Breed), 3-8 años de edad, se encontraban entre dos y 20 semanas posparto. El grupo I de toros (testigo, n = 47) y el grupo de vacas (testigo, n = 57), procedentes de cuatro hatos cada uno. Ninguno de los animales de los hatos presentaban signos clínicos de osteopatías. El grupo II de toros (n = 96) sin signos clínicos de osteopatías provenía de ocho hatos con frecuencias de raquitismo en forma clínica del 21% al 50% en otros animales; el grupo II de vacas (n = 61) sin signos clínicos de osteopatías se seleccionó de cinco ranchos con osteopatías generalizadas en 10% a 18% de otros animales. La ración alimentaria de los

Recibido el 8 de mayo de 2000 y aceptado el 5 de septiembre de 2000.

* Department of Physiology and Pathophysiology, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, PSC 61242, Brno, Czech Republic.

** Departamento de Patología Clínica, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F.

*** Departamento de Producción Animal: Aves, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F.

animales de los grupos I estaba balanceada. Para los animales de los grupos II era deficiente en fósforo; adicionalmente, las vacas del grupo II tenían exceso de calcio en la ración. Se tomaron biopsias de hueso en cresta iliaca y muestras de sangre una vez en cada animal. Los valores de Ca^{2+} , P inorgánico y del equilibrio ácido-base en sangre no tuvieron significancia para el diagnóstico de osteopatías subclínicas. En las biopsias de cresta iliaca se determinaron disminuciones significativas ($P < 0.05$) en g de ceniza/g de materia seca libre de grasa (MSLG) y g de ceniza/cm³ de tejido esponjoso en animales de los grupos II en comparación con los grupos I (testigo). En los toros del grupo II se diagnosticó raquitismo debido a la disminución de cenizas/g de MSLG. Se determinaron osteomalacia y osteoporosis subclínicas en vacas del grupo II por valores disminuidos de cenizas/g de MSLG y por cm³ de tejido esponjoso. El análisis químico de biopsias óseas demostró efectividad para diagnosticar osteopatías metabólicas subclínicas en bovinos.

Palabras clave: VACA, TORO DE ENGORDA, OSTEOPATÍAS METABÓLICAS, BIOPSIA DE HUESO, CENIZA, Ca , P, ESTADO ÁCIDO-BASE EN SANGRE.

Introducción

Las osteopatías metabólicas como el raquitismo de animales en crecimiento y la osteomalacia, así como osteoporosis en animales adultos representan un grupo importante de los trastornos metabólicos en bovinos.¹ La mayoría de las enfermedades metabólicas suceden en forma subclínica y pueden llegar a disminuir significativamente la producción en los animales, aunque no muestren signos clínicos de enfermedad.^{1,2} Durante el transcurso de estas alteraciones, los primeros cambios bioquímicos pueden ser detectados en la orina, sangre o tejidos. Las alteraciones bioquímicas en la mayoría de las enfermedades metabólicas subclínicas son mayores en la orina que en sangre, debido a los mecanismos efectivos de homeostasis en la última.^{2,3}

El diagnóstico de las osteopatías metabólicas en forma subclínica basada en los análisis bioquímicos de sangre u orina, a diferencia de otras alteraciones metabólicas es difícil, porque los cambios no son significativos.^{4,5} En casos de osteopatías subclínicas en bovinos, durante un tiempo prolongado se registra disminución de ganancia de peso, así como de producción de leche y de fertilidad. La parte metabólicamente activa de los huesos responde a las deficiencias de minerales (Ca, P), de proteínas, a la acidosis metabólica con cambios histológicos y en la composición química.⁶⁻⁹

El objetivo de este trabajo fue determinar componentes químicos selectos de biopsia de huesos, de sangre y orina, y evaluar su importancia para el diagnóstico diferencial de osteopatías metabólicas subclínicas como son el raquitismo en toros de crecimiento, y osteomalacia u osteoporosis en vacas lecheras.

Material y métodos

El estudio se realizó en 143 toros de engorda jóvenes y 118 vacas lecheras, estabuladas en secciones sin sujeción, en el invierno, noviembre a marzo, en la región

de Moravia, República Checa. De cada uno de 21 hatos se eligieron diez a 15 animales para formar los siguientes grupos:

a) Toros de engorda (de cruce Holstein × Czech Spotted Breed) de 10 a 15 meses de edad con peso de 300 a 450 kg, se dividieron en dos grupos. En el grupo I (testigo), con 47 toros procedentes de cuatro hatos, fueron animales clínicamente sanos y al igual que los otros animales de estos hatos, no habían presentado signos clínicos de raquitismo durante su vida. Se analizó su ración alimentaria y el nivel de nutrición fue clasificado como muy bueno y la ganancia de peso por día fue entre 0.8 y 1.0 kg. El grupo II incluyó 96 toros de ocho diferentes hatos sin signos clínicos del raquitismo, donde otros animales en estos ocho hatos, presentaron el raquitismo en forma clínica en 21% a 50% (marcha rígida, volumen de las articulaciones aumentado, cojeras, rechazo a moverse, crecimiento retardado, ruptura del tendón de Aquiles). La ganancia diaria de peso fue de entre 0.55 y 0.70 kg. Con base en el análisis de la ración alimentaria, el fósforo fue cubierto en 80%.

Vacas (Czech Spotted Breed) de tres a ocho años de edad, de dos a 20 semanas posparto se dividieron en dos grupos. El grupo I (testigo, n=57) incluyó vacas clínicamente sanas de cuatro hatos diferentes con producción media de 4 200 kg por año, donde la ración alimentaria fue óptima al análisis químico que se le aplicó. En estos cuatro hatos en todos los animales no se observaron osteopatías metabólicas en forma clínica durante los últimos dos años previos al muestreo. El grupo II (n=61) incluyó vacas de cinco hatos sin signos clínicos de osteopatías, sin embargo, los otros animales de estos hatos presentaron signos clínicos de osteopatías; en 10% a 18% (tendencia a lamer, marcha rígida, levantamiento difícil, cojera moderada). La producción de leche fue de 3 300 kg por año. La ración alimentaria consistió en ensilado de maíz, de heno y concentrados y fue deficiente en fósforo (sólo se cubría 85% de los requerimientos) y excesiva en calcio, hasta dos veces lo recomendado para un hato.

En los animales de los hatos incluidos se revisaron registros, se hizo un examen físico que incluyó la condición corporal, apetito, observación de locomoción y movilidad general, constantes fisiológicas (frecuencia respiratoria, FR; frecuencia cardíaca, FC; y temperatura, T). En todos los animales incluidos en el estudio (n = 261), se tomaron una vez muestras de sangre de la vena yugular y muestras de hueso por biopsias de la cresta ilíaca con instrumento especial y previa anestesia local.¹⁰⁻¹² Los materiales para obtener la biopsia ósea son: bisturí para incidir piel y analgésico local para insensibilizar la zona, trocar especial para hueso, martillo percutor, cortador de calibre de 0.5 cm³ para obtener el volumen de biopsia. Se infiltró analgésico local en la zona de la cresta ilíaca y se hizo una incisión en piel de aproximadamente 1.5 cm. El trocar se colocó sobre la cresta y con ligeros golpes de martillo se introdujo de 2 a 3.5 cm. Con movimientos circulantes se obtuvo una porción tubular del tejido óseo y se extrajo con un mandril especial. Con el cortador calibrado se obtuvo 0.5 cm³ de tejido esponjoso.

Se obtuvieron muestras de orina en vacas por medio de cateterización de la vejiga urinaria; y en algunos toros durante micción espontánea en una ocasión por animal. En las muestras de sangre venosa heparinizada se determinaron valores del equilibrio ácido-base (pH; presión del CO₂, pCO₂; y exceso de base, EB) por analizador ABL 3, Radiometer.* En plasma sanguíneo como en cenizas se determinaron las concentraciones de calcio por espectrómetro de absorción atómica Perkin Elmer, modelo 3110** y de fósforo inorgánico en un analizador químico automatizado, Cobas-Mira

Roche.*** De las biopsias de hueso se tomó 0.5 cm³ de tejido de esponjoso, se sometió a la extracción de grasa. La materia seca libre de grasa (MSLG) se obtuvo secando durante 24 h a 105°C. Esta última se sometió a incineración a 550°C durante 72 h. En la ceniza se determinaron las concentraciones de Ca²⁺ y P inorgánico, y posteriormente la relación entre calcio y fósforo (Ca:P). Los resultados del peso de cenizas se expresan en mg por g de MSLG de tejido esponjoso y por 1 cm³ de tejido esponjoso.⁵ Las muestras de orina se analizaron con tiras reactivas, Labstix Ames (pH, cuerpos cetónicos, sangre/hemoglobina) y con ácido sulfosalicílico para determinar posibles proteinurias.

Los análisis de las muestras se realizaron en el Departamento de Diagnóstico, Tratamiento y Prevención, y el Departamento de Fisiología y Patofisiología, de la Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Ciencias Veterinarias y Farmacéuticas, República Checa. Los análisis de los resultados se realizaron en el Departamento de Patología Clínica, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Una vez obtenidos los resultados se efectuaron pruebas "T" de Student para hacer el análisis estadístico.

Resultados

En todos los animales muestreados no se presentaron signos clínicos de osteopatías metabólicas. Las constantes fisiológicas (FR, FC y T) y los resultados obtenidos por análisis de orina estuvieron en rangos de valores de referencia.¹ En los valores sanguíneos

Cuadro 1
VALORES DEL EQUILIBRIO ÁCIDO-BASE EN SANGRE VENOSA Y CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE CALCIO Y FÓSFORO INORGÁNICO EN PLASMA SANGUÍNEO EN TOROS DE ENGORDA Y VACAS LECHERAS

Animales		pH	Sangre		Plasma sanguíneo	
			EB mmol/L	pCO ₂ mmHg	Ca ²⁺ mmol/L	P inorg. mmol/L
Toros grupo I	✓	7.384	0.88	46.5	2.59	2.46
(n=47)	De	0.015	1.50	4.35	0.17	0.42
Toros grupo II	✓	7.386	1.45	50.4	2.54	2.64
(n=96)	De	0.029	2.48	8.55	0.24	0.32
Vacas grupo I	✓	7.398	1.19	43.5	2.61	1.93
(n=57)	De	0.029	2.04	4.5	0.23	0.34
Vacas grupo II	✓	7.388	0.13	41.7	2.66	2.16
(n=61)	De	0.037	1.56	5.1	0.18	0.42

Grupos I (testigo): Animales clínicamente sanos, ración alimentaria balanceada, óptima.

Grupos II: Animales clínicamente sanos, ración alimentaria deficiente en fósforo, además con exceso de calcio en vacas.

EB: Exceso de base.

pCO₂: presión parcial de CO₂

* Radiometer, Copenhagen.

** The Perkin-Elmer Corporation, Norwalk, CT, USA.

*** Roche, Switzerland.

Cuadro 2
ANÁLISIS QUÍMICO DEL TEJIDO ESPONJOSO DE HUESO DE CRESTA ILIACA EN TOROS DE ENGORDA Y EN VACAS LECHERAS

<i>Animales</i>		<i>por g MSLG*</i>	<i>Cenizas mg por cm³ tejido esponjoso*</i>	<i>Ca:P*</i>
Toros grupo I (n=47)	✓	605.93	243.83	2.06
	De	16.39	31.46	0.07
Toros grupo II (n=96)	✓	555.69	213.70	2.16
	De	30.94	39.62	0.15
Vacas grupo I (n=57)	✓	635.02	224.88	2.07
	De	19.62	24.11	0.09
Vacas grupo II (n=61)	✓	577.88	173.35	2.17
	De	32.02	36.73	0.12

MSLG: Materia seca libre de grasa.

Grupos I: Animales (testigo) clínicamente sanos, ración alimentaria balanceada, óptima.

Grupos II: Animales clínicamente sanos, ración alimentaria deficiente en fósforo, además con exceso de calcio en vacas.

* Diferencias entre grupos I y II de toros y de vacas son altamente significativas (P < 0.01).

Cuadro 3

COMPARACIÓN DE VALORES DE CENIZAS POR g DE MSLG, POR cm³ DE TEJIDO ESPONJOSO DE HUESO Y MSLG POR cm³ DE TEJIDO ESPONJOSO DE HUESO DE GRUPOS II RESPECTO DE GRUPOS I EXPRESADOS EN PORCENTAJE

<i>Animales</i>	<i>Ración alimentaria</i>	<i>Por MSLG * %</i>	<i>Cenizas g Por cm³ tejido esponjoso * %</i>	<i>MSLG por cm³ tejido esponjoso %</i>
Toros grupo I (n=47)	Balanceada	100	100	100
Toros grupo II (n=96)	Deficiente en P	92	87.6	96
Vacas grupo I (n=57)	Balanceada	100	100	100
Vacas grupo II (n=61)	Deficiente en P y exceso en Ca	91	77.1	84.7

MSLG: Materia seca libre de grasa.

Grupos I (testigo): Animales clínicamente sanos, ración alimentaria balanceada, óptima.

Grupos II: Animales clínicamente sanos, ración alimentaria deficiente en fósforo, además con exceso de calcio en vacas.

* Diferencias entre grupos I y II de toros y de vacas son altamente significativas (P < 0.01).

del equilibrio ácido-base y minerales (Ca²⁺, P) no se encontraron diferencias significativas (P > 0.05) entre los grupos I y II de toros de engorda ni en las vacas de los grupos I y II (Cuadro 1). Los hallazgos resultantes del análisis químico de tejido esponjoso de huesos en toros de engorda y de vacas se describen en el Cuadro 2. Los valores del peso de cenizas por g de MSLG y por cm³ de tejido esponjoso fueron mayores (P < 0.01) en toros del grupo I y en vacas del grupo I, que en los animales de grupos II. Los valores de la relación Ca:P fueron mayores en animales de los grupos II con deficiencias de fósforo en la ración alimentaria en comparación con animales de los grupos I (Cuadro 2).

En el Cuadro 3 se presenta la comparación de los

valores medios de cenizas por g de MSLG, cenizas por cm³ de tejido esponjoso y MSLG por cm³ de tejido esponjoso expresados en porcentaje del grupo II con relación al grupo I de toros, y del grupo II con relación al grupo I de vacas, donde los valores de los grupos I (testigo) se tomaron como 100%. La disminución en los porcentajes de cenizas por g de MSLG en los grupos II de toros y de vacas, respecto de los grupos I, es similar (92% en toros y 91% en vacas); sin embargo, la disminución en los porcentajes de cenizas por cm³ de tejido esponjoso (87.6% y 77.1%, respectivamente) y de MSLG por cm³ de tejido esponjoso (96% y 84.7%, respectivamente) son menos evidentes entre grupos de toros que entre grupos de vacas.

Discusión

Los valores medios del pH, EB, pCO₂ en sangre y las concentraciones plasmáticas de Ca²⁺ y P inorgánico, en los grupos tanto de toros de engorda como de vacas lecheras, estuvieron acordes con valores de referencia determinados en las mismas categorías.^{13,14} Para la interpretación de los resultados de perfiles metabólicos de bioquímica sanguínea en bovinos, es importante conocer la historia clínica, la composición de la ración alimentaria, la producción, la reproducción y el manejo del hato; además de hacer un examen físico de los animales y conocer los valores de referencia para las condiciones similares.^{3,15} De acuerdo con Cote y Hoff¹⁵ el valor promedio de los analitos bioquímicos o hematológicos en el perfil metabólico constituye un indicador de tendencia central y su comparación con los valores de referencia (media) representa la base de la interpretación.

Los resultados de equilibrio ácido-base y minerales en sangre aquí encontrados, demuestran que la respuesta del organismo de los animales a deficiencias de fósforo en la ración alimentaria no se manifiesta en cambios en los valores de estos analitos, aunque las deficiencias al evaluar la composición química del tejido esponjoso de huesos fueron significativas (P < 0.01).

Los valores de cenizas por g de MSLG y por cm³ de tejido esponjoso en toros de engorda sanos y con dieta balanceada (grupo I), están en rangos de referencia descritos por diferentes autores,^{5,16-18} quienes recomiendan que el peso de las cenizas sea mayor a 580 mg por g de MSLG y sobre 234 mg por cm³ de tejido esponjoso.

Se observa que animales de los grupos I (testigos) clínicamente sanos y con dietas balanceadas tuvieron valores de mg de ceniza por g de MSLG y por cm³ de tejido esponjoso significativamente mayores (P < 0.01) en comparación con animales de los grupos II.

Al interpretar los resultados, en los toros del grupo II se identifica alteración en la mineralización del esqueleto. Esto último se comprueba por la disminución significativa de ceniza por g de MSLG y por cm³ de tejido esponjoso (Cuadros 2 y 3). La disminución en el porcentaje de MSLG por cm³ de tejido esponjoso en toros del grupo II, fue de 4% respecto de toros del grupo I, mientras que la disminución de cenizas por g de MSLG fue de 8% (Cuadro 3). Estos valores comprueban la insuficiente mineralización de los huesos. También el valor de la relación Ca:P en toros del grupo II, fue significativamente mayor en comparación con el grupo I de toros, debido a la deficiencia del fósforo en el alimento del grupo II (Cuadro 2). Priboth¹⁹ menciona que debido a las deficiencias prolongadas de fósforo en la dieta, el índice Ca:P se aumenta. Con base en la historia clínica, el examen físico de los toros del grupo II y el análisis de las

biopsias de hueso, se diagnosticó raquitismo en forma subclínica. De todos los grupos analizados, en las vacas del grupo I, con alimentación balanceada, el valor del peso de las cenizas por g de MSLG fue el más alto, y correspondió a los valores de referencia en vacas descritos por Priboth y Koni¹⁸ y Priboth,¹⁹ quienes indican que sea mayor a 616 mg de ceniza por g MSLG de esponja de cresta iliaca.

El exceso de calcio y la deficiencia de fósforo en la ración alimentaria en vacas del grupo II no afectó los niveles de Ca²⁺ y P en el plasma sanguíneo, ni el estado ácido-base. Las significancias estadísticas observadas durante el análisis de tejido esponjoso de hueso se presentan en los Cuadros 2 y 3. La disminución significativa de las cantidades de cenizas por g de MSLG y por cm³ de tejido esponjoso fue causada principalmente por disminución del fósforo y calcio en tejido óseo. El mayor índice Ca:P en vacas del grupo II en comparación con el valor en vacas sanas con dieta balanceada (grupo I), significa que las pérdidas del fósforo de los huesos fueron mayores que de calcio.

Las alteraciones en vacas del grupo II por resorción de la matriz orgánica del tejido esponjoso (ceniza/cm³) resultaron mayores que en la fase inorgánica (ceniza/g de MSLG) (Cuadro 2). Estos cambios en vacas entre los grupos I y II se expresan en porcentaje en el Cuadro 3. Los hallazgos en vacas del grupo II, corroboran que los procesos de osteoporosis fueron más severos que los de osteomalacia.

Respecto del exceso de Ca en la dieta y su efecto sobre la mineralización del esqueleto, hay contradicciones entre autores.^{20,21} Zetterholm²¹ demostró el efecto positivo del calcio elevado en la dieta sobre mineralización de huesos, mientras que Legel²² no encontró cambios en la composición del esqueleto. La explicación de las diferencias entre lo informado por estos autores se puede atribuir a diferente material y métodos utilizados.

En este estudio, la causa de osteopatía metabólica en vacas del grupo II fue un exceso de calcio y deficiencia de fósforo en la ración alimentaria. De acuerdo con Dammrich,²³ el trastorno en la síntesis del colágeno se puede encontrar durante deficiencias de fósforo. Estos resultados se demuestran en el presente estudio con disminución de cenizas por cm³ de tejido esponjoso y de MSLG por cm³ de tejido esponjoso. La deficiencia de fósforo²⁴ y exceso de calcio²⁵ en dieta, inhiben la formación normal de osteoblastos. Para la mineralización normal, las concentraciones adecuadas de calcio, fósforo y vitamina D son importantes. Recker²⁶ destaca la biopsia de hueso como el método más exacto para la evaluación de la remodelación de hueso, incluyendo la formación de osteoblastos y resorción por osteoclastos.

Con base en los exámenes físicos realizados en los animales, el análisis de las raciones alimentarias, análisis de sangre y biopsias de huesos, se puede constatar

que las determinaciones de Ca^{2+} y P inorgánico, en plasma sanguíneo, no tienen utilidad para diagnóstico de las osteopatías metabólicas en forma subclínica en bovinos. Los resultados obtenidos en el presente estudio, demuestran la importancia de la determinación de cenizas por g de MSLG, cenizas por cm^3 de tejido esponjoso e índice de Ca:P en cenizas. Para el diagnóstico de raquitismo y osteomalacia en forma subclínica, es más importante la disminución de cenizas por g de MSLG. La disminución de cenizas por cm^3 de tejido esponjoso identifica los procesos de osteoporosis. La determinación del índice de Ca:P en cenizas y MSLG por cm^3 de tejido esponjoso puede especificar el trastorno y apoyar el diagnóstico diferencial.

Referencias

1. Vrzgula L. Metabolic disorders and their prevention in farm animals. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier, 1991.
2. Bouda J, Jagos P. Disorders in acid-base balance. In: Vrzgula L, editor. Metabolic disorders and their prevention in farm animals. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier, 1991:248-268.
3. Bouda J, Paasch ML, Yabuta OA. Desarrollo y empleo del método de diagnóstico preventivo de los trastornos ruminales y metabólicos en bovinos. Vet Mex 1997;28:189-195.
4. Priboth W, Wujanz G, Salié H, Eichelberger P. Bioptisch-chemische Untersuchungen zur Diagnostik und Frühdiagnostik der Osteopathien der Milchkuhe. Arch Exp Vet-Med 1969;23:229-232.
5. Doubek J, Illek J, Ondráček J. Preklinická diagnostika metabolických osteopatií u býku ve výkrmu. Vet Med-Czech 1994;39:231-243.
6. Priboth W, Seffner W, Wujanz G. Die Knochenbiopsie beim Rind. Möglichkeiten der chemischen und histologischen Untersuchung zur Diagnose mineralstoffmangelbedingter Osteopathien. Mh Vet-Med 1968;23:865-871.
7. Little DA. Bone biopsy in cattle and sheep for studies of phosphorus status. Austr Vet J 1972;48:668-670.
8. Williams SN, Lawrence LA, McDowell LR. Criteria to evaluate bone mineralization in cattle: I. Effect of dietary phosphorus on chemical, physical, and mechanical properties. J Anim Sci 1991;69:1232-1242.
9. Beighle DE, Boyazoglu PA, Hemken RW. Use of bovine rib bone in serial sampling for mineral analysis. J Dairy Sci 1993;76:1047-1052.
10. Priboth W. Zur Bedeutung der Knochenbiopsie als diagnostische Untersuchungsmethode beim Rind. Beschreibung des Instrumentariums und der Technik. Mh Vet-Med 1967;22:332-335.
11. Priboth W, Wujanz G, Seffner W. Zur Bedeutung und Durchführung der Knochenbiopsie beim Rind. Mh Vet-Med 1972;27:77-78.
12. Doubek J, Jagos P, Illek J. Influence of the stage of dairy cow reproduction cycle on some clinical and biochemical parameters. Acta Vet (Brno) 1985;54:149-155.
13. Jagos P, Bouda J. Základní biochemické a hematologické hodnoty u domácích zvířat a nové způsoby vyjadrování výsledku laboratorních vyšetření. (Biochemical and hematological values in domestic animals and international system of units). Pardubice: SVS, Oddělení Veter Osvěty, 1981:1-30.
14. Jagos P, Illek J. A system of preventive diagnosis of the metabolic disorders in cattle. In: Vrzgula L, editor. Metabolic disorders and their prevention in farm animals. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier, 1991:371-384.
15. Cote JF, Hoff B. Interpretation of blood profiles in problem dairy herds. Bov Pract 1991;26:7-10.
16. Priboth W, Fritzsche H. Experimentelle und klinische Untersuchungen über Störungen der Ca-P-Stoffwechselfregulation bei den Osteopathien des Rindes. I. Mitt. Die Wirkung einer Phosphormangelfütterung auf das Skelett des Jungrindes. Chemische und physikalische Untersuchungen an post mortem entnommenem Knochenmaterial als Grundlage für die Entwicklung bioptisch-chemischer und röntgenologisch-photometrischer Verfahren. Arch Exp Vet-Med 1969;23:653-673.
17. Fichtner R. Zur Diagnostik der Osteochondropathien beim Mastrind. Mh Vet-Med 1978;33:836-838.
18. Priboth W, Koni A. Bedeutung einfacher bioptisch-physikalischer Methoden für die Osteopathiediagnostik beim Rind. Mh Vet-Med 1980;35:380-384.
19. Priboth W. Weiterentwicklung der diagnostischen Möglichkeiten der Knochenbiopsie unter besonderer Berücksichtigung der Mengen- und Spurenelementanalyse. (F/E Aufgabe). KM-Universität Leipzig, Sektion der Tierproduktion Vet Med, 1976:1-92.
20. Hallac N, Seidel H, Seidel R. Investigations into the mineral metabolism in Shami cows. Part III. Preliminary studies on the use of vitamin D_3 for preventing calcium and phosphorus deficiencies in dairy cows at parturition. Beitr Trop Subtrop Landw Tropen Vet Med 1970;8:207-212.
21. Zetterholm R. Bone mineral changes in dairy cows. The effect of low and high calcium feeding during late pregnancy and at parturition. Acta Vet Scand 1978;19:30-38.
22. Legel S. Untersuchungen zum latenten Phosphormangel in der Entwicklung wachsender Widerkäufer. 9 Mitt: Das Verhalten der P- und Ca-Konzentration ausgewählter Knochen von unterschiedlich mit Phosphor versorgten graviden Färsen sowie von Nachkommen variiert mit Phosphor gefütterter Färsen. In: Holzschuh W, Hennig A, Editoren. Jahrbuch der Tierernährung und Fütterung. Berlin: VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag, 1972:199-207.
23. Dammrich K. Zur formalen Pathogenese der Systemerkrankungen des Skeletts bei Tieren. Berl Münch-Tierärztl Wschr 1970;83:106-112.
24. Rosol TJ, Capen CC. Calcium-regulating hormones and disease of abnormal mineral (calcium, phosphorus, magnesium) metabolism. In: Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML, editors. Clinical biochemistry of domestic animals. 5th ed. San Diego (Ca): Academic Press, 1997:619-702.
25. Schmidt UJ, Brückhe G, Kalbe I, Reinhardt CH, Weber R, Georgi GR. Hormonelle Wirkungen auf den Knochenstoffwechsel unter besonderer Berücksichtigung der Osteoporose. Dtsch Gesundh Wes 1975;30:9-15.
26. Recker RR. Biopsies. In: Bilezikian JP, Raisz LG, Rodan GA, editors. Principles of bone biology. San Diego (Ca): Academic Press, 1996:1333-1342.