

## VARIACIONES DIARIAS EN CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE SODIO Y POTASIO EN BOVINOS HOLSTEIN

SCAGLIONE, M. C.<sup>1</sup>; CERUTTI, R. D.<sup>1</sup>; ALTHAUS, R. L.<sup>1</sup>;  
VALTORTA, S. E.<sup>2</sup>; DIAZ, D. C.<sup>1</sup> & BOGGIO, J. C.<sup>1</sup>

### RESUMEN

En ruminantes varios metabolitos y minerales podrían presentar variaciones diarias y estacionales. Algunos de ellos, como el  $\text{Na}^+$  y el  $\text{K}^+$ , juegan un papel importante en procesos biológicos, incluso en el equilibrio del agua. El objetivo del presente trabajo es determinar si las concentraciones plasmáticas de  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  presentan variaciones diarias y/o las estacionales en vacas en producción bajo un sistema de pastoreo. Para determinar variaciones diarias en las concentraciones plasmáticas de  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  dieciséis vacas en producción Holando argentino se asignaron al azar a cuatro tratamientos, cuatro animales cada uno, en Junio de 2.000. Los animales estaban en una granja comercial en Villa Trinidad, Santa Fe, Argentina, bajo un sistema de pastoreo base alfalfa, con dos ordeños diarios. En el tratamiento I, las muestras de sangre se tomaron vía la vena yugular a las 08:00 hs, con jeringas heparinizadas, luego se centrifugó y el plasma se almacenó a 5 °C hasta el momento que se determinaron las concentraciones de  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$ . Los tratamientos II, III, y IV se realizaron de la misma manera, pero las muestras se tomaron a las 14:00; 20:00 y 02:00 horas, respectivamente. En noviembre de 2000, se llevó a cabo un nuevo ensayo con 16 animales. Los tiempos de muestreo para los ensayos I al IV fueron: 06:00; 12:00; 18:00 y 00:00 horas respectivamente, para mantener horas similares después del la salida del sol (HALO), i.e. 2, 8, 14 y 20 HALO. El análisis del cosinor fue realizado para determinar si las variaciones podían ajustarse a ritmos diarios. Las concentraciones plasmáticas de  $\text{Na}^+$  estuvieron significativamente afectadas por la estación (140,1  $\text{mmolL}^{-1}$  en junio y 133,1  $\text{mmolL}^{-1}$  en noviembre;  $p < 0,05$ ) y por el momento del muestreo. Las variaciones en junio y en noviembre no presentaron variaciones diarias. Las concentraciones plasmáticas de  $\text{K}^+$  estuvieron afectadas por el momento del muestreo en ambas estaciones. Sin embargo, ningún efecto estacional fue descubierto (3,95 vs 4,00  $\text{mmolL}^{-1}$ , durante junio y noviembre, respectivamente). La probabilidad de variaciones en noviembre de  $\text{K}^+$  para responder a un ritmo diario fue de 0,8 con Acrofase de 163° radians a las 10:52 hs. En junio, las concentraciones plasmáticas de  $\text{K}^+$  no se ajustaron a ritmos diarios. Se concluyó que a excepción de la variación plasmática del potasio durante el verano, las demás oscilaciones de los minerales no se ajustaron a ritmos diarios, sin embargo se piensa que podrían responder a mecanismos endógenos de medición del tiempo, ligada fundamentalmente a un ciclo de actividad-reposo, más que a un ritmo de luz-oscuridad.

*Palabras clave:* cronofisiología,  $\text{Na}^+$ ;  $\text{K}^+$ ; vacas lecheras.

---

1.- Facultad de Ciencias Veterinarias, UNL. Kreder 2805. 3080, Esperanza, provincia de Santa Fe

2.- Investigadora. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (Conicet).

Manuscrito recibido el 21 de agosto de 2002 y aceptado para su publicación el 2 de abril de 2003.

## SUMMARY

### Diurnal variations in plasmatic concentration of sodium and potassium in holstein cows.

Sixteen lactating Holando Argentino cows were randomly assigned to treatments, four animals each, in June 2000, to determine circadian variations in plasma Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> concentrations. Animals were in a commercial farm in Villa Trinidad, Santa Fe, Argentina, and were on an alfalfa based grazing system, with two daily milkings. In treatment I, blood samples were taken via the jugular vein at 08:00, in heparinized syringes, were then centrifuged and the plasma was frozen till analyzed to determine Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> concentrations. Treatments II to IV were performed in the same way, but samples were taken at 14:00; 20:00 and 02:00 hours, respectively. In November 2000, the trial was carried out on 16 animals, the times for treatments I and IV being: 06:00; 12:00; 18:00 and 00:00 hours. Plasma Na<sup>+</sup> concentrations were significantly affected by season (140.1 mmolL<sup>-1</sup> in June and 133.1 mmolL<sup>-1</sup> in November;  $p < 0.05$ ) and by sampling time. The cosinor analysis was performed in order to determine whether the variations could be adjusted to circadian rhythm. June and November variations did not be fitted by cosinor. Plasma K<sup>+</sup> concentrations were affected by sampling time in both seasons. However, no seasonal effect was detected (3.95 vs. 4.00 mmolL<sup>-1</sup>, for June and November, respectively). The probability of November K<sup>+</sup> variations to respond to a circadian rhythm was 0.8, the acrophase being 163° radians, 10:52 hours. In June, K data could not be adjusted to a circadian rhythm, while an ultradian rhythm could be present. It was concluded that in this experimental conditions there was no clear circadian rhythm in Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> plasma concentrations but the biological rhythms in this minerals throughout the day suggest to be due to the animal's biological clock response to changes not only to current ambient conditions, also to more integrative measures such as day length and a cycle of activity-rest.

*Key words:* chronophysiology; Na<sup>+</sup>; K<sup>+</sup> dairy cows.

## INTRODUCCIÓN

La existencia de variaciones rítmicas en las funciones fisiológicas, que no reaccionan sino que anticipan las perturbaciones predecibles, ha conducido a una segunda definición del término homeostasis. Son homeostáticas no sólo las estrategias que permiten al organismo una respuesta apropiada ante cambios en el medio ambiente (“homeostasis reactiva”), sino también las respuestas periódicas (ritmos biológicos) que permiten al organismo predecir el momento de probable aparición de los estímulos ambientales y así iniciar de antemano la corrección adecuada (“homeostasis predictiva») (Moore-Ede, 1986). Los ritmos biológicos son la base de la homeostasis predictiva. Entre ellos

los ritmos circadianos, cuya periodicidad fluctúa alrededor de 24 hs, han sido los más estudiados.

Una importante propiedad de estos ritmos es su plasticidad ante sincronizadores externos (o “Zeitgeber”) (Halberg and Halberg, 1980). El sincronizador ambiental más poderoso, tanto para los animales como para las plantas, es el ciclo luz-oscuridad, al que se suman, en los mamíferos, otros factores sociales y ambientales. Zeitgeber secundarios, como la disponibilidad de alimentos, ruido, actividad motora, temperatura o campos electromagnéticos afectan significativamente a los ciclos circadianos en muchas circunstancias (Steimbach *et al.*, 1976; Reinberg, 1979).

La organización temporal de las funciones orgánicas hace que cada actividad se desarrolle preferentemente a unas horas determinadas, hecho que ocasiona una sucesión de acontecimientos rigurosamente controlada. Ello es lo que hace que los síntomas de algunas enfermedades se manifiesten más a unas horas que a otras, o que los resultados de un análisis clínico dependan de la hora a la cual se ha obtenido la muestra, o que el efecto (o la toxicidad) de un fármaco sea más elevado, o nulo, en determinados momentos, etc.

En bovinos se han reportado variaciones diarias en las concentraciones séricas de los iones calcio (Cahoon *et al.*, 1996; Bajksy *et al.*, 1999; Egger *et al.*, 1994, Valtorta *et al.*, 2000), fósforo (Valtorta *et al.*, 2000), sodio (Cahoon *et al.*, 1996), potasio (Cahoon *et al.*, 1996; Egger *et al.*, 1994)) y cloruro. Algunos de ellos, como el Na<sup>+</sup> y el K<sup>+</sup>, juegan un importante papel en procesos biológicos, incluso en el equilibrio del agua.

El objetivo del presente trabajo es analizar, en bovinos sometidos a un sistema de alimentación pastoril en el hemisferio sur, las variaciones diarias de las concentraciones plasmáticas de Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup>, para detectar si estos minerales se ajustan a ritmos diarios y si presentan el mismo comportamiento en invierno que en verano.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se llevó a cabo en un establecimiento agropecuario de la localidad de Villa Trinidad, paralelo 19, meridiano 26, provincia de Santa Fe durante el año 2000. Se utilizaron 32 hembras de la especie bovina raza Holstein, en su tercera lactancia y en su tercer mes de lactación, clínicamente sanas, con una producción media de 20 litros diarios, y de peso similares (comprendido

entre 600 y 650 kg.). Los animales se encontraban bajo sistema de manejo extensivo, permitiéndoles el desplazamiento a campo abierto y el pastoreo en potreros con pasturas implantadas, de modo que además estaban sujetos a la variación natural del ciclo luz-oscuridad.

Los animales fueron distribuidos al azar en ocho grupos de cuatro animales cada uno. Se llevaron a cabo dos fases: invierno (grupo I, II, III y IV) y verano (grupo V, VI, VII y VIII). A cada uno de los animales se les extrajo 10 ml de sangre por punción yugular empleando heparina como anticoagulante. Durante la fase invernal, las extracciones se realizaron a las 8:00, 14:00, 20:00 y 02:00 horas respectivamente, que representan 02:00, 08:00, 14:00 y 20:00 horas después de la salida del sol ("hours after light onset" HALO). Durante la fase estival, las extracciones correspondieron a las mismas HALO, de modo que se llevaron a cabo a las 06:00, 12:00, 18:00 y 00:00 horas.

Las muestras fueron centrifugadas y el plasma fue almacenado a -5 °C hasta la determinación de sodio y potasio.

La cuantificación de sodio y potasio plasmática se realizó por fotometría de llamas (fotómetro Metrolab 315) utilizando filtro de 589 nm y efectuando una dilución 1:50 para la lectura de sodio y con filtro de 766,5 nm y dilución 1:200 para la lectura de potasio.

### Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías con interacción. El modelo estadístico fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = m_{ijk} + [EA]_i + [HD]_j + (eA*HD)_{ij} + e_{ijk}$$

Donde:

$Y_{ijk}$  = variable dependiente (concentración de iones sodio o potasio)

$m_{ijk}$  = media general,

$[EA]_i$  = efecto estación del año (  $i=2$ :

invierno y verano)

$[HD]_j$  = efecto hora del día ( $j = 4 : 8:00, 14:00, 20:00$  y  $02:00$  hs),

$(eA*HD)_{ij}$  = interacción doble estación del año \* hora del día

$e_{ijk}$  = error residual del modelo.

Luego los resultados se analizaron por el método COSINOR, propuesto por Halberg *et al.* (1972). Esta metodología fue utilizada para determinar la probabilidad de que las variaciones en los iones plasmáticos se ajusten a un ritmo diario, y estimar el mesor, la amplitud y la acrofase del ritmo.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 1 se exponen los principales parámetros descriptores de los niveles de los iones sodio y potasio en plasma de vacas lecheras Holstein.

Los promedios de los iones plasmáticos obtenidos en el presente trabajo resultaron ligeramente inferiores para el sodio

y normales para el potasio, de acuerdo a lo reportado por otros autores (Althaus *et al.*, 1991; Bajksy *et al.*, 1999; Meyer and Harvey, 1999; Sommer, 1985).

Los CV obtenidos para sodio y potasio son algo inferiores a los informados por Althaus *et al.* (1991).

Con el propósito de evaluar los efectos de la estación del año y la hora del día, se aplicó un ANOVA-MR. El Cuadro 2 resume los valores de “F” y su probabilidad tanto para el modelo estadístico como para cada uno de los factores.

Los valores significativos para los iones sodio ( $p = 0,0013$ ) y potasio ( $p = 0,0039$ ) ponen de manifiesto la adecuación del modelo planteado.

El ion sodio presentó diferencias significativas ( $p = 0,0003$ ) entre ambas estaciones del año, observándose un promedio mayor en el invierno (140,1 mmol/L, Cuadro 3) que en el verano (133,1 mmol/L, Cuadro 3), mientras que la estación del año no afectó significativamente ( $p = 0,6623$ ) los niveles séricos de potasio.

Cuadro 1: Principales parámetros estadísticos de las concentraciones (mmol/L) de iones sodio y potasio en plasma de vacas lecheras Holstein.

	Media	D.S.	C.V.
Na <sup>+</sup>	136,6	6,4	0,04
K <sup>+</sup>	3,97	0,47	0,11

Cuadro 2: Efectos de la estación del año, la hora del día e interacción estación\*hora sobre los niveles de sodio y potasio en plasma de vacas lecheras Holstein.

	Modelo		Estación		Hora		Estación * Hora	
	Valor "F"	Valor "p"	F	p	F	p	F	p
Na <sup>+</sup>	5,04	0,0013	18,16	0,0003	1,78	0,1786	3,93	0,0206
K <sup>+</sup>	4,17	0,0039	0,20	0,6623	5,11	0,0071	4,56	0,0117

En el caso del presente trabajo, la concentración de sodio encontrada en la fase estival (133,1 mmol/L, Cuadro 3) podría atribuirse al estrés térmico al que se encontraron sometidos estos animales, inmersos en un ambiente con elevada humedad y altas temperaturas. En rumiantes estresados por calor, el agua corporal tiene una función central en el enfriamiento evaporativo, el índice de flujo de líquido del rumen y cambio de agua corporal se aceleran, produciéndose una dilución acuosa del plasma debido a la transferencia de agua desde el espacio extracelular, en especial del rumen

y aparato digestivo posterior (Ruckebusch *et al.*, 1994).

Con respecto a las variaciones diurnas, según se aprecia en el Cuadro 2, solamente el ion potasio presentó diferencias significativas ( $p = 0,0071$ ).

Debido a que la interacción Estación\*Hora presentó efecto significativo para el ion potasio ( $p = 0,0117$ ) y sodio ( $p = 0,0205$ ), en el Cuadro 3 se presentan las variaciones diurnas para ambos minerales, clasificados por estación.

Durante el día los niveles de sodio no presentaron diferencias significativas entre

Cuadro 3: Efecto de la estación y la hora del día sobre los niveles de sodio y potasio en plasma de vacas lecheras Holstein.

		HALO				Promedio
		2	8	14	20	
Na <sup>+</sup>	Invierno	139,0 <sup>a</sup>	138,0 <sup>a</sup>	139,5 <sup>a</sup>	144,0 <sup>a</sup>	140,1
	Verano	135,8 <sup>a</sup>	138,3 <sup>a</sup>	127,3 <sup>b,c</sup>	131,2 <sup>b,c</sup>	133,1
K <sup>+</sup>	Invierno	4,13 <sub>1</sub>	3,85 <sub>2</sub>	4,22 <sub>1</sub>	3,58 <sub>2</sub>	3,96
	Verano	4,05 <sub>1,b</sub>	4,68 <sub>2</sub>	3,73 <sub>1</sub>	3,58 <sub>1</sub>	4,00

a,b: Diferentes supraíndices para una columna del mismo componente indican diferencias significativas a  $p < 0,05$ .

a,b,c: Diferentes subíndices para una misma fila indican diferencias significativas a  $p < 0,05$

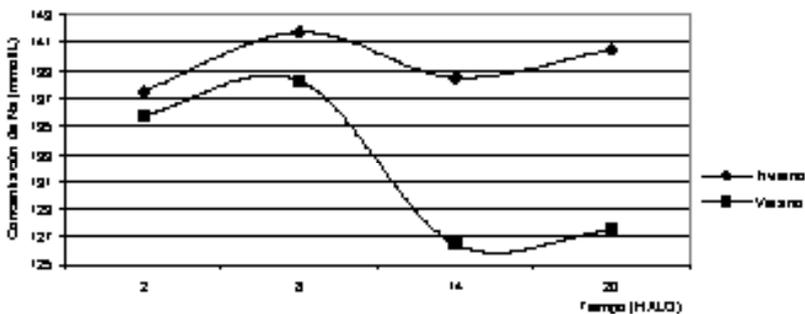


Fig. 1: Concentraciones plasmáticas de sodio a diferentes HALO en invierno y en verano

En un estudio realizado en vacas lecheras en lactancia tardía durante la primavera, Bajksy *et al.* (1999) encontraron que los valores máximos para las concentraciones de sodio plasmático ocurrían a la hora 14, no coincidiendo con lo encontrado en este trabajo.

En ambas estaciones, los niveles plasmáticos de sodio, muestran una fluctuación durante el período de 24 hs caracterizada por la existencia de un pico en las primeras horas de la mañana. Esto estaría indicando, teniendo en cuenta la similitud y paralelismo de dichas oscilaciones, una intervención de mecanismos endógenos de medición del tiempo en la regulación de la concentración plasmática de sodio.

Todos los componentes del eje renina-angiotensina-aldosterona presentan una variación de sus concentraciones plasmáticas a lo largo del día. El ritmo de estas hormonas parece estar ligado fundamentalmente a un ciclo de actividad reposo y no a un ritmo luz oscuridad (Breur *et al.*, 1974).

En bovinos, las pautas de pastoreo implican una periodicidad diurna. El máximo pastoreo se realiza a la mañana temprano y al anochecer, durante el resto del día se alternan descanso, rumia y pastoreo. También hay algo de ingestión nocturna. Estas pautas de ingestión pueden variar por factores exógenos como ser tábanos, precipitaciones o temperatura. El mayor período de rumia se encuentra poco después de la caída de la noche, y esa actividad disminuye gradualmente; el resto, repartido a lo largo del día. La necesidad de iniciar actividad corporal puede considerarse como exigencia básica del comportamiento. En feed lot donde no se requiere movimiento para adquirir el alimento, existe todavía un instinto que exige que el animal ejercite de distintas maneras sus nervios de locomoción y cambie su localización. Los bovinos son polifásicos en sus

períodos de descanso. Están sonno-lientos unas 7 u 8 horas diarias, divididos aproximadamente en 20 períodos que preceden o siguen al sueño verdadero de unas 4 horas. Cabe destacar que los bovinos actuando en grupo tienen tendencia a pastar, rumiar o echarse todos simultáneamente. Teniendo en cuenta el comportamiento y costumbre de los bovinos es posible que la actividad motora realizada en las primeras horas del día sea capaz de determinar el ritmo de la aldosterona y en consecuencia el de las concentraciones de sodio y potasio.

En los rumiantes, la aldosterona es el principal y más potente mineralcorticoide regulador de la homeostasia de sodio y potasio. La producción normal de aldosterona muestra una tendencia a ritmos circadianos. El período de descanso sostenido durante el sueño precede a las más altas concentraciones de aldosterona, con una concentración máxima a las 6:00 a.m., mientras las cifras más bajas se observan después de la actividad diurna, concentración mínima a las 8:00 p.m. (Ruckebusch *et al.*, 1994).

Una de las funciones más importantes de la aldosterona es aumentar la reabsorción de sodio por los túbulos renales, en intercambio con  $H^+$  y  $K^+$ , con lo que se eleva la concentración de sodio en el líquido extracelular (Ruckebusch *et al.*, 1994).

Teniendo en cuenta que las fluctuaciones de la aldosterona descripta en la literatura coincide con las oscilaciones encontradas en este trabajo para el ion sodio, esta hormona al experimentar diferentes variaciones diarias, puede estar ejerciendo un importante rol como sincronizadora de la variación diaria del potasio.

Las concentraciones plasmáticas de sodio estuvieron afectadas significativamente por el momento del muestreo en noviembre (Cuadro 3).

La aplicación de la metodología del

COSINOR a los datos de la concentración plasmática de sodio durante las dos estaciones determinó que los resultados no se ajustaron a un ritmo diario.

Las concentraciones plasmáticas de potasio estuvieron afectadas por la hora del día en ambas estaciones (Cuadro 3, Fig.2). Con respecto a la variación del ion potasio, el pico máximo de su concentración se observa en el invierno a la hora 14 y en el verano a las 8; mientras que el valor mínimo en ambas estaciones es a la hora 20.

La aplicación de la metodología del COSINOR a los datos de la concentración plasmática de potasio arrojó que la probabilidad de variaciones en noviembre para ajustarse a un ritmo diario fue 0,8 con Acrofase de  $163^\circ$  radians a las 10:52 horas, amplitud 0,5 y mesor 4. Las variaciones en junio no se ajustaron a ritmos diarios.

Bajksy *et al.* (1999) establecieron para las concentraciones plasmáticas de sodio y potasio variaciones circadianas con picos opuestos, coincidiendo con lo encontrado en invierno en este trabajo.

Debido a la amplia variación entre individuos y a la pequeña variación en la concentración de  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  en su rango de referencia las diferencias rítmicas son clínicamente irrelevantes desde el punto de vista diagnóstico. Además, la concentración de

$\text{Na}^+$  es interesante desde el punto de vista fisiológico ya que se observa un ritmo ampliamente similar para ambas estaciones.

El análisis de la información recolectada para los iones sodio y potasio indicaría existencia de ritmos biológicos que, si bien solamente el potasio durante el verano se ajusta a ciclos diarios, en los otros casos podrían presentarse ritmos con otras duraciones.

Las variaciones diarias en las concentraciones de sodio y potasio sérico en bovinos podrían, al igual que lo que sucede en el hombre, ser respuestas periódicas (ritmos biológicos) que permitirían al organismo predecir el momento de probable aparición de un estímulo ambiental y así iniciar de antemano la corrección adecuada (“homeostasis predictiva”). Moore-Ede (1986), demostró que en el hombre existe un mecanismo de homeostasis predictiva relacionada con el descanso nocturno y la postura, al pasar de la posición de ortostatismo a la de decúbito, que nos protege de las pérdidas de minerales y fluidos ganados durante el día. Así es que un descanso matutino induce un incremento en la eliminación renal de sodio, agua y calcio, mientras que el descanso nocturno no produce estos efectos.

## CONCLUSIONES

Los resultados aquí presentados parecen

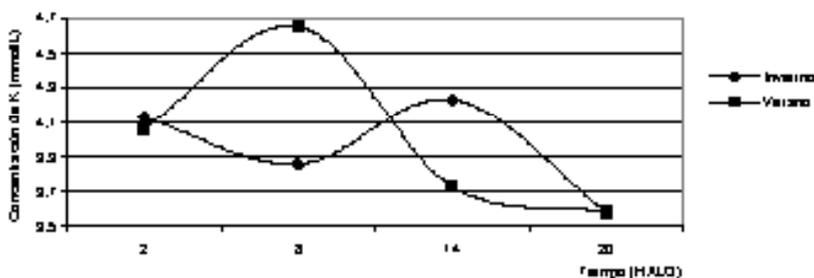


Fig. 2: Concentraciones de Potasio plasmático a diferentes HALO en verano y en invierno

mostrar que las concentraciones plasmáticas de sodio y potasio responden a mecanismos endógenos de medición del tiempo, ligada fundamentalmente a un ciclo de actividad-reposo, mereciendo una investigación extensa para esclarecer las bases anatómicas y fisiológicas de la ritmicidad circadiana en el bovino (fisiología del sistema circadiano), los factores externos que afectan a la manifestación de los ritmos (sincronización ambiental), los cambios rítmicos en la respuesta fisiológica ante agentes externos (fármacos, toxinas, nutrientes) y las alteraciones del sistema circadiano asociadas a determinadas patologías.

## BIBLIOGRAFÍA

- ALTHAUS, R. L.; L. C. TARDIVO; L. C. PERREN & A. FLORES.** 1991. Perfiles metabólicos en vacas lecheras holando Argentino. Parte I: Variación durante el período de lactancia. *Revista de Medicina Veterinaria*. 72 (3): 100-109.
- BAJKSY, C. A.; J. REICZIGEL & O. SZEN-CL.** 1999. Circadian changes in blood ionized calcium, sodium, potassium, and chloride concentrations and pH in cattle (1999). *Am. J. Vet. Res.* 60: 945-953.
- BREUR, H.; H. HULHAUSEN; W. MÜHLBAUER; G. FRITZSCHE & H. VETTER.** Circadian rhythm of the renin-angiotensin-aldosterone system. In: *Chronobiological aspects of endocrinology*, edited by J. Aschoff, Ceresa, F. and Halberg F. Schattauer Verlag, F. K. New York. 1974.
- CAHOON, S.; S. D. BODEN & K. G. GOULD.** 1996. Noninvasive markers of bone metabolism in the rhesus monkey: normal effects of age and gender. *J. Med. Primatol.* 25: 333-338.
- EGGER, C. D.; R. C. MUHLBAUER & R. FELIX.** 1994. Evaluation of urinary pyridinium crosslink excretion as a marker of bone resorption in the rat. *J. Bone Miner Res.* 9: 1211-1219.
- HALBERG, F.; E. A. JOHNSON; W. NELSON; W. RUNGE & SOTHERN.** 1972. Autometry procedures for physiologic selfmeasurements and their analysis. *Physiology Teacher* 1: 1-11.
- IOVINE, E. & A. SELVA.** El laboratorio en la clínica. Metodología analítica, fisiopatología en interpretación semiológica. Ed. Médica Panamericana, Bs. Aires, Argentina, pp. 1077.
- LEFCOURT, A. M.** 1990. Circadian and ultradian rhythms in ruminants: relevance to farming and science. En: *Chronobiology: its role in clinical medicine, General Biology, and Agriculture – Part B*. Ed. New York, Wiley-Liss Inc. pp. 735-754.
- MEYER, DENNY J. & HARVEY, JOHN W.** 1999. El laboratorio en medicina veterinaria. Interpretación y diagnóstico. Segunda Edición. Editorial Inter-Médica S.A.I.C.I., Buenos Aires, Argentina. pp. 397.
- MOORE-EDE, MARTIN C.** 1986. Physiology of the circadian timing system: predictive versus reactive homeostasis. *Am. J. Physiol.* 250: R737-R751.
- RUCKEBUSH, Y.; L. P. PHANEUF & R. DUNLOP.** 1994. Fisiología de pequeñas y grandes especies. Vitaminas y minerales en metabolismo. Ed. El Manual Moderno, S.A. de C.V. México, D.F. pp. 571.
- VALTORTA, S. E.; P. E. LEVA; D. C. DÍAZ; A. R. SAURIT & J. C. BOGGIO.** 2000. Variación circadiana de las concentraciones séricas de calcio y fósforo en terneros Holando Argentino. *Revista FAVE* 14 (2): 23-29.