

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA
VETERINÁRIA (PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)

CÁLCIO, FÓSFORO E MAGNÉSIO NO HUMOR VÍTREO DE
BOVINOS NO SUL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

FÁTIMA ITZEL VALDÉS PERÉZ

2018



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA
VETERINÁRIA (PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)

CÁLCIO, FÓSFORO E MAGNÉSIO NO HUMOR VÍTREO DE
BOVINOS NO SUL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

Fátima Itzel Valdés Pérez

Sob orientação da Professora

Rita de Cássia Campbell Machado Botteon

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre** em Medicina Veterinária pelo Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de concentração Ciências Clínicas.

Seropédica, RJ

Abril de 2018

P428c Pérez , Fatima Itzel Valdés , 1989-
Cálcio, fósforo e magnésio no humor vítreo de
bovinos no sul do estado do Rio de Janeiro / Fatima
Itzel Valdés Pérez . - 2018.
63 f.: il.

Orientadora: Rita de Cássia Campbell Machado
Botteon . Dissertação (Mestrado). -- Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro, Pós-graduação em
Medicina Veterinária , 2018.

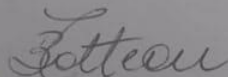
1. Humor Vítreo. 2. Diagnóstico de Hipomagnesemia.
3. Doenças Metabólicas . 4. Tetania. I. Botteon , Rita
de Cássia Campbell Machado, 1964-, orient. II
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Pós
graduação em Medicina Veterinária III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

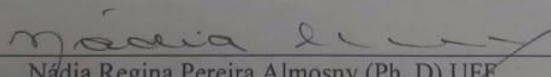
FÁTIMA ITZEM VALDÉS PEREZ

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária, no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de Concentração em Ciências Clínicas.

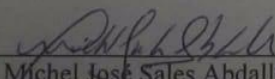
DISSERTAÇÃO APROVADA EM 02/04/2018



Rita de Cássia Campbell Machado Botteon (Ph. D) UFRRJ
(orientador)



Nádia Regina Pereira Almosny (Ph. D) UFF



Michel José Sales Abdalla Helayel (Ph. D) UFF

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar a Deus, que iluminou o meu caminho nesta caminhada.

A minha orientadora, Rita Botteon, um agradecimento carinhoso por ter me acolhido e me ajudado à concluir este trabalho. Eu posso dizer que minha formação, inclusive pessoal, não teria sido a mesma sem a sua pessoa.

Aos meus amados pais Carlos Valdés e Socorro de Valdés, meus irmãos Julissa Valdés, Carlos Valdés, Ariel Garcia Mayorca, e minha preciosa sobrinha Emma Garcia Mayorca, meu melhor e maior presentes. Valeu a pena toda a distância, todo o sofrimento, todas as renúncias. Valeu a pena esperar. Hoje estamos colhendo, juntos, os frutos do nosso empenho. Esta vitória é nossa.

Ao Prof. Paulo Botteon, por sempre estar por perto pra ajudar e tirar todas as dúvidas em relação ao curso.

Ao colega Dr. Alexandre e a todos do Frigorífico Irapuru, pela boa vontade em mudar a rotina e prontidão em me atender, essenciais para o desenvolvimento deste trabalho.

A grande amiga Bianca Pachiel Medeiros, obrigada pela paciência, pelo incentivo, pela força e principalmente pelo carinho.

Aos amigos de laboratório, pelos trabalhos desenvolvidos, troca de experiências, aprendizado e boa companhia.

A todos os professores do PPGMV, pelos ensinamentos transmitidos. A todos os outros amigos que estiveram presentes durante o mestrado, dividindo o peso dessa jornada e comemorando cada conquista comigo.

RESUMO

VALDES PEREZ, Fatima Itzel. 2018. 63p. **Cálcio, fósforo e magnésio no humor vítreo de bovinos no sul do estado do Rio de Janeiro**. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Ciências Clínicas). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018.

Devido à incidência elevada de hipomagnesemia em alguns países e inexistência de levantamentos realizados no Brasil, objetivou-se avaliar as concentrações de magnésio em humor vítreo de bovinos abatidos no Rio de Janeiro, no início da primavera, visando investigar a ocorrência de animais em condições de desenvolver a hipomagnesemia clínica. Foram avaliados olhos de 116 bovinos adultos. Os olhos, um de cada animal, foram obtidos imediatamente após a morte e manipulados para obtenção do humor vítreo, em ambiente refrigerado. O vítreo foi colhido por aspiração com agulha calibre 27x7 mm, inserida no canto lateral do olho. Aproximadamente 1,0 ml do líquido foi centrifugado a 3000g, por 15 minutos. O sobrenadante foi aspirado com pipeta descartável, acondicionado em frascos sem conservantes e mantido a -20 °C. Foram realizados ensaios para magnésio utilizando-se kits comerciais em espectrofotômetro digital automático. A média dos valores obtidos ($1,99 \pm 0,3$ mg/dl) foi normal ou baixa segundo a fonte consultada. No humor vítreo de 66 animais (56,9%) a concentração do magnésio foi menor que 2,02 mg/dl, indicativo de hipomagnesemia, configurando uma condição de alta probabilidade de a hipomagnesemia clínica (tetania) ocorrer nas condições do presente estudo. A possibilidade de realizar o diagnóstico *post-mortem* por meio da análise do humor vítreo é importante para a adoção de medidas preventivas e/ou curativas em rebanhos em condições de risco.

Palavras Chaves: hipomagnesemia, tetania, lactação, pastagens, olhos, doenças metabólicas

ABSTRACT

VALDES PEREZ, Fatima Itzel. 2018. 63p. **Calcium, phosphorus and magnesium in vitreo humor of cattle in south of Rio de Janeiro**. Dissertation (Master's Degree in Veterinary Medicine, Clinical Sciences). Institute of Veterinary Medicine, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018.

Due to the high incidence of hypomagnesaemia in some countries and the absence of studies in Brazil, we want to evaluate the concentrations of magnesium in the vitreous humor of slaughtered bovines in the state of Rio de Janeiro in early spring, aiming to investigate the occurrence of animals under conditions of clinical hypomagnesemia. A total of 116 eyes of adult bovines of different ages and breeds were evaluated. We extracted an eye of each animal to evaluate, immediately after the slaughter and were manipulated to obtain the vitreous humor, under appropriate temperatures conditions. The vitreous humor was collected by aspiration with a 27x7 mm needle, inserted in the lateral corner of the eye. Approximately 1.0 ml of liquid was centrifuged (3000rpm, 15 minutes), the supernatant aspirated with disposable micropipette, packaged in eppendorfs tubs without preservatives was kept at -20 °C. Tests were performed to determine magnesium concentrations using commercial kits in spectrophotometer automatic digital. The mean of the values obtained (1.99 ± 0.3 mg/dl) was normal or low according to the source consulted. In 66 animals (56,9%) the concentration of magnesium in the vitreous humor was lower, 2.02 mg/dl, indicative of hypomagnesemia, demonstrating a high probability condition of clinical hypomagnesemia (tetany) can develop in the conditions outlined in the present study. The possibility of making a post-mortem diagnosis through vitreous humor analysis is important for the prevention of these diseases and to search for curative measures in those risky areas.

Keywords: hypomagnesemia, tetany, pastures, lactation, eyes, metabolic diseases

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
ATPase	Adenosinatrifosfatases
Ca	Cálcio
dL	Decilitro
g	Gramo
GGT	Gama glutamil transpeptidase
IV	Instituto da Veterinária
K	Potássio
LCR	Líquido cefaloraquidiano
Mg	Magnésio
MgCO ₃	Carbonato de magnésio
MgCa (CO ₃) ₂	Carbonato duplo de cálcio e magnésio
MgO	Óxido de magnésio
MgSO ₄	Sulfato de magnésio
mL	Mililitro
mmol	Milimole
MS	Matéria Seca
Na	Sódio
nM	Nanômetro
P	Fósforo
pH	Potencial hidrogeniônico
RJ	Rio de Janeiro
UFRRJ	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
%	Porcentagem
°C	Celsius

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Órbita em crânio bovino, vista lateral. Fonte: <http://zootecniaufms.blogspot.com/2012/04/anatomia-ossos-cranio-bovino.html>.....2
- Figura 2: Representação esquemática do olho (PASSOS; ANDRADE-NETO; LEMAIRE, 2008). Fonte: <http://www.ibol.com.br/especialidades.asp?id=44&Areas+de+especialidade>.....3
- Figura 3: Potenciais inter-relações entre os minerais. Fonte: NRC (2000).7
- Figura 4: Olhos de bovinos obtidos imediatamente após o abate e a enucleação praticada na sala de abate. Barra Mansa, Rio de Janeiro, outubro de 2017. Fonte: arquivo pessoal.23
- Figura 5: Demonstração da técnica de coleta de humor vítreo em olho humano. Fonte: .23
- Figura 6: Aspiração do humor vítreo de globo ocular bovino, com seringa descartável de 5,0 mL e agulha hipodérmica calibre 40x12 mm, inserida no canto lateral do olho. Fonte: Arquivo pessoal.24
- Figura 7: Manipulação do humor vítreo após aspiração do globo ocular. Acondicionamento de 1,0 mL em frascos tipo eppendorf. Seropédica, RJ, outubro de 2017. Fonte: arquivo pessoal.24
- Figura 8: Amostras de humor vítreo bovino, preparadas para centrifugação (3000g, 15 minutos, a 23 °C). Fonte: arquivo pessoal.25

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Concentrações (nM) de solutos de baixo peso molecular no humor vítreo, humor aquoso e plasma de coelho (BERMAN, 1991).	4
Quadro 2: Concentrações minerais, ureia e creatinina em amostras pós-morte de soro sanguíneo, humor aquoso e humor vítreo de 34 vacas (WITTWER et al., 1992).....	6
Quadro 3: Funções metabólicas mais importantes do cálcio, fósforo e magnésio no organismo animal. Adaptado de González (2000).	8
Quadro 4: Amostras para diagnóstico de hipomagnesemia em bovinos e concentrações de magnésio nos fluidos corporais. Fonte: Corbellini et al. (1992).	14
Quadro 5: Concentrações mínimas de cálcio, fósforo e magnésio no humor vítreo de bovinos sadios segundo os pesquisadores.	19

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: concentração de magnésio e cálcio (mg/dl e mmol/l) em humor vítreo de bovinos adultos abatidos na região sul do Estado do Rio de Janeiro, na primavera e início das chuvas (novembro de 2017)	26
---	----

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	2
2.1.	Olho.....	2
2.2.	Humor Vítreo.....	2
2.3.	Os Minerais.....	7
2.3.1	Cálcio.....	9
2.3.2	Fósforo.....	10
2.3.3	Magnésio.....	11
2.4.	Hipomagnesemia - Tetania Hipomagnesêmica.....	15
2.4.1	Etiologia.....	15
2.4.2.	Epidemiologia.....	16
2.4.3.	Importância – Ocorrência.....	17
2.4.4.	Achados clínicos.....	17
2.4.5.	Diagnóstico.....	18
2.4.6.	Tratamento.....	20
2.4.7.	Controle.....	20
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	22
3.1.	Local e Animais.....	22
3.2.	Coleção de amostras.....	22
4	RESULTADOS e discussão.....	26
4.1.	Magnésio.....	26
4.2.	Cálcio e Fósforo.....	29
5	CONCLUSÕES.....	33
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34

1 INTRODUÇÃO

Em bovinos, o diagnóstico *post-mortem* de várias enfermidades, especialmente as que cursam com morte súbita, é difícil ou impossível de realizar mediante necropsia devido à falta de lesões específicas ou ao avançado estado de autólise. Também é improvável a obtenção de sangue em condições de análise, devido às rápidas degradações bioquímicas que ocorrem após a morte, e contaminação microbiana dos tecidos e fluidos corporais. O humor vítreo se apresenta como uma opção útil, sobretudo para o diagnóstico de hipomagnesemia, uma doença metabólica que pode ocorrer como surtos, especialmente no início da primavera. Seu curso agudo impede, em muitos casos, observar sinais clínicos e frequentemente os animais são encontrados mortos. O diagnóstico é feito na maioria dos casos através da história e sinais clínicos presentes ou não antes da morte, especialmente em fazendas de criação extensiva. Por esta razão, o uso de humor vítreo que é fácil de obter e analisar permite corroborar o diagnóstico clínico de forma rápida e econômica, especialmente nos casos em que, as amostras de sangue não podem ser obtidas antes da morte.

Graças à sua localização, suas condições físicas e químicas, o vítreo é altamente estável e relativamente bem protegido da contaminação microbiana. Dessa forma, o vítreo tem sido considerado muito útil em patologia forense, particularmente para análise *post-mortem* de distúrbios relacionados à glicose, nitrogênio ureico, ácido úrico, creatinina, sódio e cloro. A determinação desses analitos pode servir para avaliar o nível de hidratação, o equilíbrio de eletrólitos e a função renal, além de alterações metabólicas.

Apesar do uso e das inúmeras investigações realizadas é discutida a relação entre os níveis vítreos e séricos das substâncias. A falta de linearidade não deve ser um fator limitante, mas um guia para melhorar a prática clínica que trabalha em estreita colaboração com as evidências da pesquisa aplicada.

No Brasil, há poucas informações sobre a incidência de doenças metabólicas (incluindo a hipomagnesemia), bem como sobre suas implicações. Devido à incidência elevada em alguns países e inexistência de levantamentos realizados no Brasil, objetivou-se neste estudo, avaliar as concentrações de magnésio, cálcio e fósforo em humor vítreo de bovinos adultos abatidos no Rio de Janeiro, no início da primavera, visando a investigar a possibilidade de ocorrência de condições para desenvolver a hipomagnesemia clínica.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Olho

O olho é um órgão sensorial cuja função primária é colher e focalizar luzes sobre a retina fotossensível, localizado em uma cavidade óssea denominada órbita (Figura 1) (LEITE; OLIVEIRA; BARALDI-ARTONI, 2013), que aloja o bulbo e várias outras estruturas do tecido mole e os anexos oculares (FRANDSON et al., 2005). É constituído pelas túnicas fibrosa, vascular e nervosa, além da lente, humor aquoso, humor vítreo e estruturas acessórias, como pálpebras, conjuntiva, aparelho lacrimal e músculos extraoculares (SEELEY; STEPHENS; TATE, 2006; SCHVARTZ; STRACHAN; LOPES, 2009).

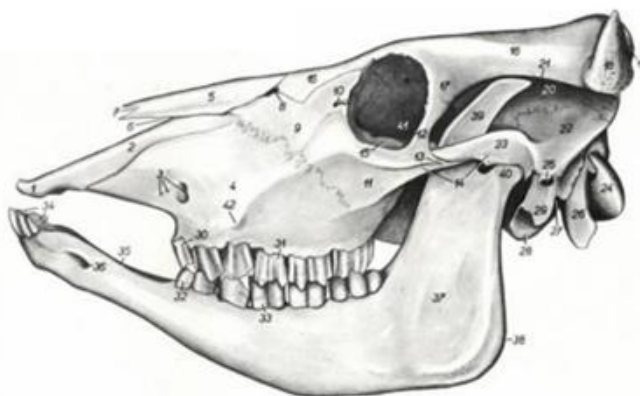


Figura 1: Órbita em crânio bovino, vista lateral. Fonte: <http://zootecniaufms.blogspot.com/2012/04/anatomia-ossos-cranio-bovino.html>

2.2. Humor Vítreo

O humor vítreo é um líquido claro, transparente e semiviscoso presente no segmento posterior do olho, entre o cristalino e a retina (Figura 2) (FRANDSON; WILKE; FAILS, 2005). Essas propriedades são devidas ao colágeno e ao ácido hialurônico (e à interação entre ambos), cujo teor varia entre espécies. O colágeno pode

ser sedimentado por centrifugação de alta velocidade (BALANZS et al., 1959). O peso e o volume variam com a idade e o tamanho dos olhos (BALAZS, 1984).

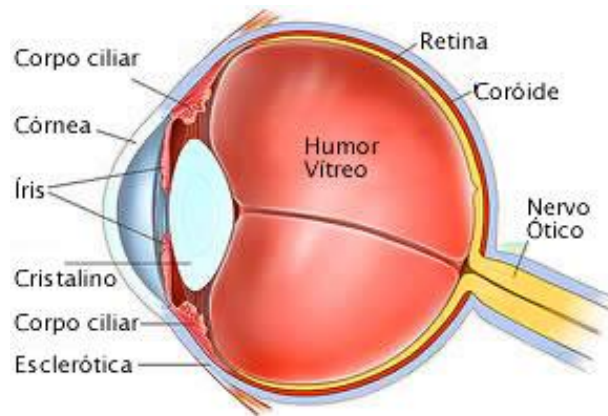


Figura 2: Representação esquemática do olho (PASSOS; ANDRADE-NETO; LEMAIRE, 2008).

Fonte:

<http://www.ibol.com.br/especialidades.asp?id=44&Areas+de+especialidade>

O vítreo é essencialmente acelular, mas células isoladas podem ser encontradas no córtex (parte mais periférica do vítreo), principalmente perto da base vítrea, nervo óptico e vasos da retina. De acordo com Ramalho (2013), as células vítreas são classificadas em hialócitos, células ovais ou reniformes, de 10 a 15 micrômetros de diâmetro com a capacidade de sintetizar colágeno e fibroblastos.

O vítreo tem como função manter o formato do olho e dificultar o descolamento de retina (SÁNCHEZ et al., 2002). Sua composição é 99% água e o 1% restante é constituído de componentes inorgânicos, ácidos (hialurônico, siálico, ascórbico e láctico), lipídeos, glicose, albumina, globulinas e aminoácidos (SÁNCHEZ et al., 2002).

Íons e solutos orgânicos no vítreo podem ter origem nos tecidos oculares adjacentes (lente, epitélio ciliar e retina) e no plasma. As barreiras que controlam a entrada de substâncias no vítreo estão localizadas no endotélio vascular dos vasos da retina, epitélio pigmentar da retina e na camada interna do epitélio ciliar. Apesar das quantidades muito pequenas de proteínas que atravessam estas barreiras, a entrada de substâncias de baixo peso molecular não é impedida. De acordo com Berman (1991) as

concentrações de sódio e cloreto são semelhantes às encontrados em soluções aquosas e no plasma (Quadro 1).

Quadro 1: Concentrações (nM) de solutos de baixo peso molecular no humor vítreo, humor aquoso e plasma de coelho (BERMAN, 1991).

Soluto	Humor Vítreo	Humor Aquoso	Plasma
Sódio	134	136	143
Potássio	9.5	5.0	5.6
Cloreto	104	96	97
Fosfato	0.4	0.6	2
Ascorbato	0.4	1.4	0.04
Glicose	3.0	5.6	5.7
Lactato	12.0	9.9	10.3

Embora relativamente poucos estudos detalhados estejam disponíveis, existem diferenças na composição do humor vítreo entre as espécies (BERMAN, 1991).

O humor vítreo é usado em medicina para estabelecer as possíveis causas de morte. Em patologia humana, é a segunda amostra mais importante para toxicologia forense, após o sangue (MONTEFUSCO-PEREIRA; PINTO, 2016).

Em medicina, são inúmeras as investigações bioquímicas do humor vítreo, em particular para a determinação do intervalo *post-mortem* (COE, 1969; STURNER et al., 1976; BLUMENFELD et al., 1979; MANN; BASS; MEADOWS, 1990; THIERAUF; MUSSHOF; MADEA, 2009; SILKE et al., 2012; MARTINEZ et al., 2016; BELSEY; FLANAGAN, 2016; METUSHI; FITZGERALD; MCINTYRE, 2016; KALRA; MULLA; KOPARGAONKAR, 2016).

Em alguns casos, o humor vítreo é mais adequado que o sangue para análises forenses, visto que é um fluido acelular e menos suscetível a contaminação e alterações bioquímicas. Foi demonstrado que o humor vítreo é totalmente reciclado em 15 minutos (SLATTER, 1991), de modo que sua composição deve refletir o plasma e tem a vantagem de manter a concentração de magnésio estável por 48 horas, em temperatura de até 23 °C (LINCOLN; LANE, 1985). Por estas razões o humor vítreo pode ser utilizado quando o sangue não é viável (KALRA; MULLA; KOPARGAONKAR, 2016).

A aspiração do vítreo deve ser cuidadosa. Recomenda-se utilizar seringa de 5,0 mL e agulha hipodérmica fina. O fluido deve ser aspirado lenta e suavemente e muitas vezes a composição química difere entre os olhos (SAUKKO; KNIGHT, 2004).

Devido a sua viscosidade o humor vítreo pode conter impurezas, devendo ser centrifugado. Para reduzir a viscosidade, recomenda-se o uso de hialuronidase, aquecimento, liquefação ultrassônica e centrifugação, isoladamente ou em combinação. A centrifugação, combinada com a agitação, é reconhecida como o melhor e mais simples método para a preparação de amostras congeladas para análise do humor vítreo, e a centrifugação confere bons resultados (BLANA et al., 2011).

A possibilidade de amostras de humor vítreo apresentar anomalias intrínsecas relacionadas a doenças oftálmicas não é considerada. Recomenda-se não utilizar o vítreo para análise bioquímica quando os olhos sofrem desprendimento de retina, manipulação cirúrgica ou doenças envolvendo a câmara posterior do olho (PARSONS; START; FORREST, 2003).

Palmes et al. (1985) destacaram que as análises do humor vítreo colhido após a morte podem ser empregadas em humanos, para estimar o momento do óbito, avaliar o metabolismo de carboidratos, eletrólitos e a presença de substâncias tóxicas como álcool e drogas. Em medicina veterinária, a análise do vítreo ainda é pouco empregada, havendo relatos de sua aplicação diagnóstica, mediante determinação da concentração de magnésio na hipomagnesemia (McDOWELL, 1992; RAMÍREZ et al., 1998; MATTIOLI et al., 2000, 2002; McCOY et al., 2001; MULLA, 2005), de ureia e creatinina em alterações renais (CHOO-KANG; MCKOY; ESCOFERRY, 1983), de sódio e cloreto nas intoxicações por sal e desidratação (FORMAN, 1980; DEVGUN; DUNBAR, 1986) e de nitrito para o diagnóstico de intoxicações (LINCOLN; LANE, 1985).

Altas concentrações de magnésio foram mensuradas no humor vítreo de indivíduos com doença hepática crônica (GREGORA et al., 1974).

Wittwer et al. (1992) avaliaram as concentrações de cálcio, fósforo, potássio, sódio, magnésio, ureia e creatinina no humor vítreo e aquoso de vacas *post-mortem* em relação aos valores séricos antes da morte e observaram maior concentração de magnésio e creatinina no humor aquoso enquanto que as concentrações de cálcio, sódio e ureia não variaram significativamente entre os fluidos (Quadro 2).

Nem todos os autores concordam sobre o grau de correlação entre magnésio em humor vítreo e no plasma (LINCOLN; ANE, 1985; McLAUGHLIN; McLAUGHLIN, 1987; WITTWER, 1992; McCOY; KENNEDY, 1994). No entanto, um valor em vítreo inferior a 0,831 mmol/L (2,02 mg/d L) corresponde a valores plasmáticos inferiores a

0,741 mmol/L (1,80 mg/ d L) sendo considerado um indicador confiável e suficiente de hipomagnesemia, especialmente quando amostras de vários animais estão disponíveis.

Quadro 2: Concentrações minerais, ureia e creatinina em amostras pós-morte de soro sanguíneo, humor aquoso e humor vítreo de 34 vacas (WITTWER et al., 1992)

Soluto	Soro	Humor aquoso	Humor vítreo
Cálcio (mmol/l)	2,25 ± 0,16	1,05 ± 0,19	1,23 ± 0,22
Magnésio (mmol/l)	0,81 ± 0,19	0,61 ± 0,13	0,85 ± 0,09
Fósforo (mmol/l)	1,81 ± 0,45	1,13 ± 0,45	0,66 ± 0,21
Potássio (mmol/l)	4,38 ± 0,38	3,93 ± 0,58	4,54 ± 0,45
Sódio (mmol/l)	139,7 ± 4,9	141,1 ± 4,5	138,8 ± 5,7
Urea (mmol/l)	5,71 ± 1,54	5,18 ± 1,48	5,39 ± 1,65
Creatinina (µmol/l)	114,3 ± 16	42,4 ± 8,9	50,9 ± 10,7

Em casos de tetania hipomagnesêmica induzidos experimentalmente em ovelhas adultas e vacas em lactação, Mc Coy (2004) verificou relações significativas entre as concentrações de magnésio no líquido cefalorraquidiano e no plasma, assim como em humor aquoso e no vítreo. Em animais vivos recém-mortos, concentrações de magnésio abaixo de 0,25 mmol/L em bovinos adultos foram associadas a hipomagnesemia e tetania graves. O humor vítreo foi estável e uma concentração de magnésio menor que 0,55 mmol/L (1,34 mg/ dL) em vacas adultas foi associada a hipomagnesemia grave e tetania. Os autores concluíram que o humor vítreo é um marcador útil e prático no diagnóstico *post-mortem* de tetania hipomagnesêmica em bovinos adultos (<0,25 mmol/L, equivalente a 0,61 mg/dL).

Ramirez et al. (1998), Felmer et al. (1998) e Wittwer et al. (1992) encontraram concentrações de Mg significativamente maiores em humor vítreo do que no plasma. Portanto, valores baixos no vítreo sugerem hipomagnesemia.

Edwards; Foster e Livesey (2009) ao revisarem a utilização de fluidos oculares (humor aquoso e vítreo) como auxiliar no diagnóstico *post-mortem* de bovinos e ovinos, destacaram que a medição *post-mortem* de cálcio, magnésio, beta-hidroxibutirato, ureia e nitratos nos fluidos oculares de ruminantes são úteis e de fácil aplicação.

Atualmente as possibilidades investigativas são inúmeras e incluem análise de DNA (MANN; BASS; MEADOWS, 1990; STOLYSZEWSKI et al., 2007; BELSEY; FLANAGAN, 2016), pesquisa de anticorpos anti HIV (TORMEY, 2016; TAPPERO et

al., 1989; KLATT; SHIBATA; STRIGLE, 1989), choque anafilático (BOYD; BERTINO; SEASHOLS, 2011; GREENBERGER; ROTSKOFF; LIFSCHULTZ, 2007; HAN et al., 2015), glicemia (BOULAGNON et al., 2011; FELBY; NIELSEN; ZILG et al., 2009; THIERAUF et al., 2011; THOMSEN, 2008; BOULAGNON et al., 2011), gestação (Gonadotrofina coriônica) (HAN et al., 2015; FELBY; NIELSEN; THOMSEN, 2008), consumo de álcool e drogas (HARPER, 1989; OSUNA et al., 2000; BELSEY; FLANAGAN, 2016; METUSHI; FITZGERALD; MCINTYRE, 2016).

2.3. Os Minerais

Os minerais desempenham funções essenciais ao organismo. Foram identificadas mais de 50 minerais no organismo animal (UNDERWOOD, 1981), mas apenas alguns são essenciais aos processos metabólicos. Atualmente, 20 minerais são considerados essenciais, exigidos na dieta em quantidades maiores (cálcio, magnésio, fósforo, potássio, cloro, sódio, enxofre - %) ou menores (cromo, cobalto, cobre, iodo, flúor, ferro, manganês, molibdênio, níquel, selênio, silício, vanádio e zinco - mg/kg ou ppm). No entanto, são conhecidas mais de 70 inter-relações (Figura 1) em que a quantidade excessiva de um elemento influencia na absorção ou utilização de outro mineral (NRC, 2000).

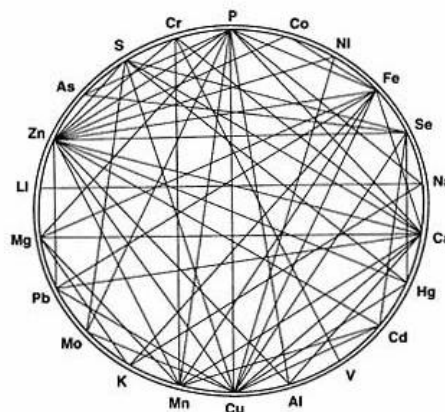


Figura 3: Potenciais inter-relações entre os minerais.
Fonte: NRC (2000).

Os requisitos nutricionais de elementos minerais específicos variam, na dependência da raça, idade, peso, estágio de produção, lactação, estresse e biodisponibilidade mineral (PARISH, 2008).

A distribuição dos elementos nas diferentes partes da planta afeta a biodisponibilidade (WHITEHEAD et al., 1985; McDOWELL, 1985) para o animal. O teor de lignina na parede celular, que varia segundo a maturidade da planta, é o principal determinante da extensão de sua utilização pelo animal (NORTON, 1984). A lignina prende-se, à maioria dos minerais, tornando-os indisponíveis. A intensidade da ligação à fibra depende de outros minerais presentes (CLYDESDALE, 1989).

A queda da utilização dos minerais pelo animal em função da maturidade em forragens temperadas (POWELL et al., 1978; VAN EYS; REID, 1987; FREDEEN, 1989) e gramíneas tropicais (PERDOMO et al., 1977; GUTIÉRREZ, 1978). Contudo, há dados divergentes (GUEGUEN; DEMARQUILLY, 1965; POWELL et al., 1978). Embora importante, ainda não existem informações suficientes para concluir sobre o efeito do estágio de maturação da planta na biodisponibilidade dos minerais.

Os minerais atuam como componentes estruturais dos tecidos corporais (Ca, P, Mg), como eletrólitos mantendo o equilíbrio acidobásico, a pressão osmótica, a permeabilidade das membranas celulares e a transmissão de impulsos nervosos (Na, Cl, K, Ca, Mg), e atuam como catalizadores em sistemas enzimáticos e hormonais (Fe, Co, Cu, Zn, Se e Mg) (RASBY et al., 2011).

Conforme Underwood e Suttle (1999), os minerais podem exercer quatro funções no organismo animal. Contudo, cada função não é exclusiva de um determinado mineral, de forma que, um único mineral pode exercer mais de uma função específica, assim como diversos minerais podem exercer uma função quando no organismo animal (Quadro 3).

Quadro 3: Funções metabólicas mais importantes do cálcio, fósforo e magnésio no organismo animal. Adaptado de González (2000).

Mineral / concentração no organismo (%)	Função
Cálcio / 1 – 2	Mineralização óssea, regulação metabólica, coagulação sanguínea, transmissão de impulsos nervosos.
Fósforo / 0,7 – 1,2	Mineralização óssea, componente de DNA e RNA, parte de compostos de alta energia (ATP), regulação de enzimas alostéricas, componentes dos fosfolipídeos
Magnésio / 0,045	Cofator de mais de 300 enzimas, componente dos ossos, atividade neuro-muscular

Os elementos minerais que faltam com maior frequência em condições tropicais são Ca, P, Na, Co, Cu, I, Se y Zn e em algumas regiões, em condições específicas, pode haver deficiência de Mg, K, Fe e Mn (MCDOWELL et al. 1992).

Os organismos superiores possuem mecanismos homeostáticos responsáveis por manter os minerais em seus locais ativos dentro de limites fisiológicos, apesar de altas e baixas disponibilidades na dieta (MORAES et al., 2001). O grau do controle varia de acordo com o elemento, mas a ingestão contínua de dietas deficientes, desequilibradas ou com níveis excessivamente altos, em particular, de alguns elementos, afetam as funções fisiológicas e desordens estruturais podem ocorrer, as quais diferem conforme o mineral e suas funções específicas, o grau e o tempo de duração além de fatores individuais como idade, sexo e espécie envolvida (UNDERWOOD; MERTZ, 1987).

2.3.1. Cálcio

A maior concentração de cálcio (Ca) está presente na matriz óssea e nos dentes, na forma de fosfato de Ca, constituindo em torno de 99% do Ca presente no organismo (HEANEY et al., 2002). O 1% restante encontra-se distribuído nos meios intra e extracelular (JACKSON et al., 2006).

Os ossos funcionam como uma grande reserva de Ca. As trocas entre os ossos e os tecidos moles são fenômenos contínuos. A reabsorção óssea pode ser maior que a fixação no início da lactação, ou quando a absorção intestinal ou a ingestão são insuficientes (NRC, 1988; HAYS; SWENSON, 1996; ROSOL; CAPEN, 1997).

A concentração de Ca do fluido extracelular é controlada por um complexo mecanismo homeostático envolvendo fluxos de Ca entre o fluido extracelular, o rim, o osso e o intestino, sob a ação dos hormônios da paratireoide (PTH), calcitonina e 1,25-dihidroxitamina D (BRONNER, 2009).

No Brasil, a deficiência primária de Ca é pouco provável em bovinos a pasto uma vez que a maioria das plantas contém níveis suficientes de Ca, os solos deficientes são incomuns e os níveis de Ca não diminuem com a maturação das plantas, como ocorre com o P (MENDONÇA JR et al., 2011), porém, pode ocorrer a deficiência secundária ao excesso de P em bovinos que recebem alimentação abundante em concentrados (TOKARNIA et al., 2000). Estudos apontam que apenas algumas regiões do Pantanal, no

Mato Grosso do Sul apresentam concentrações deficientes de Ca (BRUM et al., 1987; POTT et al., 1987, 1989).

O nível de Ca no plasma sanguíneo da maioria dos animais é bastante constante e os valores referenciais para bovinos são de 8,0 a 12 mg/dL (KANEKO et al., 2008).

No humor vítreo de bovinos são descritos valores de Ca entre 2,46 e 3,53 mg/dL (WITTWER et al., 1992) e entre 2,31 e 4,09 mg/dL em equinos (NOIA et al., 2008).

Quedas sutis nos níveis séricos são suficientes para estimular a liberação de PTH, que promove o aumento da reabsorção tubular renal e da mobilização do osso para o sangue periférico. O PTH é fundamental no controle da homeostase do Ca, agindo direta ou indiretamente em órgãos relacionados ao armazenamento (ossos), à excreção (rins) e à absorção (intestino). Além da hipocalcemia, outros estímulos são o aumento do fósforo extracelular e redução na concentração sérica da forma ativa de vitamina D (calcitriol) (CONSTANZO, 2011). A calcitonina, hormônio secretado pela tireoide, é antagonista do PTH e tem a função de reduzir as concentrações séricas de Ca (CASHMAN, 2002). A vitamina D também atua facilitando a absorção de cálcio nos rim, aumentando a calcificação e mineralização óssea (BRONNER, 2009).

2.3.2. Fósforo

O fósforo está presente predominantemente (80 a 85%) na matriz mineralizada do osso como fosfato de Ca (JACKSON et al., 2006), 3% no trato gastrointestinal e o restante nos demais tecidos orgânicos (BARCELOS, 1998). No sangue ocorre em concentrações de 17 a 20 mg/dL e no soro de 3 a 7 mg/dL (GEORGIEVSKII et al., 1982). O fosfato é o principal ânion intracelular, e participa de diferentes processos metabólicos como crescimento e diferenciação celular, na formação de fosfolipídios e ácidos nucleicos, fosfoproteínas (ROSOL; CAPEN, 1997), constituição estrutural da membrana celular, equilíbrio osmótico e acidobásico e, contração muscular pelo armazenamento nas ligações de trifosfato de adenosina (ATP), além de atuar no metabolismo intermediário de carboidratos, lipídeos e proteínas (GUYTON; HALL, 2006). Além disso, tem importância significativa na atividade dos microrganismos do rúmen (GONZÁLEZ; SILVA, 2006).

A regulação fisiológica deste elemento está intimamente ligada ao Ca, por ação da vitamina D, da calcitonina e do PTH. O PTH influencia a absorção intestinal, a excreção

tubular e a fixação nos ossos, em função da concentração de Ca no sangue. Estimula também a conversão para a forma ativa da vitamina D que atua no metabolismo do Ca e do P (GUYTON; HALL, 2006). A absorção do P ocorre no intestino delgado na dependência da fonte utilizada, da quantidade ingerida, da relação Ca:P, do pH intestinal, da idade do animal e dos níveis dietéticos de Ca, ferro, alumínio, manganês, potássio, magnésio e gordura (TEIXEIRA, 1997). Os rins constituem a principal rota de excreção do P que é livremente filtrado no glomérulo e reabsorvido por um processo de co-transporte de sódio ao nível do túbulo contornado proximal (POLZIN, 2013).

Em períodos de deficiência podem ser removidos até 30% do P ósseo, primeiramente dos ossos esponjosos (costelas e vértebras), para manutenção dos níveis séricos. O P mantém concentrações no sangue relacionadas ao teor de Ca, sendo a concentração molar ideal de 1,67:1,0 (Ca:P) para bovinos (BARCELLOS, 1998).

Para ruminantes em sistema de pastejo o P é o elemento mineral mais limitante devido à deficiência que ocorre naturalmente em diferentes partes do mundo (UNDERWOOD, 1981; TOKARNIA et al., 2000). A deficiência de P é a mais comum e, também a mais importante economicamente, para herbívoros no Brasil (TOKARNIA et al., 2000).

2.3.3. Magnésio

O magnésio (Mg) é o quarto cátion mais abundante no organismo e o segundo mais abundante no compartimento intracelular (WEISINGER; BELLORIN-FONT, 1998). É um metal alcalino terroso conhecido na nutrição como um macroelemento essencial, devido à grande quantidade necessária ao organismo (g/kg). O Mg não é encontrado na forma pura, sendo as principais fontes do mineral, a magnesita (carbonato de magnésio, $MgCO_3$) e a dolomita (carbonato duplo de cálcio e magnésio, $MgCa(CO_3)_2$).

Em torno de 70% do Mg do corpo é armazenado nos ossos, cerca de 29% encontra-se distribuído nos tecidos moles e 1% nos fluídos corporais. Nas forragens, a disponibilidade de Mg é muito baixa (11 a 28%) e levemente superior nos concentrados e grãos (30-40%). Nos ruminantes, o Mg é absorvido especialmente no rúmen, mas também no retículo e omaso. A absorção depende da concentração deste mineral em solução no fluido ruminal e do bom funcionamento dos mecanismos de transporte no

rúmen. A concentração de Mg solúvel no rúmen depende da disponibilidade na dieta, do pH do conteúdo ruminal (quando é maior que 6,5, a solubilidade do Mg é reduzida consideravelmente), teor de matéria seca e água na forragem (a absorção é maior em forragem madura do que em forragens tenras), teor de Na, K, e Ca (competem com o Mg nos sítios de absorção), presença de gorduras, sulfatos e citratos, além de alguns produtos de fermentação que incluem amônia, ácidos graxos insaturados (formação de sais de insolúveis), ácido láctico e dióxido de carbono (LANGWINSKI; OSPINA, 2002; MARTENS; SCHWEIGEL, 2000). Adicionalmente a proporção Na:K no conteúdo ruminal afeta o transporte de Mg no epitélio. O NRC (1980) indica que níveis de K superiores a 3% aumentam a incidência de hipomagnesemia.

Seekles (1990) demonstrou que, quando a relação K:(Ca + Mg) na forragem é maior que 2.2 a taxa metabólica aumenta e a incidência de hipomagnesemia aumenta.

A forragem suculenta aumenta a velocidade de passagem dos alimentos pelo rúmen, o que reduz a absorção deste mineral (LITTLEDIKE et al., 1981; GOFF, 1998; BEEDE et al., 1992).

A absorção é limitada e grande parte do mineral ingerido é eliminada nas fezes. Existe uma relação direta entre a quantidade absorvida e excretada pelo rim (LITTLEDIKE; GOFF, 1987; NRC, 1980, 1989) de forma que os níveis urinários podem ser usados para indicar se a ingestão é adequada, sendo um bom indicador de hipomagnesemia (LITTLEDIKE et al., 1981).

A concentração sérica de Mg é regulada pelo equilíbrio dinâmico e interação entre transporte intestinal e renal e pela troca óssea (BLAINE et al., 2015). A homeostase do Mg não é regulada por um sistema de *feedback* hormonal (MARTENS; SCHWEIGEL, 2000). Vários hormônios, incluindo vitamina D, paratormônio, calcitonina, glucagon, aldosterona, hormônio antidiurético, insulina, prostaglandina E2 e catecolaminas, estimulam a reabsorção de magnésio no rim, por mecanismo ainda desconhecido (GONZÁLEZ; RODRÍGUEZ; GARCÍA, 2009).

Em condições normais, 96% do Mg filtrado é reabsorvido nos túbulos renais por vários processos de transporte (FERRÈ; HOENDEROP; BINDELS, 2012; TOKA et al., 2012; TAYLER, 2013). A depleção de fosfatos diminui a reabsorção de Mg nos rins, por um mecanismo desconhecido (GONZÁLEZ; RODRÍGUEZ; GARCÍA, 2009).

Pelo menos 70% do Mg corporal está no osso, a maioria (50%) como cristais de hidroxiapatita (ELIN, 1987). Sessenta por cento do magnésio sérico está na forma

ionizada, livre, fisiologicamente ativa, que é importante para as funções fisiológicas, 10% complexado e 30% ligado à albumina (KONRAD; SCHLINGMANN; GUDERMANN, 2004, TOPF; MURRAY, 2003; AYUK; GITTOES, 2011).

A reserva óssea não está diretamente envolvida com o controle do Mg sérico, a mobilização é lenta e não ocorre por controle endócrino. Kopple e Coburn (1973), Alfrey et al. (1974) e Spencer et al. (1980) demonstraram que a absorção intestinal de Mg é equilibrada em relação à excreção renal. Em condições de déficit temporário de Mg, o organismo depende da disponibilidade de Mg do osso para manter constante a concentração sérica (ALFREY et al., 1974). Foi demonstrada uma contínua troca de Mg entre o osso e o sangue (RUDE; GRUBER, 2004). No entanto, o osso não é basicamente o órgão responsável pela homeostase do Mg. Primeiramente porque a magnésio está presente no esqueleto em quantidade bem menor que o Ca, e também porque a mobilização dos ossos é lenta. Adicionalmente não é conhecido nenhum mecanismo hormonal específico de controle do Mg (REINHARDT et al., 1988). Embora as reservas de Mg ósseo sejam dinâmicas, os transportadores que medeiam o fluxo de magnésio dentro e fora do osso ainda não foram determinados (BLAINE et al., 2015).

O animal depende basicamente da absorção e da excreção renal para manter as concentrações séricas de Mg e o aporte necessário aos processos metabólicos. Diversos fatores influenciam a absorção do Mg: a concentração de K, Ca, sulfatos, além de alguns produtos de fermentação que incluem amônia, ácidos graxos de cadeia longa, ácido lático e dióxido de carbono. Qualquer excesso é excretado através da urina. Por outro lado, se a saída (secreção de leite e perda endógena) exceder o influxo, a hipomagnesemia ocorre devido à falta de mecanismos hormonais (MARTENS; SCHWEIGEL, 2000).

Níveis normais no plasma sanguíneo para gado leiteiro variam entre 1,8 e 2,4 mg/100 ml (GOFF, 1998; NCR, 1980; 1989; REINHARDT, 1988), ou 1,8 e 3,2 mg/dL (CORBELLINI et al., 1992). A concentração de Mg no líquido extracelular é essencial para manter o potencial da membrana em repouso no tecido nervoso e na placa neuromuscular e, portanto, seu decréscimo para valores inferiores a 1,2 a 1,5 mg/dL pode levar a tetania (Quadro 4).

Quando os níveis plasmáticos são de 1,1 a 1,8 mg/100ml e menor que 1,1 mg/100ml, a hipomagnesemia é considerada moderada e grave, respectivamente (CORBELLINI et al., 1992).

Quadro 4: Amostras para diagnóstico de hipomagnesemia em bovinos e concentrações de magnésio nos fluidos corporais. Fonte: Corbellini et al. (1992).

Estado	Concentração de Mg (mg/dL)			
	Plasma	LCR	Humor vítreo	Urina
Normal	1,8 a 3,2	2,1 a 2,6	1,8 a 2,72	>1,5
Deficiente	<1,0	<1,2	<1,1	<0,5

Duração da amostra após a morte: soro – não serve; urina e LCR até 24h; humor vítreo até 48h

O Mg desempenha função em muitas reações enzimáticas indispensáveis ao metabolismo intermediário. Cerca de 300 sistemas enzimáticos são dependentes da presença de Mg. Na mitocôndria, há uma concentração de 60% de Mg, e são os íons de Mg os cofatores necessários em subunidades da cadeia transportadora de elétrons e da piruvato desidrogenase. Está diretamente envolvido no metabolismo dos carboidratos e lipídeos atuando como catalisador de uma ampla variedade processos enzimáticos (AYUK; GITTOES, 2011). Atua na síntese proteica e exerce uma importante função na transmissão e atividade neuromuscular, na qual apresenta efeitos sobre a miosina, na proteína regulatória (troponina), na adenosina trifosfato, no reticulo endoplasmático e em outros pontos de armazenamento de Ca. O Mg atua na liberação de acetilcolinesterase, necessária para degradação da acetilcolina responsável pelo início da contração muscular (TOPF; MURRAY, 2003; KONRAD; SCHLINGMANN; GUDERMANN, 2004; AYUK; GITTOES, 2011).

O Mg e o Ca formam complexos estáveis com os fosfolipídeos que fazem parte das membranas celulares. Dependendo da concentração de ambos, eles podem agir sinergicamente ou antagonicamente. O Mg é denominado "bloqueador natural do canal de cálcio". Na depleção de magnésio há uma maior atividade dos canais de Ca^{2+} nas membranas do retículo sarcoplasmático, aumentando a saída do Ca para o sarcoplasma, e, conseqüentemente, a sua concentração intracelular. O mecanismo pelo qual o Ca retorna aos compartimentos de armazenagem na célula muscular após o impulso nervoso envolve um sistema Ca-Mg-ATPase. O excesso de Ca intracelular leva ao aumento no consumo de oxigênio e ATP e à hiperexcitabilidade. Visto que o cálcio exerce importante papel na contração tanto da musculatura lisa como da esquelética, um quadro de depleção de magnésio pode resultar em câimbras musculares, hipertensão e vasoespasmos coronarianos e cerebrais (FOOD AND NUTRITION BOARD, 1997).

A hipomagnesemia grave leva à hiperexcitabilidade neuromuscular e a convulsões. Todavia, a hipomagnesemia marginal em animais não manifesta os sinais

clássicos, mas em menor habilidade de lidar com o estresse, em mais danos cardíacos e vasculares e em mau funcionamento do organismo (BRILLA; LOMBARDI, 1995).

2.4. Hipomagnesemia - Tetania Hipomagnesêmica

A hipomagnesemia é um desequilíbrio do metabolismo mineral caracterizado por uma rápida depleção dos níveis de Mg no sangue e no líquido cefaloraquidiano. A manifestação clínica, conhecida como tetania das pastagens ou gramíneas, tetania de lactação e tetania de inverno é comum e praticamente só descrita em ruminantes, sobretudo vacas em lactação (RADOSTITIS et al., 2002).

2.4.1. Etiologia

A hipomagnesemia ocorre por um balanço metabólico negativo de Mg, devido a uma menor ingestão e/ou absorção de Mg, uma condição que condiciona uma diminuição na concentração sanguínea que pode afetar uma alta porcentagem de animais, dentro de um rebanho mantido em determinadas condições. Os recursos forrageiros mais frequentemente associados são pastagens peremes e verdes de início da primavera. Fatores na pastagem predisponentes à apresentação de hipomagnesemia são: baixo teor de Mg (menos de 0,20% de MS) e sódio, altos níveis de K (mais de 2,5% de MS), alto teor de água e proteína. Pode ocorrer também pelo aumento das perdas gastrointestinais ou renais, e redistribuição para o espaço intracelular (ZELAL, 2017).

A hipomagnesemia geralmente está associada com a hipocalcemia, o que complica ainda mais o transtorno metabólico (GOFF, 1998). O papel exato do Ca na hipomagnesemia ainda não foi esclarecido.

Em ruminantes, o Mg é absorvido sobretudo no rúmen, por um processo ativo de transporte e é limitada (entre 7 e 35% do Mg ingerido). Por outro lado, a reserva imediata de Mg do organismo é limitada (0,75 g, menos do que os requisitos diários) e o Mg ósseo não é prontamente mobilizável, pela inexistência de um mecanismo hormonal específico. Daí a necessidade de um suprimento diário adequado de Mg, especialmente em períodos de maior requisito, como gestação e lactação (MARTENS; SCHWEIGEL, 2000).

A causa exata da tetania hipomagnesêmica em ruminantes ainda não é bem definida. O fator primário parece ser a inadequada absorção de Mg no aparelho digestivo, sob a influência de diversos fatores individuais, ambientais e dietéticos (WEISS, 2004).

A deficiência na ingestão de magnésio pode ser um fator determinante, mas improvável em condições normais, visto que a deficiência de Mg é incomum nas pastagens e a maioria dos alimentos contém Mg em quantidades suficientes para suprir as demandas. A alta ingestão de K e Na pode interferir com a absorção do Mg, o que pode ser um fator importante na etiologia da hipomagnesemia (ZELAL, 2017).

2.4.2. Epidemiologia

A hipomagnesemia é um problema em bovinos de leite e corte que retornam às pastagens luxuriantes, com predomínio de gramíneas, após a estabulação do inverno, condição comum no Norte da Europa, Reino Unido e Norte da América do Norte, Austrália e Nova Zelândia. É comum também em algumas regiões da Argentina, Chile e Bolívia. Pastagens adubadas com fertilizantes ricos em N e K são as mais incriminadas, assim como as pastagens naturais, na primavera, em que ocorre súbita elevação temperatura ambiente e precipitação, levando ao aparecimento de brotação exuberante. Nestas condições, predominam gramíneas com alto teor de K, baixos níveis de Mg, Ca e Na. A porcentagem de matéria seca é baixa e os níveis de nitrogênio elevado. Altos níveis de amônia no rúmen (oriundo de altos níveis de proteína nas forragens novas) levam à redução da absorção do Mg devido ao aumento do pH do rúmen e menor solubilização do Mg. Bovinos nos dois primeiros meses de lactação e com quatro a sete anos de idade, devido a maior demanda metabólica, são os mais suscetíveis (GOFF, 1998; NRC, 1989).

Farina et al (2013) relataram a apresentação de hipomagnesemia no norte da Bolívia. Longos períodos de seca que precedem um período de chuvas abundantes e altas temperaturas produzem uma vigorosa brotação das pastagens naturais com alta proporção (3,5 a 4,4) de K em relação aos teores de Ca e Mg ($K / Ca + Mg$). Essa relação aumenta a viabilidade de apresentação da hipomagnesemia, uma vez que o K é antagonista direto do Mg tanto nas plantas quanto no rúmen.

2.4.3. Importância – Ocorrência

A presença de manifestações clínicas e as mortes decorrentes da hipomagneseia são um dos principais problemas da indústria do leite e da carne em alguns países (CORBELLINI et al., 1992).

A incidência é variável, de acordo com as condições climáticas, as práticas de manejo e condições agrônômicas às quais as forragens estão sujeitas e a qualidade do mesmo. A incidência pode atingir proporções epidêmicas, e em algumas fazendas podem afetar até 20% das vacas (SYKES, 1993), e as mortes são de 2 a 3% (GOFF, 1998).

No Chile, a hipomagneseia subclínica apresenta uma prevalência de 7% a nível nacional e na décima região, que é a maior concentração de gado no país 12% dos animais são acometidos anualmente (WITTWER et al., 1987). Wittwer et al. (1997) citaram que no sul do Chile, 38% dos decúbitos de origem metabólica que afetam as vacas, cursaram com hipomagneseia.

De acordo com Cseh e Crenovich (1996) a hipomagneseia é a principal causa de morte em gado adulto no Sudoeste da província de Buenos Aires, com taxa de mortalidade de 4% em animais afetados. Para Corbellini (1998), também na Argentina, entre maio e junho, a hipomagneseia é a principal causa de vacas caídas pré e pós-parto, em pastagens naturais, com mortalidade variando entre 1 e 10%.

Späth (2004) relatou que na bacia do Rio Salado – Argentina, a hipomagneseia foi detectada em 15% de um total de 271.000 animais em condições de risco. Pechin; Cseh e Kenny (2011) em estudo conduzido na Argentina, entre novembro de 2006 e junho de 2009, registraram mortalidade variando entre 1 e 1,4%, destacando que a hipomagneseia era primária, devido ao baixo teor na forragem.

No Brasil não existem relatos de incidência e mortalidade de bovinos por hipomagneseia e não há informações científicas sobre a ocorrência clínica da tetania hipomagnesêmica.

2.4.4. Achados clínicos

A sintomatologia depende do nível de Mg no sangue. O quadro clínico mais característico em animais é a tetania, quando os níveis séricos do elemento podem estar até dez vezes abaixo do normal. Quando a hipomagneseia é moderada (1,2 a 1,7

mg/dL), o animal reduz o consumo de alimentos, apresenta irritabilidade e reduz a produção de leite. Quando torna-se severa (menor que 1,2 mg/dL), os animais apresentam hipersensibilidade, hiperestesia, irritabilidade, contrações musculares involuntárias, sialorreia e ranger dos dentes, incoordenação, hiperestesia, tetania e espasmos musculares, polipneia e micção frequente. À medida que o quadro progride o animal mostra contrações tetânicas dos músculos, o que causa desequilíbrio e quedas. Estes episódios são recorrentes e em caso de estresse, o animal pode reagir com uma reação exagerada, queda e espasmos musculares durante os quais, se não tratado de forma rápida e adequado, pode morrer em minutos (NRC, 1980; GOFF, 1998). Um dos sinais mais característicos é que as pálpebras se movem e os olhos oscilam involuntariamente. Quando as amostras de plasma de animais são analisadas, o Mg plasmático é inferior a 0,741 mmol/L (0,8 mg/dL) (NCMN, 1973).

2.4.5. Diagnóstico

O primeiro passo, importante, é o levantamento de dados referentes ao histórico e o exame físico do rebanho. O exame clínico, a realização de necropsias e os estudos histopatológicos podem ajudar consideravelmente no estabelecimento do diagnóstico diferencial. Porém na maioria, a determinação do quadro clínico-patológico, apesar de muito importante, não é suficiente.

É recomendada a determinação da concentração de Mg no sangue ou no líquido cefaloraquidiano (LCR), uma vez é demonstrada uma boa correlação entre a concentração no LCR e a apresentação dos sinais clínicos (ALLSOP; PAULI, 1985).

As amostras de sangue obtidas de animais mortos não são úteis, uma vez que o plasma perde rapidamente valor diagnóstico, devido a liberação de Mg pelas células autolizadas, e é difícil obter amostra de LCR antes de 12 horas e sem hemólise. Por outro lado, os animais mortos não apresentam lesões anatômicas e histopatológicas significativas (CSEH, 1983).

Tem sido proposta a utilização da concentração de Mg no humor vítreo do animal morto como indicativo da magneemia antes da morte. As concentrações de magnésio no humor vítreo de bovinos sadios variam em entre 0,55 e 1,15 mmol/L segundo diversos autores (Quadro 5).

Para avaliar esta possibilidade, vários autores avaliaram a correlação entre a concentração de Mg *post-mortem* no vítreo e no sangue antes da morte, contudo os resultados são controversos (MCCOY et al., 2001; HANNA; BELLAMY; DONALD, 1990; LINCOLN; LANE, 1985; McCOY; KENENDY, 1994; MC LAUGHLING; MC LAUGHLING, 1987; RAMÍREZ et al., 1998; WILKIE; BELLAMY, 1982; WITTWER et al., 1992).

Quadro 5: Concentrações mínimas de cálcio, fósforo e magnésio no humor vítreo de bovinos sadios segundo os pesquisadores.

Autor/ano	Magnésio		Cálcio		Fósforo		Condição
	mmol/L	mg/dl	mmol/L	mg/dl	mmol/L	mg/dl	
Garret et al. (2009)	0,55	1,34	1,0	4,0	-		
Hanna et al. (1990)	1,15	2,79	1,54	6,16	0,40	1,24	
Matiolli et al. (2000)	0,65	1,58	-		-		Hipomagnesemia
Matiolli et al. (2002)	0,83	2,01	-		0,61	1,89	
Lincon e Lane (1985)	0,85	2,07	-		-		Sadios
Wittwer et al. (1992)	0,85	2,07	1,23	4,92	0,66	2,04	Sadios
Corbellini et al. (1992)	0,74	1,8	0,85	2,63	0,66	2,64	Sadios

Alguns autores como Lincoln e Lane (1985), Mc Coy et al. (2001b), McLaughling e McLaughling (1987), Ramírez et al. (1998) e Wittwer et al. (1992) relataram altas correlações entre a concentração de magnésio no humor vítreo após a morte e o sangue antes da morte. Consideram que o HV é útil para avaliação da hipomagnesemia. Outros autores encontraram correlações baixas e consideram que seu uso seria questionável (WILKIE; BELLAMY, 1982; HANNA et al., 1990; MC COY; KENNEDY, 1994).

Matiolli et al. (2000) encontraram correlação baixa entre soro e humor vítreo e segundo a fórmula de regressão obtida, concentrações menores que 2,02 mg/dl no vítreo corresponderiam a valores de hipomagnesemia equivalentes a concentrações séricas menores que 1,8 mg/dl.

2.4.6. Tratamento

Os animais que apresentam hipomagnesemia requerem um tratamento urgente. Recomenda-se a administração de solução de sulfato ou óxido de Mg a 10% intravenoso ou solução de borogluconato de cálcio (8 a 10 g de Ca) e borogluconato, hipofosfito, cloreto ou gluconato de Mg (1,5 a 4 g de Mg), pela via intravenosa (este é o tratamento mais seguro e eficaz). A administração pela via intravenosa de soluções contendo apenas magnésio aumenta o risco de problemas respiratórios como resultado de uma depressão medular, bem como a possibilidade de uma parada cardíaca durante o tratamento. Por outro lado, deve-se igualmente tomar cuidado na administração do sulfato de Mg intravenoso, por sua ação relaxante, usado para eutanásia.

O tratamento nem sempre é bem sucedido, e o sucesso está relacionado ao intervalo entre o início da tetania e o tratamento. Em geral os animais se recuperam em uma hora após o tratamento, quando o Mg no líquido intracelular e cefalorraquidiano retornam aos níveis normais (GOFF, 2014).

A eficiência da administração oral de sais de magnésio (óxido - MgO e sulfato - MgSO₄) para recuperar os valores séricos em vacas com hipomagnesemia em jejum foi demonstrada por Wittwer et al. (1995), sendo recomendada a administração de 50 a 60 g de óxido de magnésio/vaca/dia ou 100 a 150 g de carbonato de magnésio vaca/dia, para todos os animais continuamente durante o período sujeito à tetania. A suplementação por ser indireta, pela aplicação de compostos de Mg (magnesita calcinada) nas pastagens com a finalidade de elevar o teor desse elemento, o que contudo, nem sempre é bem sucedido em função dos diversos fatores que afetam a disponibilidade do mineral nas pastagens e a absorção no rúmen.

2.4.7. Controle

Para evitar a hipomagnesemia, o mineral deve ser fornecido ao animal, exclusivamente por via oral, em condições de maiores exigências. Os animais devem ser suplementados por meio da água potável, em alimentos equilibrados, em blocos ou suplementos minerais ou através do uso de ionóforos, que aumentam a absorção deste mineral em aproximadamente 10%. As leguminosas tendem a acumular quantidade maior

desse elemento e as associações com gramíneas podem contribuir para aumentar o consumo e, portanto, ajuda a prevenir a hipomagnesemia (GOFF, 2014).

Os requisitos totais de magnésio são 20 g/dia para um animal adulto, 30 g/dia para bovinos leite e 6 g/dia para bezerros. No gado leiteiro, recomenda-se 0,25% de magnésio na matéria seca para as vacas no início de lactação, 0,20% para vacas de baixa e média produção e 0,16% para vacas secas (CHESTER-JONES et al., 1989).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local e Animais

Foram avaliados 116 olhos de bovinos adultos, de diferentes idades, da raça holandesa e mestiças, abatidas no Frigorífico Uirapuru, localizado a Rua Aristides Ferreira, Vila Ursulino em Barra Mansa - RJ, segundo normas do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. As coletas foram autorizadas pela Defesa Agropecuária e Coordenadoria de Controle de Qualidade de Produtos Agropecuários Industrializados do Rio de Janeiro.

Os olhos foram obtidos imediatamente após o abate, e a enucleação praticada na sala de abate, pelo Médico Veterinário responsável. Em seguida foram acondicionados em sacos plásticos e transportados em caixas isotérmicas contendo gelo até o Laboratório de Pesquisas Clínicas (LPC), no Instituto de Veterinária (IV) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) onde foram avaliados.

3.2. Coleção de amostras

No laboratório, os olhos (figura 2) foram lavados em água corrente e manipulados para obtenção do humor vítreo, em ambiente refrigerado, temperatura de 23 °C, imediatamente após o transporte, em até 4 horas.

O humor vítreo foi colhido por aspiração com seringa descartável de 5,0 mL e agulha hipodérmica calibre 40x12 mm, inserida no canto lateral do olho (figura 3). Aproximadamente 1,0 ml do líquido foram transferidos para um frasco estéril e imediatamente centrifugado a 3000g por 15 minutos (GRABHERR et al., 2012). O sobrenadante foi separado, acondicionado em frascos tipo eppendorf, sem conservantes, e congelado a 20 °C negativos até o momento das análises.

Foram realizados ensaios bioquímicos para magnésio¹, cálcio² e fósforo³ e utilizando-se kits colorimétricos comerciais (Biosystems) em espectrofotômetro digital automático⁴, segundo especificação do fabricante.

¹ Magnesium Biosystems 12797

² Calcium MTB Biosystems 11507

³ Phosphorus Biosystems 11508

⁴ Biosystems A15

As amostras foram processadas utilizando-se os volumes indicados de cada reagente, sem diluição.



Figura 4: Olhos de bovinos obtidos imediatamente após o abate e a enucleação praticada na sala de abate. Barra Mansa, Rio de Janeiro, outubro de 2017. Fonte: arquivo pessoal.



Figura 5: Demonstração da técnica de coleta de humor vítreo em olho humano. Fonte: Saukko, 2004.



Figura 6: Aspiração do humor vítreo de globo ocular bovino, com seringa descartável de 5,0 mL e agulha hipodérmica calibre 40x12 mm, inserida no canto lateral do olho. Fonte: Arquivo pessoal.

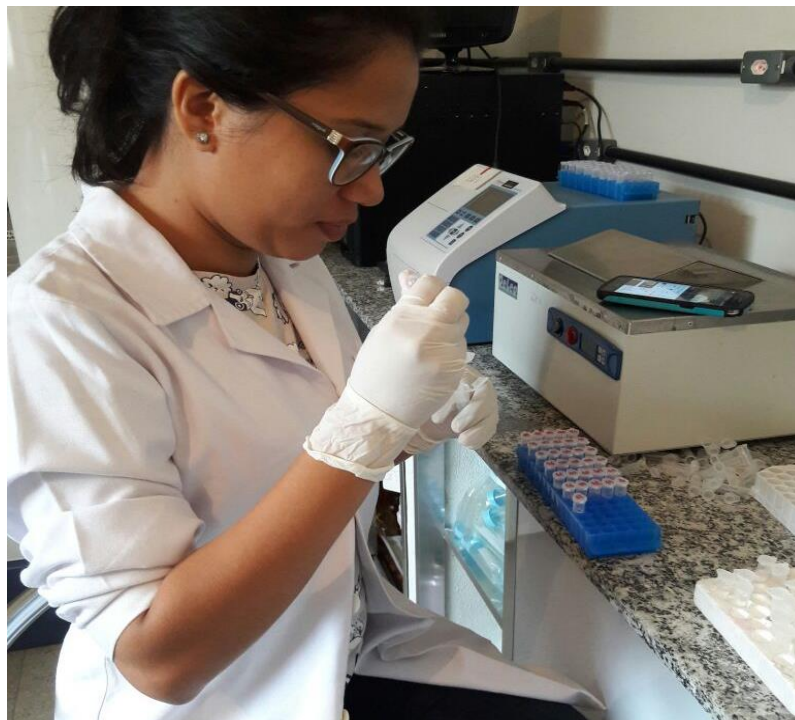


Figura 7: Manipulação do humor vítreo após aspiração do globo ocular. Acondicionamento de 1,0 mL em frascos tipo eppendorf. Seropédica, RJ, outubro de 2017. Fonte: arquivo pessoal.



Figura 8: Amostras de humor vítreo bovino, preparadas para centrifugação (3000g, 15 minutos, a 23 °C). Fonte: arquivo pessoal.

3.4. Análise estatística

Os resultados foram apresentados como média e desvio padrão e discutidos com base nos dados da literatura especializada.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Magnésio

Segundo Lincohn e Lane (1985) e Corbellini et al. (1992) que avaliaram a concentração de Mg *post-mortem* no humor vítreo de bovinos saudáveis, a concentração normal de magnésio no humor vítreo a 23°C em até 48 horas após a morte, varia entre 1,8 e 2,76 mg/dL (LINCOHN; LANE (1985) ou entre 1,8 e 2,70 mg/dL (CORBELLINI et al., 1992). Para Wittwer et al. (1992) as concentrações de Mg no humor vítreo de bovinos sadios variam de 1,86 a 2,28 mg/dL.

Neste estudo, os resultados apresentados como média e desvio padrão na tabela 4 indicam que os valores obtidos no humor vítreo de bovinos abatidos na região Sul Fluminense, no início da estação chuvosa, ficaram dentro do intervalo de referência para a concentração do Mg no humor vítreo de bovinos sadios segundo Lincohn e Lane (1985), Wittwer et al. (1992) e Corbellini et al. (1992). A média de 1,99 mg/dL, foi maior que o limite indicado por esses autores.

Tabela 1: concentração de magnésio e cálcio (mg/dl e mmol/l) em humor vítreo de bovinos adultos abatidos na região sul do Estado do Rio de Janeiro, na primavera e início das chuvas (novembro de 2017)

	Magnésio		Cálcio		Fósforo	
	mg/dl	mmol/L	mg/dL	mmol/L	mg/dL	mmol/L
Média	1,99	0,82	6,24	1,56	1,51	0,49
Desvio padrão	0,31	0,13	0,76	0,19	0,35	0,11
Mínimo	1,28	0,53	3,48	0,87	0,92	0,30
Máximo	3,35	1,38	8,08	2,02	2,51	0,81
Referência*	2,07 ± 0,21	0,85 ± 0,09	4,92 ± 0,88	1,23 ± 0,22	2,04 ± 0,65	0,66 ± 0,21
	1,89 a 2,28	0,76 a 0,94	4,04 a 5,8	1,01 a 1,45	1,89 a 2,28	0,45 a 0,87

* WITTWER et al. (1992)

Matiolli et al. (2000) ao avaliarem a concentração de Mg no humor vítreo de onze bovinos com suspeita de hipomagnesemia encontraram valores entre 1,1 e 1,9 mg/dL, sugerindo o limite de 2,02 mg/dL como indicativo de hipomagnesemia. Os valores aqui

obtidos foram próximos do limite sugerido por esses autores como indicativo de hipomagnesemia.

Em animais sem sinais clínicos sugestivos de hipomagnesemia, no presente estudo obteve-se 47 amostras (40,5%) com Mg menor que 1,90 mg/dL e em 31 (26,8%) a concentração foi menor que 1,8 mg/dL, considerado o limite de normalidade estabelecido por Wittwer et al. (1992) e por Corbellini et al.(1992), respectivamente. O número de amostras com valores indicativos de hipomagnesemia configura uma condição de alta probabilidade de a hipomagnesemia clínica ocorrer nas condições do presente estudo.

Em nenhuma amostra os níveis foram tão baixos quanto 1,1 mg/dL obtidos por Mattioli et al. (2000) em animais com suspeita clínica de hipomagnesemia ou abaixo de 1,34 mg/dL conforme descrito por Mac Coy (2004) em animais com tetania grave.

Apesar de os autores discordarem sobre o grau de correlação entre os teores de Mg no humor vítreo e no sangue antes da morte (McLAUGHLIN, 1987; WITTWER, 1992; McCOY; KENNEDY, 1994). Ramirez et al. (1998); Felmer et al. (1998) e Wittwer et al. (1992) consideraram que valores baixos no vítreo são adequados para prever a hipomagnesemia, especialmente considerando que foram detectados valores significativamente mais altos no vítreo que no plasma. Desta forma, os valores aqui obtidos são relevantes sob o ponto de vista da possibilidade de ocorrência da tetania hipomagnesêmica nas condições deste estudo.

A incidência de hipomagnesemia clínica é variável, e em alguns países ocorre na forma de surtos (SYKES, 1993), com grande número de animais acometidos e mortalidade de até 15% (WITTWER et al., 1987). No Brasil, não há relatos de incidência e mortalidade de bovinos por hipomagnesemia e não há estimativas oficiais de sua ocorrência. Destaca-se a possibilidade de falhas de diagnóstico em função do desconhecimento da possibilidade de sua ocorrência. Os valores aqui obtidos reforçam essa possibilidade.

A hipomagnesemia, conhecida como tetania das pastagens, do pasto, da lactação ou dos transportes, em geral, tem curso hiperagudo ou agudo, o que impede, em muitos casos, a observação de sinais clínicos e frequentemente o animal é encontrado morto (RADOSTITS et al., 2007). O diagnóstico geralmente não é concretizado pela impossibilidade de realização de exames complementares e dificuldade de se obter amostras de fluidos biológicos viáveis. Desta forma, a possibilidade de realizar o diagnóstico *post-mortem* por meio da análise do humor vítreo é importante para

confirmar a suspeita de hipomagnesemia e para a adoção de medidas preventivas e/ou curativas em rebanhos em condições de risco.

É possível que as condições em que a doença ocorre com maior frequência, como pastos em brotação no início da estação chuvosa (no sudeste do Brasil, a primavera) e mudança brusca de alimentação, transporte e estresse (SMITH, 2006), sejam tão comuns aos rebanhos brasileiros quanto em países em que a doença apresenta alta prevalência descrita. Embora em geral os pastos no Brasil não sejam ricamente adubados, condição indicada como predisponente, em muitas regiões há longos períodos de estiagem (seca) ao qual se sucede alta precipitação e elevada temperatura do ar, predispondo à brotação exuberante dos pastos de gramíneas, frequentemente na primavera. Condição semelhante, é referida por Farina et al. (2013) na Bolívia. Desta forma, a identificação de animais com hipomagnesemia nas condições de criação brasileira é relevante para destacar a possibilidade de ocorrência da doença.

A hipomagnesemia é uma causa menos importante de vacas caídas que a hipocalcemia, porém apresenta mortalidade mais alta (CORBELLINI, 1998). Existem evidências de que a hipomagnesemia subclínica crônica (magnésio sérico entre 1,6 e 1,8 mg/dL) aumenta a susceptibilidade de os animais apresentarem hipocalcemia puerperal, dificultando a mobilização de cálcio do osso, causando tanto uma menor liberação de PTH, quanto uma resistência à interação do PTH com seus receptores no osso (GONZÁLEZ, RODRIGUES; GARCIA, 2009).

Contreras et al. (1996) ao avaliarem os transtornos metabólicos mais frequentes em vacas de pequenas propriedades no sul do Chile, destacaram a alta incidência de hipomagnesemia no outono e primavera (chuvas). Destacaram que a hipomagnesemia se deve, sobretudo ao aumento da demanda de magnésio, menor absorção associada à ingesta diminuída, por escassez de forragem ou redução do apetite por gestação avançada e início da lactação, em que a menor absorção do Mg é favorecida pelo déficit de energia diminuindo o transporte ativo de Mg e aumentando a concentração de amônia no rúmen. Deve-se considerar que o aumento de potássio (maior que 2% na matéria seca), condição frequentemente observada em pastagens naturais, reduz significativamente a absorção do magnésio no rúmen (CONTRERAS et al., 1990).

Recentemente a hipomagnesemia foi apontada como um dos transtornos metabólicos mais frequentes no sul do Chile entre 1986 e 2011 (WAGEMANN et al., 2014). Os autores destacaram a intensificação das práticas agrícolas e a seleção genética

como determinantes do aumento da produção e a consequente inadequação nutricional (MULLIGAN; DOHERTY, 2008), uma vez que a maioria dos sistemas de produção de leite está localizada em regiões onde as pastagens são a principal fonte de alimento para o gado (BALOCCHI; PULIDO; FERNÁNDEZ, 2002).

Deve-se considerar que a disponibilidade e a composição nutritiva das forrageiras não são constantes ao longo do ano (ANRIQUE et al., 2008). Assim, as variações no conteúdo de minerais em gramíneas predispõem a apresentação de desequilíbrios minerais (SODER; STOUT, 2003). No Brasil, a maioria do gado tem como principal fonte de nutrientes as pastagens, e desta forma, é provável que também no Brasil a hipomagnesemia seja um problema frequente, especialmente no fim de um longo período seco e início da estação chuvosa em que os pastos apresentam baixo teores de matéria seca, menos Mg e as deficiências de energia e proteína deixam de ser limitantes.

Os desequilíbrios minerais são originados, fundamentalmente, por um desequilíbrio entre a quantidade que entra no organismo, que é absorvida, que circula no sangue, é depositada nos compartimentos ou órgãos de reserva, e a quantidade que sai para a manutenção e produção (MULLIGAN; DOHERTY, 2008). Nessas circunstâncias, suas concentrações se afastam dos limites fisiológicos e alterações bioquímicas culminam em transtornos estruturais e manifestações clínicas (WITTWER, 2007).

Matiolli et al. (2000) destacaram que as discrepâncias observadas em relação à aplicação do humor vítreo como amostra biológica para diagnóstico de hipomagnesemia pode dever-se ao fato de a maioria dos estudos terem sido desenvolvidos com animais saudáveis, abatidos para consumo, sem que as condições para desenvolvimento da hipomagnesemia fossem observadas. Neste contexto, no presente estudo foram amostrados animais abatidos para consumo, na primavera, tendo-se definido para estudo o início do período chuvoso, após uma semana de alta precipitação pluviométrica, considerando as condições da pastagem em brotação e o transporte dos animais como fatores predisponentes da hipomagnesemia.

4.2. Cálcio e Fósforo

A média das concentrações de Ca (1,56 mmol/L) ficou acima do limite de $1,23 \pm 0,22$ mmol/L descrito por Wittwer et al. (1992) para o humor vítreo de bovinos saudáveis. Os

valores mínimo e máximo (0,87 e 2,02 mmol/L, respectivamente) ficaram fora dos limites descritos por Wittwer et al. (1992) para bovinos (1,01 a 1,45 mmol/L).

A média obtida foi maior que a mensurada por Noia et al. (2008) no humor vítreo de equinos (0,59 a 1,01 mmol/L) por espectrofotometria de absorção atômica.

A concentração de Ca no humor vítreo de bovinos não tem sido investigada com tanta frequência quanto a de Mg de forma que há poucos dados para comparação. A escassez de estudos referentes ao Ca e especialmente em relação ao P no humor vítreo de bovinos deve-se, sobretudo à falta de correlação entre os valores no vítreo e no sangue, assim como à maior facilidade de diagnóstico *in vivo* dos transtornos metabólicos relativos ao Ca e P. Enquanto na hipomagnesemia, na forma hiperaguda, os animais são encontrados mortos, geralmente sem sinais prévios, a hipocalcemia evolui em 24 a 48 horas, sendo possível obter amostra viável de sangue para confirmação do diagnóstico.

O nível de Ca no plasma sanguíneo da maioria das espécies animais é bastante constante. O sistema endócrino envolvendo a vitamina D, o paratormônio e a calcitonina, responsáveis pela manutenção dos níveis sanguíneos do Ca atua de maneira bastante eficiente. Desta forma, os níveis sanguíneos de Ca variam muito pouco se comparados ao de Mg e P. Portanto, os níveis séricos de Mg refletem melhor o balanço nutricional que o de Ca (GONZÁLEZ, 2006). Em concordância com este fato, a concentração de Ca no humor vítreo de bovinos, não apresenta valor diagnóstico, devido à baixa correlação com os teores sanguíneos (HANNA; BELLAMY. DONALD, 1990; EDWARDS; FOSTER; LIVESEY, 2009; GARETH et al., 2009; ATHANASIOU et al., 2018).

Hanna; Bellamy e Donald (1990) ao avaliarem a aplicação diagnóstica da análise dos fluidos oculares após a morte na estimativa do perfil bioquímico sérico *ante mortem* concluíram que uma estimativa dos eletrólitos no soro *ante mortem* (incluindo o cálcio) não pode ser feita com um alto grau de precisão devido à variabilidade na relação entre os eletrólitos no soro e nos fluidos oculares. O humor vítreo geralmente está em equilíbrio com o plasma em relação aos solutos de baixo peso molecular. Para moléculas maiores, como proteínas, enzimas, colesterol e bilirrubina, houve uma correlação muito baixa entre o soro e o humor vítreo, porém para o Ca e o P, as correlações foram baixas e desprovidas de valor diagnóstico. Resultados semelhantes foram obtidos por Gareth et al. (2009), que evidenciaram a baixa correlação entre os níveis de Ca no humor vítreo em comparação com o plasma sugerindo que a composição do vítreo não reflete mudanças transitórias nas concentrações de Ca do sangue e variações rápidas na calcemia não são

refletidas imediatamente nas concentrações do humor vítreo. Destacaram, que se a análise do fluido ocular for consistente com a hipocalcemia, isso deve ser considerado como uma informação sugestiva, mas não confirmatória.

A concentração de Ca em amostras de humor vítreo colhidas imediatamente após a morte foi significativamente menor nas vacas tetânicas do que nas não tetânicas, o que sugere que o humor vítreo pode ser útil como auxílio no diagnóstico pós-morte de hipocalcemia (McCOY et al., 2001).

Hanna et al. (1990) encontraram valores de Ca (1,54mmol/L) e P (0,40mmol/L), respectivamente acima e abaixo dos valores de referência para bovinos. Sugeriram que um valor de Ca pós-morte inferior a 1,0 mmol/L (4,0 mg/dL) seria necessário para indicar hipocalcemia no bovino. Quanto ao P encontraram diferenças relativamente grandes (frequentemente maiores que 70% no valor médio) entre o vítreo e o plasma, indicando que igualmente ao Ca, o P no humor vítreo é desprovido de valor diagnóstico.

Para diagnóstico das deficiências minerais, mesmo as análises de sangue, soro e plasma apresentam limitações, embora úteis no diagnóstico de deficiências de Mg, zinco (Zn), cobre (Cu), P e Ca (TOKARNIA et al., 2000). Segundo Dayrell et al. (1973), os teores de P são influenciados por estresse, exercício, hemólise, temperatura e tempo de separação do soro sanguíneo e não são adequados para diagnóstico da deficiência.

A hipomagnesemia está associada à hipocalcemia, secundária ao comprometimento da liberação e resistência ao PTH (DINKE et al., 2013). Desta forma, esperavam-se valores mais baixos de Ca no humor vítreo dos animais amostrados. Contudo, os valores normais são condizentes com os valores referidos na literatura.

Para o P, obteve-se uma média (0,49 mmol/L) dentro do limite sugerido por Wittwer et al. (1992) para a espécie (0,45 a 0,87 mmol/L), com o menor valor abaixo do mínimo indicado por esses autores. Na média a concentração de P foi normal segundo os resultados encontrados por Matioli et al. (2002) e Hanna et al. (1999) em humor vítreo de bovinos saudáveis, respectivamente 0,61 e 0,40 mmol/L.

A manutenção do fosfato sérico dentro da faixa normal depende de uma interação complexa entre absorção no trato digestivo, trocas ósseas, entre compartimentos intracelulares e intravasculares e excreção renal (MARKS; DEBNAM; UNWIN, 2010). A manutenção dos níveis séricos normais é conseguida, principalmente, através de reabsorção a partir do filtrado glomerular, regulada por uma série de fatores hormonais e metabólicos (BLAINE et al., 2015; BLAINE; WEINMAN; CUNNINGHAM, 2011;

KURNIK). No entanto, o controle endócrino do Ca é mais rigoroso e o nível de P inorgânico no plasma de bovinos oscila mais que o nível de Ca. Os níveis de P são variáveis também em função da grande quantidade que se recicla pela saliva e sua absorção. Deficiências na ingestão de P não têm efeito tão imediato quanto as de Ca e Mg (GONZÁLEZ; RODRÍGUEZ; GARCÍA, 2009).

A correlação entre Ca e P no humor vítreo foi negativa fraca (-0,11), contrariando a premissa de que o organismo tende a manter concentrações molares de Ca e P dentro de um limite estreito (BARCELLOS, 1998). Observa-se que para os valores descritos por Wittwer et al. (1992) para o humor vítreo de bovinos, a relação Ca:P (1,24:1) está mais próxima da relação descrita como fisiológica no sangue (1,67:1) que a obtida no presente estudo (3,1:1), demonstrando uma concentração muito alta de Ca em relação do P entre os animais amostrados. Contudo, esse evidente aumento do Ca e redução do P no humor vítreo dos animais amostrados é condizente com a ampla deficiência de P nos solos brasileiros e improvável deficiência de Ca nas condições de criação brasileiras. Contudo, como destacado por Hanna et al. (1990) e Gareth et al. (2009) não é possível concluir sobre a deficiência absoluta ou relativa de Ca e P com base na análise do humor vítreo.

5 CONCLUSÕES

A hipomagnesemia subclínica ocorre nos animais criados na região Sul Fluminense, no início da estação chuvosa e após transporte e condições de estresse (abate).

A tetania hipomagnesêmica pode ocorrer em animais na região, desde que observadas as condições que desencadeiam ou precipitam a hipomagnesemia.

Deve-se atentar para a hipomagnesemia em casos de morte súbita de bovinos na região, em que não seja possível firmar o diagnóstico da causa da morte.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFREY, A.C.; MILLER, N.L.; TROW, R. Effect of age and magnesium depletion on bone magnesium pools in rats. **Journal of Clinical Investigation**, v.54,p.1074-1081, 1974.

ALLSOP, T.F.; PAULI, J.V. Magnesium concentrations in the ventricular and lumbar cerebrospinal fluid of hypomagnesaemic cows. **Research Veterinary Science**,v.38,n.1,p.61-64,1985.

ANRIQUE, R.; FUSCHSLOCHER, R.; IRAIRA, S.; SALDAÑA, R. Composição dos alimentos para gado. Imprenta América, Valdivia, Chile.2008.

AYUK, J.; GITTOES, N.J. How should hypomagnesaemia be investigated and treated. **Clinical of Endocrinology (Oxf)**,v.75,p.743–746,2011.

BALANZS, E.A. **Anatomia funcional do vítreo**. In: DUANE, TD.; JAEGER, E.A. (Ed). Fundamentos biomédicos da oftalmologia. Filadélfia: Harper e Row,1984.

BALAZS, E.A.; TORVARD, C.; LAURENT, T.C.; ULLA, B.G.; DEROCHE, M.H.; BUNNEY, D.M. Studies on the structure of the vitreous body: VIII. Comparative biochemistry. **Archives of Biochemistry and Biophysics**,v.81,n.2,p.464-479,1959. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0003986159902279>. Acesso em: 20 abril 2018.

BALOCCHI,O.; PULIDO,R.; FERNÁNDEZ,J. Comportamento de vacas leiteiras pastando com e sem suplementação com concentrado. **Agrícola Técnico**,v.62,p.87-98,2002.

BARCELLOS, J.O. Nutrição mineral em ruminantes, Porto Alegre: Gráfica da UFRGS.1988, p.146.

BATISTA, D.G. Dieta com sobrecarga de cálcio e fósforo leva a diminuição do volume ósseo de ratos urêmicos. 2ª ed. São Paulo: Serviços de Biblioteca e Documentação.2005.

BELSEY, S.L.; FLANAGAN, R.J. Postmortem biochemistry: Current applications. **Journal of Forensic and Legal Medicine**,v.41,p.49-57,2016.

BERMAN, E.R. Biochemistry of the eye. **New York. Plenum Press**,p.476,1991.

BLAINE, J.; CHONCHOL, M.; LEVI, M. Renal Control of Calcium, Phosphate, and Magnesium Homeostasis. **Clinical Journal of the American Society Nephrology**, v.10,n.7,p.1257-72,2015. Disponível em: <http://cjasn.asnjournals.org/content/early/2014/11/30/CJN.09750913.full>. Acesso em: 16 de abril 2018.

BLAINE, J.; WEINMAN, E.J.; CUNNINGHAM, R. The regulation of renal phosphate transport. **Advance Chronic Kidney Disses**,v.18,p.77–84,2011.

BLANA, S.A.; MUSHHOF, F.; HOELLER, T.; FIMMERS, R.; MADEA, B. Variations in vitreous humor chemical values as a result of pre-analytical treatment. **Forensic Science International**,v.210,n.1-3,p.263-70,2011.

BLUMENFELD, T.A.; MANTELL, C.H.; CATHERMAN, R.L.; BLANC, W.A. Postmortem Vitreous Humor Chemistry in Sudden Infant Death Syndrome and in Other Causes of Death in Childhood. **American Journal of Clinical Pathology**,v.71,p.219-223,1979.

BOSKEY, A.L.; RIMNAC, C.M.; BANSAL, M.; FEDERMAN, M.; LIAN, J.; BOYAN, B.D. Effect of short-term hypomagnesemia on the chemical and mechanical properties of rat bone. **Journal of Orthopedic Research**,v.10,p.774–783,1992.

BOULAGNON, C.; GARNOTEL, R.; FORNES, P.; GILLERY, P. Post-mortem biochemistry of vitreous humor and glucose metabolism: an update. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**,v.49,p.1265-1270,2011.

BRILLA, L.R.; LOMBARDI, V.P. Magnesium in sports physiology and performance. In: WOLINSKI, I, DRISKELL, A. Editors. Sports nutrition: minerals and electrolytes. Boca Raton: CRC Press; 1995.

BRONNER, F. Recent developments in intestinal calcium absorption, **Nutrition Reviews**,v.67,n.2,p.109–113,2009. Disponível em: 12 de abril 2018.

BRUM, P.A. R.; SOUSA, J.C.; COMASTRI FILHO, J.A.; ALMEIDA, I.L. Deficiências Minerais de Bovinos na Sub-Região dos Paiaguás, no Pantanal Mato-Grossense. 1.

Cálcio, Fósforo E Magnésio. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília,v.22,n.9/10,p.1039-1048,1987.

CASHMAN, K.D.; Calcium intake, calcium bioavailability and bone health. **British Journal of Nutrition**,v.87,n.2,p.S169-S177,2002.

CHESTER-JONES, H., FONTENOT, J.P., VEIT, H.P. The physiological effects of feeding high levels of magnesium to sheep. **Journal of Animal Science**, v.67,n.4,p.1070-1081,1989.

CHOO-KANG, E.; MCKOY, C.; ESCOFERRY, C. Analgésicos de peso vivo na avaliação do intervalo pós-morte e do estado clínico antemortem. **West Indian Medical Journal**,v.32,p.23-26,1983.

CLYDESDALE, F.M. The relevance of mineral chemistry to bioavailability. Nutrition Today, Baltimore,v.24,n.2,p.23-30,1989.

COMISSÃO HOLANDESA NA NUTRIÇÃO MINERAL (NCMN). 1973. Rastreamento de doenças minerais em gado leiteiro. Centro de Publicação Agrícola, Wageningen, Holanda.

CONSTANZO, L.S. Fisiologia. 4ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier,2011.

CONTRERAS, P.A.; RUSCH, F.; WITWER, A.; BARUDY, H. Efecto de las balas de magnesio intrarruminal en las concentraciones séricas de magnesio en vacas en lactancia. **Revista Agronomía. Producción. Animal**,v.10,p.187-191,1990.

CONTRERAS, P.A.; PHIL, M.; VALENZUELA, L.; WITWER, F.; BÓHMWALD, T.M. Desbalances. metabólicos. nutricionales más frecuentes en rebaños de pequeños productores de leche, Valdivia-Chile. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v.27,n.1, p.39-50,1996.

CORBELLINI, C.N.;HUERTAS, H.P.; CERUTTI DE MATTOS, A. Prevención de hipocalcemia puerperal en vacas lecheras por manejo nutricional preparto. **Revista de Medicina Veterinaria ,Bs. Argentina**,v.73,n.6,p.258-263,1992.

CORBELLINI, N.C. Etiopatogenia e controle da hipocalcemia e hipomagnesemia em vacas leiteiras. In: GONZÁLEZ, F.D.H.; OSPINA, H.P.; BARCELLOS, B. Anais do Seminário Internacional sobre deficiências minerais em ruminantes. Editora da UFRGS, Porto Alegre, 1998. Disponível em: <http://www.fcav.unesp.br/Home/departamentos/clinica/v/AULUSCAVALIERICARCIOFI/hipocalcemia-vaca-leiteira.pdf> Acesso em: 30 nov. 2017.

CSEH, S. Hipomagnesemia. Revisión Bibliográfica. **Revista Argentina Producción Animal**, v.3, n.4, p.310-344, 1983.

CSEH, S.B.; CRENOVICH, H. Hipomagnesemia en el sudeste de la provincia de Buenos Aires. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v.38, p.111-116, 1996.

CUNNINGHAM, F.; LEVENO, G.; KENNETH, J.; BLOOM, S.L.; HAUTH, J.C.; ROUSE, D.J.; SPONG, C.Y. **Obstetrícia de Williams**. 23ª edição. Artmed, 2012.

DAYRELL M.S.; LOPES H.O.S.; SAMPAIO I.B.M.; DÖBEREINER J. Fatores a serem considerados na interpretação de valores analíticos de fósforo inorgânico no soro sanguíneo de bovinos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Série Veterinária**, v.8, p.4347, 1973.

DEVGUN, M.S.; DUNBAR, J.A. Pesquisa bioquímica de vítreo: aplicações em medicina forense, especialmente em relação ao álcool. **Forensic Science International**, v.31, n.1, p.27-34, 1986.

DIMKE, H.; MONNENS, L.; HOENDEROP, J.G.; BINDELS, R.J. Evaluation of hypomagnesemia: Lessons from disorders of tubular transport. **American Journal of Kidney Diseases**, v.62, p.377-383, 2013.

DYCE, K.M.; SACK W.O.; WENSING C.J.G. **Tratado de Anatomia Veterinária**. 2ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p.359-384, 1997.

EDWARDS, G.; FOSTER, A.; LIVESEY, C. Use of ocular fluids to aid postmortem diagnosis in cattle and sheep. **In Practice Journal**, v.31, p.22-25, 2009.

ELIN, R.J. Assessment of magnesium status. **Clinical Chemistry**, v.33, p.1965-1970, 1987.

FARINA, J.N.; FARINA, J.L.; FARINA, C.M. Deficiências de magnésio em bovinos. Um problema que não se vê mas que se sente. 2013. Disponível em: <https://www.engormix.com/ganaderia-carne/articulos/deficiencias-magnesio-bovinos-problema-t30050.htm>. Acesso em: 20 abr 2018.

FELBY, S.E.; NIELSEN, G.S.; THOMSEN, J.L. The postmortem distribution of ketone bodies between blood, vitreous humor, spinal fluid, and urine. **Forensic Science Medical Pathology**, v.4, p.100-107, 2008.

FERRÈ, S.; HOENDEROP, J.G.; BINDELS, R.J. Sensing mechanisms involved in Ca²⁺ and Mg²⁺ homeostasis. **Kidney International**, v.82, p.1157–1166, 2012.

FITZGERALD, I.; MCINTYRE, I. Assessment and Comparison of Vitreous Humor as an Alternative Matrix for Forensic Toxicology Screening by GC–MS, **Journal of Analytical Toxicology**, v.40, n.4, p.243–247, 2016.

FOOD AND NUTRITION BOARD. Institute of Medicine. Magnesium. In: Dietary reference intakes of calcium, magnesium, phosphorus, vitamin D, and fluoride. Washington (DC): National Academy Press; 1997. Disponível em: <http://www.nap.edu/openbook/0309063507/html/R1.html>. Acesso em: 20 março 2018.

FORMAN, D.T. Eletrólitos do humor vítreo como medida do intervalo pós-morte. **Clinical Chemistry**, v.26, p.1042, 1980.

FRANDSON, R.D.; WILKE, W.L.; FAILS, A. D. Anatomia e Fisiologia dos Animais de Fazenda. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.454, 2005.

FREEDEN, A.H. Effect of maturity of alfalfa (*Medicago sativa*) at harvest on calcium absorption in goats. **Canadian Journal of Animal Science**, v.69, n.2, p.365-371, 1989.

GARRETH, E.; FOSTER, A.; LIVESEY, C. Use of ocular fluids to aid postmortem diagnosis in cattle and sheep. **In Practice Journal**, v.31, p.32-35, 2009.

GEORGIEVSKII, V. I.; ANNENKOV, B. N.; SAMOKHIN, V. T. Mineral nutrition of animals. **Embrapa Amazônia Oriental**, p.475, 1982.

GEORGIEVSKII, V.I.; ANNENKOV, B.N.; SAMOKHIN, V.T. **Mineral nutrition of animals**. London: Butterworths,1979.

GOFF, J.P. **Ruminant hypomagnesemic tetanies. Current Veterinary Therapy: Food Animal Practice**. 4th Ed. Edited by Jimmy L. Howard. W.B. Saunders. Philadelphia, Pa. USA,p.1-9,1998.

GOFF, J.P. Calcium and magnesium disorders. **Veterinary Clinical of North America: Food Animal Practice**,v.30,n.2,p.359-81,2014.

GONZÁLEZ F.H., CERONI S. **Bioquímica veterinaria**. 2. Ed. Porto Alegre: Editora UFRGS,p.138-139,2006.

GONZÁLEZ, E.P.; RODRÍGUEZ, F.S.; GARCÍA, E.C. Magnesium homeostasis. Etiopathogeny, clinical diagnosis and treatment of hypomagnesaemia. A case study. **Nefrologia**,v.29,p.518-524,2009.Disponível em: <http://www.revistanefrologia.com/en-publicacion-nefrologia-articulo-magnesium-homeostasis-etipathogeny-clinical-diagnosis-treatment-hypomagnesaemia-a-case-study-X2013251409033685>. Acesso em: 12 de abril 2018.

GONZÁLEZ, F.H.; SILVA, S.C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. 2a. ed. Porto Alegre: Ed. da UFRGS, 2006.p.358.

GRABHERR A.C.; WIDMER, C.A.; IGLESIAS, K.B.; SPORKERT, A.F.; AUGSBURGER, A.M.; MANGIN, P.A.; PALMIERE, A.C. Postmortem biochemistry performed on vitreous humor after postmortem CT-angiography. **Legal Medicine Issue**,v.14,n.6,p.297-303,2012.Disponível em: http://doc.rero.ch/record/259497/files/Iglesias_Katia_Postmortem_biochemistry_performed_in_vitreous_humor_20160510.pdf. Acesso em: 13 de março de 2018.

GREENBERGER, P.A.; ROTSKOFF, B.D.; LIFSCHULTZ, B. Fatal anaphylaxis: postmortem findings and associated comorbid diseases. **Annals of Allergy, Asthma & Immunology**,v.98,p.252-257,2007.

GREGORA, Z.; KRATOCHVIL, J.; VAVROVA, J.; OPLISTIL, L. Níveis de sódio e magnésio no corpo vítreo. **Soudni Lekarstvi** ,v.24,p.51-4,1974.

GUEGUEN, L.; DEMARQUILLY, C. Influence of the vegetative cycle and the growth stage on the mineral value of some herbage plants for adult sheep. In: **INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS**, v.1, p.745-754, 1995.

GUTIÉRREZ, O. Contenido y disponibilidad de fósforo en pastos tropicales. *Memoria*, v.13, p.120, 1978.

GUYTON, A.C.; HALL, A.J.E. **Tratado de Fisiologia Médica**, 11ª edição, Rio de Janeiro, Ed. Elsevier, 2006, p.632.

HAN, S.Q.; QUIN, Z.Q.; DENG, K.F.; ZHANG, D.H.; LIU, N.G.; ZOU, D.H. **Research Advances in Postmortem Chemistry**, v 31, p.287-297, 2015.

HANNA, P.E.; BELLAMY, J.E.C.; DONALD, A. Postmortem eye fluid analysis in dogs, cats and cattle as an estimate of postmortem serum chemistry profiles. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v.54, p.487-494, 1990.

HARPER, D.R. A comparative study of the microbiological contamination of postmortem blood and vitreous humour samples taken for ethanol determination. **Forensic Science International**, v 43, p.37-44, 1989.

HAYS, V.W.; SWENSON, M. J. Ossos e Minerais. In: SWENSON, M. J.; REECE, W. O. **Dukes Fisiologia dos Animais Domésticos**, 11ª ed. Guanabara Koogan, 1996, p.471-487.

HEANEY, R., Calcium Effects on Phosphorus Absorption: Implications for the Prevention and Co-Therapy of Osteoporosis, **Journal of American College of Nutrition**, v.20, p.239-234, 2002.

JACKSON, R.D.; LACROIX, A.Z.; GASS, M. Calcium plus vitamin D supplementation and the risk of fractures. **New England Journal of Medicine**, v.354, p.669-683, 2006.

JACKSON, R.D. Calcium plus vitamin D supplementation and the risk of fractures. **New England Journal Medicine**, v.357, n.7, p.669-683, 2006.

KALRA, J.; MULLA, A.; KOPARGAONKAR, A. Diagnostic value of Vitreous Humor in Postmortem Analysis. Diagnostic Value Open of Vitreous Humor in Postmortem Analysis. **Journal Clinical Pathology**,v.1,n.1,p.1005-1010,2016.

KANEKO, J. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. Academic Press, San Diego, 2008.p.932.

KENNEY, M.A.; MCCOY, H.; WILLIAMS, L. Effects of magnesium deficiency on strength, mass, and composition of rat femur. **Calcified Tissue International**,v.54,p.44–49,1994.

KESTELOOT, H.; JOOSSENS, J.V. The relationship between dietary intake and urinary excretion of sodium, potassium, calcium and magnesium: Belgian Interuniversity Research on Nutrition and Health. **Journal of Human Hypertension**,v.4,p.527–533,1990.

KLATT, E.C.; SHIBATA, D.; STRIGLE, SM. Postmortem enzyme immunoassay for human immunodeficiency virus. **Archives of Pathology and Laboratory Medicine**, v.113,p.485-487,1989.

KONRAD, M.; SCHLINGMANN, K.P.; GUDERMANN, T. Insights into the molecular nature of magnesium homeostasis. **American Journal of Physiology Renal Physiology**, v.286,p.599-605,2004.

KOPPLE, J.D.; COBURN, J.W. Metabolic studies of low protein diets in uremia. II. Calcium, phosphorus and magnesium. **Medicine (Baltimore)**,v.52,p.597–607,1973.

KURNIK, B.R.; HRUSKA, K.A. Mechanism of stimulation of renal phosphate transport by 1,25-dihydroxycholecalciferol. **Biochimica Biophysica Acta**,v.817,p.42–50,1985.

LANGWINSKI, D. ; OSPINA, H. A nutrição de ruminantes e os complexos orgânicos de minerais. Porto Alegre: UFRGS,p.52,2002.

LEITE, A.G.B.; OLIVEIRA, D.; BARALDI-ARTONI, S.M. Morfologia do sistema ocular dos animais domésticos. **Archivos de Veterinaria**,v.29,n.1,p.42-51,2013.

LINCOLN, S.D.; LANE, V.M. Postmortem magnesium concentration in bovine vitreous humor: Comparison with antemortem serum magnesium. **American Journal Veterinary Research**, v.46,p.160-162,1985.

LINCOLN, S.D.; LANE, V.M. Concentração de magnésio pós morte no humor vítreo bovino: Comparação com magnésio de soro antemortem, **American Journal Veterinary Research**,v.46, p.160-162,1985.

LITTLEDIKE, E.T.; GOFF, J. Interactions of calcium, phosphorus, magnesium and vitamin D that influence their status in domestic meat animals. **Journal of Animal Science**,v.65,n.6,p.1727-43,1987.

LITTLEDIKE, E.T.; YOUNG, J.W.; BEITZ, D.C. Common metabolic diseases of cattle: ketosis, milk fever, grass tetany, and downer cow complex. **Journal of Dairy Science**,v. 64,n.6,p.1465-1482,1981.

MANN, R.W.; BASS, W.M.; MEADOWS, L. Time since death and decomposition of the human body: variables and observations in case and experimental field studies. **Journal Forensic Science**,v.35,p.103-111,1990.

MARKS, J.; DEBNAM, E.S.; UNWIN, R.J. Phosphate homeostasis and the renal-gastrointestinal axis. **American Journal of Physiology–Renal Physiology**,v.299 ,p.F285–F296,2010.

MARTENS, H.; SCHWEIGEL, M. Pathophysiology of grass tetany and other hypomagnesemias. Implications for clinical management. **Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice**,v.16,n.2,p.339-68,2000.

MARTENS,H.; SCHWEIGEL,M.; Pathophysiology of Grass Tetany and other Hypomagnesemias: Implications for Clinical Management. **Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice**,v.16,n.2,p.339-368,2000.

MARTINEZ, M.A.; BALLESTEROS, S.; ALMARZA, E.; GARIJO, J. Death in a legal poppy field in Spain. **Forensic Science International**, v.265,p.34-40,2016.

MATIOLLI, G. A.; ROSA, D.E.; LASTA,G.; TITTARELLI, C.M.; ROMERO, J.M. Variaciones de magnesio, potasio y fósforo en el humor víreo bovino. **Revista Veterinaria Agropecuaria de Reproducción Animal**,v.22,n.3-4,p.205-210,2002.

MATIOLLI, G.A.; TITTARELLI, C.M.; GIULIODORI, M.J.; COSTA, E.F. Valor diagnóstico del magnesio en humor víreo en cinco establecimientos con brotes de tetania hipomagnésica. **Analecta Veterinaria**,v.20,n.2,p.39-41,2000. Disponível em: http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/11117/Documento_completo.pdf?sequence=1. Acesso em: 11 de abril 2018.

Mc LAUGHLIN, P.S.; Mc LAUGHLIN, B.G. Chemical analysis of bovine and porcine vitreous humors: Correlation of normal values with serum chemical values and changes with time and temperature. **American Journal Veterinary Research**, v.48,p.467-473,1987.

MCCOY, M.A.; BINGHAM, V.; HUDSON, A.J.; CANTLEY, L.; HUTCHINSON, T.; DAVISON, G.; FITZPATRICK, D.A.; KENNEDY, D.G. Marcadores bioquímicos pós-mortem de tetania hipomagnésica induzida experimentalmente em ovinos. **Veterinária Record**, v.148,p.233-237,2001.

MCCOY, M.A.; KENNEDY, D.G. Avaliação da concentração pós-morte de magnésio nos fluidos oculares bovinos como auxiliar de diagnóstico para tetania hipomagnésica, **Veterinária. Record**,v.135,p.188-189,1994.

MCDOWELL, L.R. **Minerais em nutrição animal e humana**. Academic Press, Nova York.1992.

MCDOWELL, L.R. **Nutrition of grazing ruminants in warm climates**. Orlando: Academic Press,1985.p.443.

McLAUGHLIN, P.S.; McLAUGHLIN, BG. Análise química do humor víreo bovino e porcino: correlação de valores normais com valores químicos séricos e alterações com tempo e temperatura, **American Journal Veterinary Research**, v.48,p.467-473,1987.

MENDONÇA JÚNIOR, A.F.; BRAGA, A.P.; RODRIGUES, A.P.M.S.; SALES, L.E.M.; MESQUITA, H.C. Minerais: importância de uso na dieta de ruminantes. **Agropecuária Científica no Semi-Árido**,v.07,n 01,p.01–13,2011.

MERTZ, W. **Trace elements in human and animal nutrition**. London: Academic Press, p.355-356,1987.

METUSHI, I.G.; FITZGERALD, R.L.; MCINTYRE, I.M. Assessment and Comparison of Vitreous Humor as an Alternative Matrix for Forensic Toxicology Screening by GC-MS. **Journal of Analytical Toxicology**, v.40,p.243-247,2016.

METUSHI, I.G.; FITZGERALD, R.L.; MCINTYRE, I.M.. Assessment and Comparison of Vitreous Humor as an Alternative Matrix for Forensic Toxicology Screening by GC-MS. **Journal of Analytical Toxicology**, v.40,p.243-247,2016.

MONTEFUSCO-PEREIRA, C.V.; PINTO, L.M. El humor vítreo como fluido biológico de importancia clínica en ciencias forenses. **Acta bioquímica clínica latinoamericana**.v.50,n.1,2016.Disponível em: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S032529572016000100006#no Acesso 20 abril 2018.

MORAES, R.S. Decomposição das palhadas de sorgo e milho, mineralização de nutrientes e seus efeitos no solo e na cultura do milho em plantio direto. **Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras**, p.90,2001.

MULLA, A. Papel da bioquímica do humor vítreo em patologia forense. Saskatoon: Universidade de Saskatchewan, Canadá,2005.

MULLIGAN, F.J.; DOHERTY, M.L. Doenças da produção da vaca de transição . **Veterinary Journal**,v.176,p 3-9,2008.

MUSSO, C.G. Magnesium metabolism in health and disease. **International Urology and Nephrology**,v.41,p.357–362,2009.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient requirements of dairy cattle. 6.rev.ed. Washinton, D.C.,1989,p.157.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL . **Nutrient Requirements of Beef Cattle**. 7. Ed. rev. Washington, D. C.: National Academy Press, 2000,p.242.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Subcommittee on Dairy Cattle Nutrition. **Nutrient Requeriments of Dairy Cattle**. 6 th ed., Washington, D.C., National Academy Press, 1988.

NOIA, A.; CARDENAS,F.; Determinación de Constantes FisicoQuímicas de Humor Vítreo de Equinos. **Ciencias Veterinarias**,v.10,p.1515-1883,2008.

NORTON, B.W. **Differences between species in forage quality**. In: HACKER, J.B. (Ed.). **Nutritional limits to animal production from pastures**, Santa Lucia, Queensland. Farnham Royal: CSIRO, 1984,p.89-110.

OSUNA, E.; PÉREZ-CÁRCELES, M.D.; MORENO, M.; BEDATE, A.; CONEJERO, J.; ABENZA, J.M. Vitreous humor carbohydrate-deficient transferrin concentrations in the postmortem diagnosis of alcoholism. **Forensic Science International**, v.108,p.205-213, 2000.

Overton T.R.,;Yasui T.; Practical applications of trace minerals for dairy cattle.**Journal of Animal Science**,v.92,n.2,p.416-426,2014.

PALMER, D.G.; OSSENT, P.; SUTER, M.M.; LUTZ, H. Post mortem urea levels in aqueous humour as a reliable indicator of ante mortem uraemia. **Veterinary Record**, v.116,n.15,p.411–412,1985.

PARSONS, M.A.; START, R.D.; FORREST, A.R.W. A doença vítrea concomitante pode produzir bioquímica e toxicologia anormal do humor vítreo. **Journal of Clinical Pathology**,v 56,p.720,2003.

PARSONS, M.A.; START, R.D.; FORREST, A.R. Concurrent vitreous disease may produce abnormal vitreous humour biochemistry and toxicology. **Journal of Clinical and Pathology**,v.56,n.9,p.720,2003.

PASSOS, E.C.; ANDRADE-NETO, A.V.; LEMAIRE, T. Comportamento ótico do olho humano e suas ametropias. **Caderno de Física da UEFS**,v.6,n.1-2,p.7-18,2008.

PECHIN, G.H.; CSEH, S.; KENNY, O. Hipomagnesemia en vacas de cría en un campo de la zona del caldenal. **Ciência Veterinária**,v.13,n.1,p.70-75,2011. Disponível em: <http://www.biblioteca.unlpam.edu.ar/pubpdf/revet/v13a11pechin.pdf>. Acesso em:19 novembro de 2018.

PERDOMO, J.T.; SHIRLEY, R.L.; CHICCO, C.F. Availability of nutrient minerals in four tropical forages fed freshly chopped to sheep. **Journal of Animal Science**, v.45,n.5,p.1114-1119,1977.

POLZIN, D. J. Evidence-based step-wise approach to managing chronic kidney disease in dogs and cats. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**,v.23,p.1-11,2013.

POTT, E.B.; ALMEIDA, I.L.; BRUM, P.A.R.; COMASTRI FILHO, J.A.; POTT, A.; DYNIA, J.F. Nutrição mineral de bovinos de corte no Pantanal Mato-grossense. 2. Micronutrientes na Nhecolândia (parte central). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**,v.24,n.1,p.109-126,1989.

POTT, E.B.; BRUM, P.A.R.; ALMEIDA, I.L.; COMASTRI FILHO, J.A.; DYNIA, J.F. Nutrição mineral de bovinos de corte no Pantanal Mato-grossense. I. Levantamento de macronutrientes na Nhecolândia (parte central). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**,v.22,n.9/10,p.1093-1109.1987.

POWELL, K.; REID, R.L.; BALASKO, J.A. Performance of lambs on perennial ryegrass, smooth brome grass, orchardgrass and tall fescue pastures. II. Mineral utilization, in vitro digestibility and chemical composition of herbage. **Journal of Animal Science**,v.46,n.6,p.1503-1514,1978.

QUAMME, GA. Recent developments in intestinal magnesium absorption. **Current Opinion in Gastroenterology**,v.24,p.230-235,2008.

RADOSTITS, O.M., GAY, C.C., BLOOD, C.D. Clínica Veterinária: Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos. 9ª Ed. Guanabara-Koogan,2000. p.1362-1363.

RAMALHO, A. Interface vitreoretinal. **Dicionário de Oftalmologia**. 1º. ed. Lisboa: Lidel; 2013.

RAMÍREZ, C.; TITTARELLI, C.; MATTIOLI G.; LASTA, G. Empleo del humor vítreo para la estimación postmortem de la magnesemia en bovinos. **Archivos Medicina Veterinaria**, v.30, n.1, p.157-160, 1998. Disponível em : http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301732X1998000100019&lng=pt&nrm=iso. Acesso em: 16 de novembro 2017.

REINHARDT, T.A.; HORST, R.L.; GOFF, J.P. Calcium, phosphorus, and magnesium homeostasis in ruminants. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.4, p.331, 1998.

ROSOL, T.J.; CAPEN, C.C. Calcium-Regulating Hormones and Diseases of Abnormal Mineral (Calcium, Phosphorus, Magnesium) Metabolism. p.619-702, In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**, 5ª ed., Academic Press, 1997. p.932.

RUDE, R.K.; GRUBER, H.E. Magnesium deficiency and osteoporosis: animal and human observations. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.15, p.710–716, 2004.

SÁNCHEZ, A.; AZOR, C.; ARAGÓN, A.; GARCÍA, D.P. Concentración de aminoácidos en el vítreo en una población control. **Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología**, v.77, n.11, 2002.

SANCHEZ, M.J. Hipomagnesemia. Un desbalance metabólico subestimado en la producción de ganado lechero en Costa Rica. **Nutrición Animal Tropical**, v.6, n.1, 2000.

SAUKKO, P.; KNIGHT, B. **Knight's Forensic Pathology**. 3ºed. Londres: Hodder Arnold, 2004.

SCHIMITT, E. ; PEREIRA, R.; HOFFMAN, D. ; VENDRAMIN, L.; LIMA, M.; FAROFA, T.; LOPES, M. Hipomagnesemia subclínica em vacas leiteiras durante o período de transição: ocorrências hormonais e metabólicas. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v.23, n.1-2, p.66-70, 2016.

SCHVARTZ, A.; STRACHAN, G.C.; LOPES, R.M.V. **Biometria - Reconhecimento da Íris**. 2009. Disponível em: http://www.gta.ufrj.br/grad/09_1/versaofinal/iris/index.html. Acesso em: 25 de out de 2017.

SEEKLES, L. **Phatology of potassium in animals**. Proceedings of the 6th Congress. International Potash Institute. Bern, Switzerland,p.349-379,1990.

SEELEY, R.R.; STEPHENS, T.D.; TATE, P. **Anatomia e Fisiologia**. 7°. ed. Nova Iorque: McGraw Hill.2006.

SILKE, G.A.; WIDMER, C.A.; IGLESIAS, K.B.; SPORKERT F.A.; AUGSBURGER. M.A.; MANGIN, P.A.; PALMIERE, C.A. Postmortem biochemistry performed on vitreous humor after postmortem CT-angiography. **Legal Medicine**, v.14, n.6,p.297-303, 2012.

SLATTER, D. Fundamentos da Oftalmologia Veterinária. Segunda edição, Philadelphia, W.B. Saunders,1991.p.463.

SMITH, B. P. Medicina interna de grandes animais. Barueri: Manole,2006.p.1728.

SODER, K.J.; STOUT. W.L. Efeito do tipo de solo e nível de fertilização na concentração mineral de pastagem: relações potenciais com o desempenho e a saúde dos ruminantes. **Journal of Animal Science**,v.81,p.1603-1610,2003.

SOUZA, N.V. Doenças do corpo vítreo, retina e uveíte. Medicina, Simpósio: Oftalmologia para o clínico,v.30,p 69-73,1997.

SPÄTH, E.J. Principales enfermedades en bovinos de cría y su impacto en la producción. IV Jornadas nacionales de cría bovina intensiva. 27 y 28 de mayo de 2004. Venado Tuerto, Argentina. **Memorias de las Jornadas**, p.87-95,2004.

SPENCER, H.; LESNIAK, M.; GATZA, C. Magnesium absorption and metabolism in patients with chronic renal failure and in patients with normal renal function. **Gastroenterology**,v.79,p.26-34,1980.

STOLYSZEWSKI, I.; NIEMCUNOWICZ-JANICA, A.; PEPINSKI, W.; SPLINCKA, M.; ZBIEC, R.; JANICA, J. Vitreous humour as a potential DNA source for postmortem human identification. **Folia Histochemical Cryobiology**,v.45,p.135-136,2007.

STURNER, W.Q.; BALKO, A.; SULLIVAN, J. Magnésio e outros eletrólitos em globos oculos bovinos imersos em água do mar e outros fluidos. **Journal Forensic Science**, v.8,p.139-150,1976.

SYKES, A. Hipomagnesemia en bovinos. In: JORNADAS CHILENAS DE BUIATRIA, Osorno: Sociedad Chilena de Buiatria,p.21-28.1993 .

TAPPERO, P.; MERLINO, C.; CAVALLO, R.; VAI, S.; NEGRO PONZI, A. Anti-HIV antibodies in postmortem vitreous humor. **Panminerva Medica**,v.31,p.187-188,1989.

TEIXEIRA, J.C. Nutrição de Ruminantes. Universidade Federal de Lavras UFLA/FAEPE, 1997. 239 p.

THIERAUF, A.; KEMPF, J.; PERDEKAMP, M.G.; AUWATRTER, V.; GNANN, H.; WOHLFARTH, A. Ethyl sulphate and ethyl glucuronide in vitreous humor as postmortem evidence marker for ethanol consumption prior to death. **Forensic Science International**,v.210,p.63-68,2011.

THIERAUF, A.; MUSSHOF, F.; MADEA, B. Post-mortem biochemical investigations of vitreous humor. **Forensic Science International**,v.192,n.1-3,p.78-82,2009.

TOKA, H.R.; AL-ROMAIH, K.; KOSHY, J.M.; DIBARTOLO, S.; KOS, C.H.; QUINN, S.J.; CURHAN, G.C.; MOUNT, D.B.; BROWN, E.M.; POLLAK, M.R. Deficiency of the calcium-sensing receptor in the kidney causes parathyroid hormone-independent hypocalciuria. **Journal of American Society Nephrology**, v. 23 ,p. 1879–1890, 2012.

TOKARNIA, C.H.; DOBEREINER, J.; PEIXOTO, P.; DÖBEREINER, J. Plantas tóxicas do Brasil. Rio de Janeiro: Helianthus,p.310,2000.

TOPF, J.M.; MURRAY, PT. Hypomagnesemia and hypermagnesemia. **Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders**, v.4,p.195–206,2003.

TORMEY, WP. The potential diagnostic value of vitreous humor analyses at autopsy is not appreciated. **Irish Journal of Medical Science**,v,185,p.931-934, 2016.

TYLER, M.R: Control of renal calcium, phosphate, electrolyte, and water excretion by the calcium-sensing receptor. **Best Practice & Research: Clinical Endocrinolpgy Metabolism**, v.27,p.345–358,2013.

UNDERWOOD, E. The mineral nutrition of livestock. London: Academic Press, 1981. p.15.

VAN EYS, J.E.; REID, R.L. Ruminal solubility of nitrogen and minerals from fescue and fescue-red clover herbage. **Journal of Animal Science**, Champaign,v.65,n.4,p.1101-1112,1987.

VERBEEK, M.J.; VAN DEN BERG, G.J.; LEMMENS, A.G.. High protein intake raises apparent but not true magnesium absorption in rats. **The Journal of Nutrition**, v.123, p.1880–1887,1993.

WAGEMANN, C.; BÖHMWALD, H.; CHIHUAILAF, R.; WITWTER, F.; NORO. M. Intervalos de referência em indicadores de parâmetros sangüíneos do balanço mineral para grupos de vacas leiteiras no sul do Chile. **Archivos de Medicina Veterinaria**,v. 46,p.121-125,2014.

WAGEMANN, C.; WITWTER, F.; CHIHUAILAF, R.; NORO, M. Estudio retrospectivo de la prevalencia de desbalances minerales en grupos de vacas lecheras en el sur de Chile. **Arquivos de medicina veterinária**,v.46,n.3,p.363-373,2014.

WEISINGER, J.R.; BELLORIN-FONT, E. Magnesium and phosphorus. *Lancet*, v.352.n: 9125,p.391-396,1998.

WEISS, W.; Macromineral digestion by lactating cows: factors accepting Mg digestibility of magnesium. **Journal of Dairy Science**,v.87,p.2167-2171,2004.

WHANG, R.; HAMPTON, E.M.; WHANG, D.D: Magnesium homeostasis and clinical disorders of magnesium deficiency. **Animals Pharmacotherapy**,v.28,p.220–226,1994.

WHITEHEAD, D.C.; GOULDEN, K.M.; HARTLEY, R.D. The distribution of nutrient elements in cell wall and other fractions of herbage of some grasses and legumes. **Journal of the Science of Food and Agriculture**,v.36,p.311-318,1985.

WITTWER, F. Diagnóstico e controle de deficiências minerais no gado. Seminário Internacional sobre Nutrição e Alimentação Animal UNISARC, Risaralda, Colômbia. 2007.

WITTWER, F.; URCULLÚ, F.; CONTRERAS, P.A.; BOHMWALD, H. Concentraciones postmortem de minerales, urea y creatinina en humor acuoso y vítreo en vacas como indicadores de sus concentraciones sanguíneas premortem. **Archivos de Medicina Veterinaria XXIV**, v.24,n.1p.61-68,1992.

ZELAL, A. Hypomagnesemia Tetany in Cattle. **Journal Advance Dairy Research**, v.5, n.2,p.2-9,2017. Disponível em: <https://www.omicsonline.org/open-access/hypomagnesemia-tetany-in-cattle-2329-888X-1000178.pdf>. Acesso em : 19 de novembro 2018 .

ZILG, B.; ALKASS, K.; BERG, S.; DRUID, H. Postmortem identification of hyperglycemia. **Forensic Science International**,v.185,p.89-95,2009.