Acta Scientiae Veterinariae, 2018. 46: 1569.

RESEARCH ARTICLE
Pub. 1569

ISSN 1679-9216

Excreção urinária de cálcio e magnésio em vacas leiteiras com diferentes taxas de metabolização de glicose

Calcium and Magnesium Urinary Excretion in Dairy Cows with Different Fee of Glucose Metabolization

Elizabeth Schwegler[1], Paula Montagner, Eduardo Schmitt[2], Augusto Schneider[3], Marina Menoncin Weschenfelder Rohenkohl[2], Ana Rita Tavares Krause[2], Rubens Alves Pereira[2], Jéssica Halfen[2], Francisco Augusto Burkert Del Pino[2] & Marcio Nunes Corrêa[2]

ABSTRACT

***Background*:** The post-partum period in dairy cows is accompanied by a low glucose metabolism in adipose tissue and skeletal muscle tissue, being glucose conducted to the milk production. In humans, low glucose metabolism is associated with metabolic syndromes, the high glucose levels reduce tubular reabsorption of Magnesium (Mg) and Calcium (Ca), leading to hypomagnesemia and hypocalcemia. These minerals are important to the dairy cow, as their decrease leads to diseases. The aim of this study was to evaluate the relationship between glucose metabolism rate with the urinary excretion of Ca and Mg in multiparous dairy cows during the post-partum period.

***Materials, Methods & Results*:** Twenty dairy cows were used from a commercial farm southern Brazil, in the semi-extensive system. Glucose tolerance tests were performed (TTG) on day 9 relative to calving. The cows were categorized into three groups according to the glucose metabolism rate (area under the glucose curve, glucose half-life and glucose consumption rate): High Glucose Metabolization (GA); Intermediate Glucose Metabolizing (GI); and Low Glucose Metabolization (GL). Blood and urine samples were collected on days 0, + 3, + 6, + 9, +16 and +23 in relation to calving for to determine the levels of Ca, Mg, insulin (Ins), non-esterified fatty acids (NEFA) and Glu. In urine was evaluated the excretion of Ca and Mg. The cows were milked twice a day (at 3:00 a.m. and 3:00 p.m.) and the milk yield (kg/cow) was recorded daily and averages were generated every five days from day 15 to day 60 postpartum. The statistical analyses were performed with the MIXED procedure to assess the main effect of group, time (in days) and their interaction by using version 9.2 SAS software. The influence of the different rates of glucose metabolism on milk production was observed, the GB group had a production than GH group (30.88 ± 1.44 kg vs 23.96 ± 1.43 kg, $P < 0.01$), but did not differ from GI. The GL group showed higher levels of Glu compared to GA ($P < 0.05$). The plasma Ca levels were higher in GL ($P < 0.05$) compared with GH. The NEFA, insulin, and excretion of minerals did not differ between groups ($P > 0.05$).

***Discussion*:** The low glucose metabolism in humans causes an increase in the excretion of Ca and Mg urine, however, in the animals studied, these changes were not observed. This result can be attributed to the fact that insulin resistance is transitory in dairy cattle. The higher glucose levels in the GL group are related due to the lower capacity of glucose entry in the peripheral tissues (adipose and skeletal muscle), which reflected in the higher milk production observed this group. However, the higher calcium concentrations were not expected, since the release of insulin by βpancreatic cells is dependent on calcium. Possibly, these higher calcium levels in GB, are related to higher milk production, requiring a greater amount of calcium for the production of casein, increasing bone mobilization, intestinal absorption. The energy metabolites, non-esterified fatty acids and insulin, did not differ between groups, suggesting that the animals did not present different metabolic conditions. We conclude that multiparous dairy cows with low glucose metabolism rate (GB) have higher levels of glucose after delivery and increased milk production. The metabolism rate of glucose did not influence the excretion of the Ca and Mg minerals.

Keywords: glucose tolerance test, mineral excretion, peripartum.
Descritores: teste de tolerância à glicose, excreção urinária, periparto.

DOI: 10.22456/1679-9216.83472

Received: 3 February 2018 Accepted: 22 June 2018 Published: 12 July 2018

[1]Instituto Federal Catarinense (IFC), Campus Araquari, SC, Brazil. [2]Faculdade de Veterinária, Departamento de Clínicas Veterinária, Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC), Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas, RS, Brazil. [3]Faculdade de Nutrição, UFPel, Pelotas. CORRESPONENCE: M.N. Corrêa [marcio.nunescorrea@pesquisador.cnpq.br - Tel.: +55 (53) 3275-7136]. Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Campus Universitário Capão do Leão. CEP 96010-900 Pelotas, RS, Brazil.

INTRODUÇÃO

A elevação dos ácidos graxos não-esterificados (AGNE) durante o período de transição da vaca leiteira está associada à diminuição da metabolização da glicose pelos tecidos periféricos decorrente da resistência periférica à insulina [15], que embora ocorra de forma fisiológica em ruminantes, sua intensidade está relacionada ao grau de adiposidade do animal. Vacas com alto grau de adiposidade, observado através do escore de condição corporal (ECC), possuem maior insulinemia decorrente da baixa metabolização da glicose, e estes animais tem maiores chances de desenvolverem hipocalcemia e hipomagnesemia no pós-parto recente [18].

Em seres humanos a baixa metabolização da glicose eleva a glicemia, que provoca a saturação dos mecanismos de reabsorção renal, aumentando a proporção de Cálcio (Ca) excretado [4,9]. Além disso os teores de magnésio (Mg), em pacientes diabéticos são afetados pelos teores de glicose, que por ação osmótica reduz a reabsorção tubular de Mg, levando a hipermagnesúria e consequentemente hipomagnesemia [14,26].

O teste de tolerância à glicose (TTG), utilizado em humanos, têm sido empregadas para determinar a capacidade de metabolização de glicose e a resposta na liberação pancreática de insulina em ruminantes [17,20]. Baseados nestas evidências, a hipótese deste estudo é que vacas leiteiras com menores taxas de metabolização da glicose, excretam mais Ca e Mg urinário, o que pode predispor a ocorrência de hipocalcemia e hipomagnesemia no pós-parto recente. Deste modo, o objetivo deste estudo foi avaliar a relação da metabolização de glicose com a excreção urinária de Ca e Mg em vacas leiteiras pluríparas no período de transição.

MATERIAIS E MÉTODOS

Delineamento experimental

Neste estudo foram utilizadas 20 vacas leiteiras multíparas da raça Holandês, de um rebanho comercial da região Sul do Brasil (32º16'S, 52°32'L), mantidas em sistema semiextensivo e acompanhadas de janeiro a maio. Todos os animais possuíam número de parto igual ou maior que 3 e média da produção leiteira da lactação anterior de 7891 ± 1184 kg/305 dias. O peso médio inicial dos animais foi de 678,5 ± 23,2 kg com ECC de 3,6 ± 0,16. As vacas foram monitoradas diariamente a partir de 30 dias pré-parto até 30 dias pós o parto. Todos os animais foram mantidos sobre as mesmas condições nutricionais e de manejo durante todo o período experimental (Tabela 1).

O teste de tolerância à glicose foi realizado no dia 9 pós-parto e foi realizado através da infusão de 500 mg/kg de peso vivo de glicose, em solução concentrada a 50%[1], na veia jugular previamente cateterizada. Antes da infusão de glicose foram realizadas duas coletas sangue para caracterizar a glicemia basal (-5 e 0 min pré infusão - 0A). Imediatamente após a infusão de glicose foi coletada uma amostra de sangue, sendo caracterizada como coleta 0 pós infusão (0B), e aos 15, 30, 45, 60 min [11].

Os animais foram categorizados em Grupo de Baixa (GB), Grupo de Intermediaria (GI) e Grupo Alta Metabolização de glicose (GA) a partir dos dados obtidos durante o TTG (Tabela 2), sendo consideradas para a classificação as seguintes variáveis: área sob a curva da glicose (ASC), meia vida da glicose (T1/2) e taxa de consumo da glicose (TC) [11]. O cálculo da ASC da glicose foi gerado a partir de programa estatístico[2]. Para calcular a taxa de metabolização da glicose e a sua meia vida durante o TTG foram utilizadas as seguintes fórmulas: TC= [(ln glicose t15-ln glicose t60)/(t60-t15)]×100 =%min; e T1/2= (0.693/TM)×100 = min (Tabela 2).

Coleta de amostras e análises

Amostras de sangue e urina foram coletadas nos dias 0, 3, 6, 9, 16 e 23 em relação ao parto. O sangue foi coletado por sistema a vácuo no complexo arterio-venoso coccígeo em dois tubos, um contendo EDTA e fluoreto de potássio e o outro sem anticoagulante[3]. As coletas de urina foram realizadas por massagem na região perivulvar da vaca, antes da ordenha e a alimentação e armazenada em frascos estéril e refrigerada até o momento da análise.

Os teores séricos de Ca, Mg, creatinina (Creat) e glicose (Gli) foram analisados por métodos colorimétricos, usando kits comerciais[4] [23]. Os AGNE[5] foram mensurados pelo micro-método descrito por Ballou *et al*. [1] e a insulina (Ins) por meio de kit comercial de imunoensaio enzimático[6]. As amostras de urina foram analisadas por métodos colorimétricos[4], para a determinação de Ca, Mg e Creat, metabolitos utilizados como marcador de filtragem. Os teores totais de Ca e Mg na urina foram estimados através do cálculo da excreção fracionada (EF) [19], ou seja: (UCa/SCa) x (SCreat/UCreat) x 100 e (UMg/SMg) x (SCreat/UCreat) x 100, onde U e S significam urina e soro respectivamente. A EF representa a porcentagem de depuração de uma substância à depuração de creatinina.

A produção leiteira diária foi registrada do dia 15 ao 60 pós-parto, através do software de registro de dados[7].

Tabela 1. Ingredientes disponíveis diariamente para as vacas leiteiras na dieta na forma original (kg) e sua composição no pré e pós-parto.

Alimento	Pré-parto (kg)	Pós-parto (kg)
Pastagem nativa	*Ad libitum*	-
Sorgo forrageiro	-	*Ad libitum*
Pré-secado	-	15
Farelo de trigo	0,50	1,50
Farelo de soja	1,00	2,40
Farelo de arroz	0,68	2,88
Milho moído	1,05	3,00
Sorgo moído	1,05	2,13
Suplemento mineral[1]	0,40	0,11
Uréia	-	0,09
Bicarbonato de sódio	-	0,19
Calcário calcítico	0,12	0,19
Sal	-	0,002
Gordura protegida	0,20	-

Composição bromatológica das dietas:

	Pré-parto (%)		Pós-parto (%)		
	Forragem	Concentrado	Forragem	Pré-secado	Concentrado
Matéria Seca	89,20	87,67	27,40	52,94	87,31
FDN	67,65	47,42	64,32	63,46	32,57
FDA	51,37	13,56	41,74	45,75	13,14
Proteína	9,16	15,61	9,84	8,88	14,92
Extrato etéreo	1,73	3,57	2,02	2,00	4,01
Minerais totais	9,23	8,90	9,99	8,84	9,02

1-Bovigold: Cálcio (190,00 - 220,00 g/kg), Fósforo (60,00 g/kg), Enxofre (20,00 g/kg), Magnésio (20,00 g/kg), Potássio (35,00 g/kg), Sódio (70,00 g/kg), Cobalto (15,00 mg/kg), Cobre (700,00 mg/kg), Cromo (10,00 mg/kg), Ferro (700,00 mg/kg), Iodo (40,00 mg/kg), Manganês (1.600,00 mg/kg), Selênio (19,00 mg/kg), Zinco (2.500,00 mg/kg), Vitamina A (200.000,00 UI/kg), Vitamina D3 (50.000,00 UI/kg),Vitamina E (1.500,00 UI/kg), Flúor (600,00 mg/kg).

Tabela 2. Categorização das vacas quanto a metabolização da glicose, Grupo Alta Metabolização (GA), Grupo de Intermediaria Metabolização (GI) e Grupo de Baixa Metabolização (GB).

Categorização	GB	GI	GA
ASC* de 0-60' (mmol/l min)	8725,20 ± 1131,58	7238,00 ± 915,42	6586,71 ± 1321,51
Meia vida da glicose de 15-60' (%min)	83,36 ± 21,82	55,44 ± 4,98	46,81 ± 9,17
Taxa de consumo da glicose de 0-60' (min)	0,88 ± 0,45	1,26 ± 0,11	1,63 ± 0,24

*ASC: área sob a curva da glicose.

Análise estatística

Os resultados foram apresentados como média ± erro padrão da média (EPM). Todas as análises estatísticas foram realizadas usando o programa SAS 9.2[8]. Análises envolvendo medidas repetidas de acordo com as coletas (produção de leite, Ca, Mg, AGNE, Ins, Gli) foram comparadas entre os grupos por análises de variância com medidas repetidas usando o MIXED procedure para avaliar o efeito da coleta, grupo e suas interações (grupo*coleta) [13]. Foi realizada análise de variância one-way para os marcadores de tolerância (ASC 0-60, TC e T1/2).

Tabela 3. Parâmetros zootécnicos, bioquímicos urinários e sanguíneos de vacas leiteiras categorizadas de acordo com a taxa de metabolização da glicose no pós-parto em Grupo Alta Metabolização da Glicose (GA), Grupo Intermediaria Metabolização da Glicose (GI) e Grupo Baixa Metabolização da Glicose (GB).

Parâmetro	Grupos			Valores de *P*		
	GA	GI	GB	Grupo	Coleta	G*C
Ca ef (%)	21,3 ± 4,6	19,3 ± 4,3	23,0 ± 5,1	0,86	<0,001	0,78
Mg ef (%)	166,3 ± 21,9	188,6 ± 22,0	158,1 ± 24,8	0,62	<0,001	0,99
Glicose (mg/dL)	74,0 ± 6,7	71,3 ± 6,0	91,9 ± 7,1	0,10	0,97	0,49
Insulina (µUI/mL)	14,0 ± 2,4	12,0 ± 2,2	12,5 ± 2,6	0,82	0,06	0,39
AGNE (mEq/L)	0,58 ± 0,10	0,62 ± 0,09	0,52 ± 0,10	0,75	<0,001	0,28
Ca sg (mg/dL)	8,0 ± 0,2[b]	8,6 ± 0,2[ab]	8,8 ± 0,2[a]	0,05	0,001	0,41
Mg sg (mg/dL)	1,89 ± 0,08	2,00 ± 0,07	1,98 ± 0,09	0,53	<0,001	0,13

*Ca ef e Mg ef: excreção fracionária de minerais na urina. Ca sg e Mg sg: concentrações plasmática. Letras minúsculas indicam diferenças entre os grupos.

RESULTADOS

Os animais foram divididos em GA (6 vacas, 34%), GI (7 vacas, 39%) e GB (5 vacas, 27%). Dois (2) animais foram excluídos devido a transtornos ocorridos durante o TTG.

Foi observada influência das diferentes taxas de metabolização de glicose sobre a produção leiteira do período 15-60 diferiu entre GB (30,88 ± 1,44 kg) e GA (23,96 ± 1,43 kg; $P < 0,01$), porém o GI não diferiu do GA

A glicemia pós-parto do GB foi maior que do GI ($P = 0,04$) e apresentou tendência em relação ao GA ($P = 0,08$). O GI não diferiu do GA ($P = 0,76$). As concentrações sanguíneas de Ca foram maiores no GB comparado ao GA (8,84 ± 0,2 vs. 8,01 ± 0,2 mg/dL; $P = 0,02$). O GI foi semelhante aos dois grupos. Os demais marcadores bioquímicos analisados no soro e na urina estão descritos na Tabela 3.

DISCUSSÃO

Vários métodos têm sido utilizados para avaliar o metabolismo da glicose e a sensibilidade à insulina durante o periparto de ruminantes, os quais são dependentes da secreção de insulina, da habilidade da glicose ser captada pelos tecidos e da supressão na produção glicose pelo fígado [5]. Diante disso, as vacas do experimento foram submetidas ao TTG intravenoso a fim de avaliar-se três parâmetros de resposta específicas (área sob a curva da glicose de 0-60', meia vida da glicose de 15-60' e taxa de metabolização da glicose de 0-60').

Os animais com menor taxa de metabolização da glicose (GB) apresentaram maior glicemia após o parto, possivelmente pela menor capacidade de entrada de glicose nos tecidos periféricos, que pode ser decorrente da diminuição da sensibilidade dos receptores de insulina, já que os níveis de insulina não diferiram entre os grupos [5]. Assim, uma vaca em estado de homeorrese, priorizando a produção de leite, direciona maior quantidade de glicose para a glândula mamária, que não necessita de receptores insulino-dependentes (GLUT4) [3], elevando a produção de leite. Além de que a demanda de glicose pela glândula mamária aumenta 2,5 vezes na terceira semana pós-parto em comparação ao período seco [27].

A obesidade é um fator de risco para o desenvolvimento da diabetes tipo 2, pois eleva cronicamente os ácidos gordos não esterificados (AGNE) [6], por outro lado, a que a redução dos AGNE através do uso de antilipêmico, melhorou a sensibilidade a insulina em pacientes diabéticos [6]. Os AGNE induzem a β-oxidação com aumento da produção de acetil-CoA, levando a uma diminuição da oxidação da glicose, e comprometem a excreção de insulina pelas células β-pancreáticas [12]. Em nosso estudo, os teores de AGNE não diferiram entre os grupos, possivelmente pela produção leiteira dos animais não ser elevada, pelo grau de adiposidade adequado (ECC 3,0 ± 0,13 ao momento do parto), além de os animais não apresentarem alterações clínicas durante o experimento, fatores estes que contribuíram para manter os níveis de AGNE dentro do esperado para o periparto de vacas leiteiras [16].

As vacas do GB tiveram maiores concentrações sanguíneas de cálcio do que vacas do GA, divergindo de resultados prévios, já que a liberação de insulina pelas células β-pancreáticas é dependente de cálcio [24]. Estudo utilizando ovelhas gestantes submetidas

ao TTG, demonstrou uma correlação negativa entre cálcio sérico e insulina, e maiores valores de glicose em comparação a ovelhas não gestantes [21]. Os resultados deste estudo podem ser atribuídos a maior ativação do osteocalcina subcarboxilada nos animais do GB, hormônio do sistema ósseo envolvido na homeostase do cálcio, glicose e insulina [25]. Outro fator, que pode explicar os maiores teores de cálcio no GB, é que a maior produção de leite demanda maior quantidade de cálcio para a produção de caseína, aumentando a mobilização óssea, a absorção intestinal e a reabsorção renal de cálcio para atender às necessidades.

O Mg desempenha papel importante nos mecanismos de resistência à insulina devido a sua atuação como cofator do receptor de insulina, por isso casos de hipomagnesemia estão geralmente relacionados a maior resistência periférica à insulina em humanos [2,10]. Também é conhecido que a hiperglicemia em diabéticos aumenta a diurese, provocando elevação na filtração de Mg e consequentemente hipermagnesúria, enquanto as concentrações plasmáticas diminuem [14]. Em bovinos, a magnesemia é dependente da ingestão diária de Mg [8], podendo ser afetada por fatores que causam diminuição do consumo voluntário, como a acidose ruminal, cetose entre outras alterações que podem ser observadas no pós-parto [22]. Além do mais, um rigoroso controle do metabolismo renal de Mg, a fim prevenir alterações nos seus teores, provoca o aumento na excreção urinária deste mineral em casos de hipermagnesemia e redução em casos de hipomagnesemia [22]. Estas observações associadas ao fato que os animais deste estudo receberem suplementação mineral na dieta, a fim de prevenir possível deficiência mineral das pastagens, justificam a falta de alterações no metabolismo do Mg em animais intolerantes a glicose.

Contrariando nossa hipótese, os animais com menor taxa de metabolização da glicose (GB) não tiverem excreção urinária de Ca e Mg aumentada no pós-parto. Em seres humanos a resistência à insulina tem um papel na perda de Ca pelo organismo, e na ocorrência de hipocalcemia, sendo observada a presença de cálculos renais devido ao aumento da excreção de Ca e Mg em pacientes portadores de diabetes tipo II [3,9]. Segundo Hoenderop & Bindels [7] pacientes diabéticos, apresentam maior excreção de cálcio devido às alterações no co-transporte $Na^{+}Ca^{-}$ no túbulo contorcido distal. Ressalta-se que o aumento da excreção diária destes minerais em seres humanos, está relacionado a condições graves e estágio avançado da doença, porém em bovinos a resistência à insulina é transitória e, devido as condições dos animais estudados, não foi possível observarmos alterações na excreção urinária de Ca e Mg.

CONCLUSÃO

Vacas leiteiras multíparas que possuem menor taxa de metabolização da glicose no 9 dia pós-parto apresentam maiores teores sanguíneos de glicose e maior produção de leite, não levando a alterações no comprometimento na excreção urinaria de Mg e Cálcio. Mais trabalhos precisam ser realizados com animais em outras condições metabólica mais desafiadoras (maior produção de leite associados a maiores níveis de AGNE) para elucidar melhor a relação da taxa de metabolização de glicose, com a excreção urinária de Ca e Mg em bovinos e a consequente ocorrência de hipocalcemia e hipomagnesemia.

MANUFACTURERS
[1]Laboratório Prado S/A. Curitiba, PR, Brazil.
[2]GraphPad Software Inc. La Jolla, CA, USA.
[3]BD Vacutainer. Franklin Lakes, NJ, USA.
[4]Labtest Diagnostica. Lagoa Santa, SP, Brazil.
[5]Wako Chemicals. Richmond, VA, USA.
[6]Source Immuno Assays S.A. Louvain-la-Neuve, WB, Belgium.
[7]DeLaval. Kansas City, MO, USA.
[8]SAS Institute Inc. Cary, NC, USA.

Acknowledgements. Os autores agradecem a Granja 4 Irmãos S.A. por fornecer as vacas e instalações de fazenda para o experimento e a Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) para a bolsa de estudos fornecida.

Ethical approval. Esta pesquisa foi realizada após avaliação e aprovação da Comissão de Ética em Experimental Animal da Universidade Federal de Pelotas, com protocolo n°6523.

Declaration of interest. The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of paper.

REFERENCES

1 **Ballou M.A., Gomes R.C., Juchem S.O. & DePeters E.J. 2009.** Effects of dietary supplemental fish oil during the peripartum period on blood metabolites and hepatic fatty acid compositions and total triacylglycerol concentrations of multiparous Holstein cows. *Journal of Dairy Science*. 92(2): 657-669.

2 **Barbagallo M., Dominguez L.J., Galioto A., Ferlisi A., Cani C., Malfa L., Pineo A., Busardo' A. & Paolisso G. 2003.** Role of magnesium in insulin action, diabetes and cardio-metabolic syndrome X. *Molecular Aspects of Medicine*. 24(1-3): 39-52.

3 **De Koster J.D. & Opsomer G. 2013.** Insulin resistance in dairy cows. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*. 29(2): 299-322.

4 **Defronzo R.A., Goldberg M. & Agus Z.S. 1976.** The Effects of Glucose and Insulin Electrolyte Transport Renal. *American Society for Clinical Investigation* 58(1): 83-90.

5 **Geloneze B. & Tambascia M.A. 2006.** Avaliação Laboratorial e Diagnóstico da Resistência Insulínica. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia. 50*(2): 207-215.

6 **Grapov D., Adams S.H., Pedersen T.L., Garvey W.T. & Newman J.W. 2012.** Type 2 Diabetes Associated Changes in the Plasma Non-Esterified Fatty Acids, Oxylipins and Endocannabinoids. *PLoS ONE*. 7(11): 1-11.

7 **Hoenderop J.G.J. & Bindels R.J.M. 2005.** Epithelial Ca2+ and Mg2+ channels in health and disease. *Journal of the American Society of Nephrology. 16(1): 15-26.*

8 **Holtenius K., Kronqvist C., Briland E. & Spörndly R. 2008.** Magnesium absorption by lactating dairy cows on a grass silage-based diet supplied with different potassium and magnesium levels. *Journal of Dairy Science*. 91(2): 743-748.

9 **Jawerbaum A. & White V. 2010.** Animal models in diabetes and pregnancy. *Endocrine Reviews*. 31(5): 680-701.

10 **Kahn C.R. 1978.** Insulin resistance, insulin insensitivity, and insulin unresponsiveness: a necessary distinction. *Metabolism: Clinical and Experimental*. 27(2): 1893-1902.

11 **Kerestes M., Faigl V., Kulcsár M., Balogh O., Földi J., Fébel H., Chilliard Y. & Huszenicza G. 2009.** Periparturient insulin secretion and whole-body insulin responsiveness in dairy cows showing various forms of ketone pattern with or without puerperal metritis. *Domestic Animal Endocrinology*. 37(4): 250-261.

12 **Lewis G.F., Carpentier A., Adeli K. & Giacca A. 2002.** Disordered fat storage and mobilization in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Endocrine Reviews*. 23(2): 201-229.

13 **Littell R.C., Henry P.R. & Ammerman C.B. 1998.** Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. *American Society of Animal Science.* 76(4): 1216-1231.

14 **McNair P., Christiansen C., Madsbad S., Lauritzen E., Faber O., Binder C. & Transbøl I. 1978.** Hypomagnesemia, a risk factor in diabetic retinopathy. *Diabetes*. 27(11): 1075-1077.

15 **Oikawa S. & Oetzel G.R. 2006.** Decreased insulin response in dairy cows following a four-day fast to induce hepatic lipidosis. *Journal of Dairy Science*. 89(8): 2999-3005.

16 **Raboisson D., Mounié M. & Maigné E. 2014.** Diseases, reproductive performance, and changes in milk production associated with subclinical ketosis in dairy cows: a meta-analysis and review. *Journal of Dairy Science*. 97(12): 7547-7563.

17 **Regnault T.R.H., Oddy H.V., Nancarrow C., Sriskandarajah N. & Scaramuzzi R.J. 2004.** Glucose-stimulated insulin response in pregnant sheep following acute suppression of plasma non-esterified fatty acid concentrations. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2(64): 1-10.

18 **Roche J.R., Friggens N.C., Kay J.K., Fisher M.W., Stafford K.J. & Berry D.P. 2009.** Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. *Journal of Dairy Science*. 92(12): 5769-5801.

19 **Roeder B.L., Su C.L. & Schaalje G.B. 1997.** Acute effects of intravenously administered hypertonic saline solution on transruminal rehydration in dairy cows. *American Journal of Veterinary Research*. 58(5): 549-554.

20 **Schlumbohm C. & Harmeyer J. 2003.** Hypocalcemia reduces endogenous glucose production in hyperketonemic sheep. *Journal of Dairy Science*. 86(6): 1953-1962.

21 **Schmitt E., Schneider A., Goulart M.A., Schwegler E., Pereira R.A., Hoffmann D.A.C., Lopes M.S., Hax L.T., Del Pino F.A.B. & Corrêa M.N. 2012.** Correlação entre cálcio e insulina durante o teste de tolerância à glicose em ovelhas gestantes e não gestantes. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 64(5): 1127-1132.

22 **Schonewille J.T. 2013.** Magnesium in dairy cow nutrition: An overview. *Plant and Soil*. 368(1-2): 167-178.

23 **Tabeleão V.C., Pino Goulart M.A., Schwegler E., Weiser M., Moura S.V., Pereira R.A., Del Pino F.A.B. & Correa M.N. 2008.** Influência da monensina e levedura sobre parâmetros ruminais e metabólicos em cordeiros semiconfinados. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*. 30(2): 181-186.

24 **Walz H.A., Wierup N., Vikman J., Manganiello V.C., Degerman E., Eliasson L. & Holst L.S. 2007.** βcell PDE3B regulates Ca2+-stimulated exocytosis of insulin. *Cellular Signalling*. 19(7): 1505-1513.

25 **Wu Y., Yu T., Zhang X., Liu Y., Li F., Wang Y., Wang Y. & Gong P. 2012.** 1,25(OH)2D3 inhibits the deleterious effects induced by high glucose on osteoblasts through undercarboxylated osteocalcin and insulin signaling. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 132(1-2): 112-119.

26 **Zachut M., Honig H., Striem S., Zick Y., Boura-Halfon S. & Moallem U. 2013.** Periparturient dairy cows do not exhibit hepatic insulin resistance, yet adipose-specific insulin resistance occurs in cows prone to high weight loss. *Journal of Dairy Science*. 96(9): 5656-5669.

27 Zhao F.Q. & Keating A.F. 2007. Expression and regulation of glucose transporters in the bovine mammary gland. *Journal of Dairy Science*. 90(1): 76-86.

http://dx.doi.org/10.22456/1679-9216.83472