

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE ENGENHARIAS, CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

YASMIN ADRIANO DELBONE

RELAÇÃO ENTRE PERFIL HEPÁTICO METABÓLICO, HISTOLOGIA
HEPÁTICA E PRODUÇÃO LEITEIRA

PONTA GROSSA

2026

YASMIN ADRIANO DELBONE

RELAÇÃO ENTRE PERFIL HEPÁTICO METABÓLICO, HISTOLOGIA
HEPÁTICA E PRODUÇÃO LEITEIRA

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Zootecnia pela Universidade Estadual de
Ponta Grossa, na área de Produção Animal.
Orientador: Prof. Dr. Leandro Cavalcante Lipinski

PONTA GROSSA

2026

D344 Delbone, Yasmin Adriano
Relação entre perfil hepático metabólico, histologia hepática e produção leiteira / Yasmin Adriano Delbone. Ponta Grossa, 2026.
49 f.

Dissertação (Mestrado em Zootecnia - Área de Concentração: Produção Animal), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. Leandro Cavalcante Lipinski.

1. Esteatose hepática. 2. Período de transição. 3. Beta-hidroxibutirato. 4. Balanço energético negativo. 5. Enzimas hepáticas. I. Lipinski, Leandro Cavalcante. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Produção Animal. III.T.

CDD: 636

TERMO DE APROVAÇÃO - SEI

03/09/2026, 10:37

SEI/UEPG - 3239853 - Termo



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
Av. General Carlos Cavalcanti, 4748 - Bairro Uvaranas - CEP 84030-900 - Ponta Grossa - PR - <https://uepg.br>

TERMO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

TERMO DE APROVAÇÃO

YASMIN ADRIANO DELBONE

“RELAÇÃO ENTRE PERFIL HEPÁTICO METABÓLICO, HISTOLOGIA HEPÁTICA E PRODUÇÃO LEITEIRA”

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – Mestrado em Zootecnia, Setor de Engenharias, Ciências Agrárias e de Tecnologia da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Ponta Grossa, 28 de agosto de 2026.

BANCA EXAMINADORA:

Documento assinado digitalmente
 **LEANDRO CAVALCANTE LIPINSKI**
Data: 04/09/2026 10:42:20-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. Leandro Cavalcante Lipinski
Presidente – UEPG

Documento assinado digitalmente
 **EDMAR MIYOSHI**
Data: 08/09/2026 16:41:08-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. Edmar Miyoshi
Membro Interno – UEPG

Documento assinado digitalmente
 **FRANCISCO ROSA**
Data: 07/09/2026 23:41:25-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. Francisco Rosa
Membro Externo – UFMS

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me conceder força, sabedoria e perseverança ao longo desta caminhada.

Aos meus pais, ao meu avô Antônio e à minha irmã, Letícia, pelo amor, incentivo e apoio incondicional em todos os momentos desta trajetória.

Ao meu companheiro, Alisson Freitas, pelo carinho, compreensão e suporte durante esta importante etapa da minha vida.

Ao meu orientador, Leandro Lipinski, pela confiança, orientação, ensinamentos e oportunidade de integrar este projeto de pesquisa.

Ao Edmar Miyoshi, Marcelo Dreweck e a toda a equipe, pelo suporte técnico, disponibilidade e colaboração durante a execução do projeto.

Ao Centro de Treinamento ao Pecuário - CTP, por abrir suas portas e viabilizar a realização desta pesquisa, e ao Alisson Macgnan, por intermediar essa parceria e por toda a ajuda prestada sempre que necessário.

À Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela oportunidade de realização do curso de Mestrado e por proporcionar a estrutura necessária para o desenvolvimento desta pesquisa.

RESUMO

As vacas leiteiras no período de transição enfrentam adaptações metabólicas para sustentar a lactação. Este estudo avaliou a associação entre a concentração de beta-hidroxibutirato (BHBA), em baixa faixa de concentração, marcadores bioquímicos e histologia hepática. Foram avaliadas 47 vacas Holandesas pluríparas no município de Castro, Paraná, estratificadas em dois grupos: Grupo A (BHBA $\geq$ 0,6 mmol/L; n = 23) e Grupo B (BHBA < 0,6 mmol/L; n = 24). Foram realizadas coletas de sangue para determinação de BHBA, glicose, enzimas hepáticas (AST, ALT, GGT e FA) e haptoglobina (Hp), além de biópsias hepáticas guiadas por ultrassonografia para avaliação da vacuolização hepatocelular. Não houve diferenças significativas entre os grupos para AST, ALT e GGT ($p > 0,05$), indicando ausência de evidências bioquímicas de lesão hepatocelular ou colestase diferencial. A atividade da FA ($p = 0,022$) e da Hp ($p = 0,0024$) foi superior no Grupo B. Observou-se correlação negativa entre glicemia e BHBA ($r = -0,54$; $p < 0,01$), compatível com maior desafio energético no início da lactação, além de correlação fraca e positiva entre BHBA e produção de leite ($r = 0,34$), sugerindo associação entre maior produção e demanda metabólica. A análise histológica revelou vacuolização hepatocelular semelhante entre os grupos, sugerindo que alterações morfológicas discretas podem ocorrer mesmo abaixo dos limiares clássicos de hipercetonemia. Conclui-se que a estratificação por 0,6 mmol/L de BHBA não diferenciou o grau de vacuolização hepática ou a integridade bioquímica, reforçando a necessidade de interpretar o BHBA de forma integrada a dados clínicos, produtivos e bioquímicos.

Palavras chave: esteatose hepática; período de transição; beta-hidroxibutirato; balanço energético negativo; enzimas hepáticas

ABSTRACT

Dairy cows in the transition period undergo metabolic adaptations to sustain lactation. This study evaluated the association between beta-hydroxybutyrate (BHBA) concentration, within a low concentration range, biochemical markers, and hepatic histology. Forty-seven multiparous Holstein cows in the municipality of Castro, Paraná, were evaluated and stratified into two groups: Group A (BHBA $\geq$ 0.6 mmol/L; n = 23) and Group B (BHBA < 0.6 mmol/L; n = 24). Blood samples were collected to determine BHBA, glucose, hepatic enzymes (AST, ALT, GGT, and ALP), and haptoglobin (Hp), in addition to ultrasound-guided liver biopsies to assess hepatocellular vacuolization. No significant differences were found between groups for AST, ALT, and GGT ($p > 0.05$), indicating an absence of biochemical evidence of differential hepatocellular injury or cholestasis. ALP activity ($p = 0.022$) and Hp ($p = 0.0024$) were higher in Group B. A negative correlation was observed between blood glucose and BHBA ($r = -0.54$; $p < 0.01$), consistent with greater energy challenge in early lactation, along with a weak positive correlation between BHBA and milk yield ($r = 0.34$), suggesting an association between higher production and metabolic demand. Histological analysis revealed similar hepatocellular vacuolization between groups, suggesting that subtle morphological changes may occur even below classical hyperketonemia thresholds. It is concluded that stratification by a BHBA threshold of 0.6 mmol/L did not differentiate the degree of hepatic vacuolization or biochemical integrity, reinforcing the need to interpret BHBA in an integrated manner alongside clinical, productive, and biochemical data.

Keywords: hepatic steatosis; transition period; beta-hydroxybutyrate; negative energy balance; hepatic enzymes.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Animal 2992, escore 0.....	30
FIGURA 2 - Animal 2171, escore 1.....	30
FIGURA 3 - Animal 2739, escore 2	30
FIGURA 4 - Animal 2698, escore 3.....	30
FIGURA 5 - Matriz de correlação de Spearman entre as variáveis bioquímicas e metabólicas avaliadas nos Grupos A e B.....	32

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Parâmetros bioquímicos séricos e plasmáticos de vacas Holandesas estratificadas por concentração de BHBA.....	31
TABELA 2 – Animais com nível de BHBA superior de 1,2 mmol/L grupos experimentais.....	32
TABELA 3 – Comparação do escore de esteatose hepática entre os grupos experimentais	33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3-CC	Compostos de três carbonos
ABHD5	Proteína contendo domínio α/β -hidrolase 5 (CGI-58)
ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
AG	Ácidos graxos
AGNE	Ácidos graxos não esterificados
AGV	Ácidos graxos voláteis
ALT	Alanina aminotransferase
ANOVA	Análise de variância
AST	Aspartato aminotransferase
ATP	Trifosfato de adenosina
BEN	Balanço energético negativo
BHBA	β -hidroxibutirato
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
CTP	Centro de Treinamento de Pecuáristas
DHGNA	Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica
ECC	Escore de Condição Corporal
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
FA	Fosfatase Alcalina
GGT	Gama-glutamil transferase
GH	Hormônio do crescimento
HE	Hematoxilina-eosina
Hp	Haptoglobina
IMS	Ingestão de matéria seca
kg	Quilograma
mL	Mililitro
SENAR	Serviço Nacional de Aprendizagem Rural
STH	Hormônio somatotrófico
TCA	Ciclo do ácido tricarboxílico
UEPG	Universidade Estadual de Ponta Grossa
μm	Micrômetro

SUMÁRIO

1	DISFUNÇÕES HEPÁTICAS E METABÓLICAS EM VACAS LEITEIRAS NO PERIPARTO: RELAÇÕES COM PRODUÇÃO E HOMEOSTASE ENERGÉTICA	10
1.1	PERFIL HEPÁTICO.....	10
1.2	PERFIL METABÓLICO.....	12
1.3	PRODUÇÃO DE LEITE.....	13
1.3.1	Alterações Metabólicas e Produção.....	14
1.3.2	Índice de Escore de Condição Corporal.....	16
1.3.3	Corpos Cetônicos.....	17
	REFERÊNCIAS.....	18
2	RELAÇÃO ENTRE PERFIL HEPÁTICO METABÓLICO, HISTOLOGIA HEPÁTICA E PRODUÇÃO LEITEIRA.....	24
2.1	INTRODUÇÃO.....	24
2.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	26
2.2.1	Análises sanguíneas.....	27
2.2.2	Biópsia e Ultrassonografia de Fígado.....	28
2.2.3	Análise Histológica.....	29
2.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	30
2.4	RESULTADOS.....	30
2.4.1	Parâmetros sanguíneos.....	30
2.4.2	Correlações observadas entre os índices zootécnicos avaliados.....	31
2.4.3	Grau de Esteatose Hepática.....	32
2.5	DISCUSSÃO.....	33
2.5.1	Perfil Metabólico.....	33
2.5.2	Enzimas hepáticas.....	35
2.5.3	Correlações.....	37
2.5.4	Avaliação histológica.....	39
	CONCLUSÃO.....	41
	REFERÊNCIAS.....	41
	ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO PARA USO DE ANIMAL.....	48

1 DISFUNÇÕES HEPÁTICAS E METABÓLICAS EM VACAS LEITEIRAS NO PERIPARTO: RELAÇÕES COM PRODUÇÃO E HOMEOSTASE ENERGÉTICA

1.1 PERFIL HEPÁTICO

O fígado é um órgão de elevada relevância metabólica, com estrutura celular composta por hepatócitos nos lóbulos hepáticos, os quais apresentam intensa atividade de síntese, armazenamento e interconversão de nutrientes. Em ruminantes, encontra-se posicionado caudal ao diafragma, predominantemente à direita, e apresenta lóbulos claramente delimitados. Seu suprimento sanguíneo deriva da artéria hepática e da veia porta, a qual transporta sangue proveniente do estômago, baço, pâncreas e intestinos. O fluxo sanguíneo percorre os sinusoides hepáticos, caracterizados como o segundo leito capilar do sistema porta, onde ocorre desintoxicação e modulação metabólica, antes de seguir para a veia central, veias hepáticas e, finalmente, à veia cava caudal em direção ao coração (Reece, 2008).

O fígado contém importante população do sistema mononuclear fagocítico, representada pelas células de Kupffer. Essas são altamente fagocíticas, removem materiais estranhos que entram no sangue a partir do estômago e do intestino (Reece, 2008). O fígado desempenha um papel central e integrador na manutenção da homeostase lipídica (Zhu *et al.*, 2023). Além de possuir sistemas enzimáticos ativos para (1) síntese de ácidos graxos, colesterol, fosfolipídios, triacilgliceróis, ácidos biliares e formas menos tóxicas ou mais hidrossolúveis de compostos eventualmente excretados pela urina ou pelas fezes e (2) oxidação de ácidos graxos em CO₂ ou em corpos cetônicos (Beitz, 1996).

Após o parto, a demanda energética aumenta significativamente devido ao início da produção de leite e a prioridade metabólica da glândula mamária (Herdt, 2000; Leroy *et al.*, 2008). Em vacas leiteiras no pós-parto, a maioria apresenta um estado de balanço energético negativo causado pelo início da síntese de leite e pela redução na ingestão de matéria seca (IMS), o que inicia a mobilização de gordura, resultando em um aumento dos ácidos graxos não esterificados (AGNE) circulantes (Waltner; Mcnamara; Hillers, 1993). Durante estado de balanço energético negativo, aproximadamente 25% dos ácidos graxos não esterificados (AGNE) são captados pelo fígado e, posteriormente, oxidados em CO₂, corpos cetônicos ou reesterificados em triglicerídeos (Sejersen *et al.*, 2012). O fígado representa o principal sítio de produção de corpos cetônicos durante a ocorrência de cetose. Entretanto, uma vez formado o acetoacetato, esse órgão apresenta capacidade limitada para reconvertê-lo em acetoacetil-CoA, devido à deficiência no sistema enzimático responsável por sua ativação (Beitz, 1996).

Os ácidos graxos não esterificados (AGNE) mobilizados podem servir como fonte de

energia em tecidos capazes de realizar β -oxidação. Para os tecidos incapazes de realizar β -oxidação, como os tecidos neuronais, o fígado produz corpos cetônicos que podem substituir parcialmente a glicose como fonte energética durante estados de restrição energética (Chowdhury *et al.*, 2014). Apesar de seu papel essencial como combustíveis metabólicos, altas concentrações de corpos cetônicos e AGNE causam danos redox (Jain; McVie; Bocchini, 2006; Shi *et al.*, 2015) e estão associadas a perdas na produção e a distúrbios de saúde, comumente denominados cetose em vacas leiteiras no período de transição (Hausmann *et al.*, 2018).

Além disso, os lipídios armazenados periféricamente podem se acumular no tecido hepático e atingir uma capacidade máxima de metabolismo lipídico, levando à esteatose hepática em vacas leiteiras. Lipídios que não podem ser suficientemente oxidados ou exportados pelo fígado por meio da formação de lipoproteínas acumulam-se no tecido hepático, contribuindo para o desenvolvimento da lipidose hepática (Theinert *et al.*, 2022). Os bloqueios metabólicos que causam o fígado gorduroso podem ocorrer na fase da (1) síntese de apolipoproteína, (2) reunião de lipídio e apolipoproteína em lipoproteína, (3) síntese de fosfolipídios (como deficiência de colina) e (4) mecanismo secretor. Quando o acúmulo lipídico hepático torna-se persistente, alterações estruturais e funcionais do fígado podem ocorrer, incluindo dano hepatocelular e desenvolvimento de processos fibróticos (Vogel *et al.*, 2024).

No capítulo II, avalia-se a associação entre beta-hidroxibutirato (BHBA), enzimas hepáticas e alterações histológicas do fígado em vacas no pós-parto, tem como objetivo avaliar o estado metabólico dos animais, visando identificar a presença ou ausência de cetose, partindo do pressuposto de que animais com baixos níveis de BHBA ainda podem desenvolver, de forma subclínica e progressiva, estágios iniciais de cetose. Para isso, foram selecionados parâmetros bioquímicos de relevância diagnóstica, entre os quais se destacam a aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), gama-glutamil transferase (GGT), fosfatase alcalina (ALP), triglicerídeos, colesterol, glicose e fibrinogênio. Esses parâmetros são amplamente utilizados para monitorar a função hepática, o metabolismo energético e o estado nutricional dos bovinos leiteiros, especialmente durante o período de transição, quando os animais estão mais suscetíveis a distúrbios metabólicos como a cetose (Bonato *et al.*, 2015).

A AST é uma enzima prototípica dependente de fosfato de piridoxal 5' (PLP), que catalisa a interconversão reversível entre L-aspartato e α -cetoglutarato em oxaloacetato e L-glutamato, por meio de um ciclo catalítico, no qual a forma piridoxamina 5'-fosfato que atua como intermediária (Toney, 2014). Evidências científicas indicam que a atividade sérica da AST tende a aumentar no período de transição, atingindo o pico em torno do segundo dia pós-parto em vacas primíparas e do décimo dia em vacas múltiparas (Walter *et al.*, 2022). Em ruminantes, a enzima é amplamente utilizada como marcador para detecção de lesões hepatocelulares, que podem estar relacionadas a

inflamação, toxinas bacterianas, exposição a substâncias químicas ou ainda a distúrbios metabólicos, como o acúmulo de lipídios nos hepatócitos, condição intimamente associada ao desenvolvimento da cetose (Allison *et al.*, 2012).

A ALT é uma enzima hepática que catalisa a conversão de alanina e α -cetoglutarato em piruvato e glutamato. Sendo que a enzima pode compor o painel bioquímico, porém em ruminantes sua interpretação isolada é limitada e dessa forma, deve ser analisada em conjunto com a AST e GGT, estas que tendem a ser mais utilizadas para lesão hepatocelular/colestase (Miles *et al.*, 2015). Já a GGT, por sua vez, está associada às membranas dos hepatócitos e do epitélio biliar, desempenhando papel importante no metabolismo e transporte de aminoácidos; desse modo, alterações em sua atividade sérica podem refletir distúrbios hepatobiliares e alterações metabólicas frequentemente observadas em vacas no período de transição (Schären *et al.*, 2021).

A atividade da fosfatase alcalina é utilizada como marcador bioquímico na avaliação da função hepatobiliar e de alterações metabólicas em bovinos, sendo que modificações em sua atividade sérica podem refletir distúrbios hepáticos observados durante o período de transição de vacas leiteiras (Schären *et al.*, 2021). Os níveis séricos de triglicerídeos e colesterol são analisados como indicadores do metabolismo lipídico em vacas leiteiras no período de transição, visto que alterações nesses metabólitos refletem intensa mobilização de reservas corporais e adaptações ao balanço energético negativo, frequentemente associadas à cetose e à lipidose hepática (Schäff *et al.*, 2012). Paralelamente, a glicose plasmática é considerada um dos principais indicadores do estado energético de vacas leiteiras no período de transição, e alterações em sua concentração podem refletir adaptações metabólicas relacionadas ao balanço energético negativo e à cetose (Vogel *et al.*, 2024). Por fim, o fibrinogênio foi selecionado por ser considerado uma importante proteína de fase aguda em bovinos, sendo utilizado na avaliação de processos inflamatórios sistêmicos e alterações metabólicas associadas ao período de transição em vacas leiteiras (Mann *et al.*, 2016).

1.2 PERFIL METABÓLICO

O período de transição para vacas leiteiras é uma fase crítica devido ao desafio metabólico causado pelo aumento repentino da demanda de energia, minerais e aminoácidos para manter o final da gestação e o início da lactação (Ling *et al.*, 2018; Horst; Kvidera; Baumgard, 2021). Além disso, observa-se a ocorrência de disfunções imunológicas que podem comprometer a saúde das vacas no período pós-parto, contribuindo para o aumento da suscetibilidade a doenças e impactando negativamente o desempenho produtivo (Hoffmann *et al.*, 2024). Os distúrbios metabólicos também podem interferir na saúde do neonato e na produção de leite, causando perdas econômicas para o produtor (Abuelo, 2020).

A alta incidência de problemas de saúde no início da lactação tem sido atribuída tanto ao processo de parto quanto à deficiência energética para sustentar o início de uma nova lactação (Collard *et al.*, 2000), e as doenças e distúrbios no início da lactação têm um efeito negativo na produção de leite, no balanço energético e no desempenho reprodutivo das vacas leiteiras (LeBlanc, 2010; Vergara *et al.*, 2014).

Nesse contexto, a avaliação do perfil metabólico dos animais configura-se como uma ferramenta indispensável para o monitoramento fisiológico e diagnóstico precoce de distúrbios metabólicos, especialmente em fases de alta demanda fisiológica, como o período de transição (Hoffmann *et al.*, 2024). Pesquisas anteriores buscaram estimar o estado metabólico por meio da análise de variáveis sanguíneas, enquanto outras abordagens utilizaram parâmetros do leite com o objetivo de prever tanto o estado metabólico quanto o balanço energético dos animais (Ma *et al.*, 2024).

1.3 PRODUÇÃO DE LEITE

O sucesso do período de transição determina, de forma efetiva, a rentabilidade da vaca durante a lactação. Limitações nutricionais ou de manejo nesse período podem impedir que a vaca atinja a produção máxima de leite. Todavia, as vacas leiteiras no período de transição enfrentam um aumento expressivo da demanda energética para sustentar o início da lactação, enquanto a ingestão de matéria seca frequentemente não acompanha essa exigência, favorecendo o estabelecimento do balanço energético negativo e de distúrbios metabólicos (Martens, 2023).

Durante o processo de hipoglicemia, a hipófise aumenta a produção dos hormônios, sendo o somatotrófico (STH) e adrenocorticotrófico (ACTH), responsáveis por aumentar a secreção de glicocorticoides pelo córtex adrenal. Todos estes hormônios atuam num “papel permissivo”, mas seu efeito global é a liberação contínua e alta de glicerol, ácidos graxos livres e aminoácidos dos tecidos periféricos. A ação dos glicocorticóides é um dos efeitos mais benéficos dos diversos hormônios, uma vez que são mobilizados mais aminoácidos como precursores para gliconeogênese (Bergman, 1996). As concentrações plasmáticas de glicocorticóides podem estar elevadas em vacas acometidas por cetose, influenciando o metabolismo energético e contribuindo para alterações na produção de leite durante a lactação (Rico; Barrientos-Blanco, 2024).

Uma pesquisa desenvolvida por Huang *et al.* (2024) indicou que vacas com cetose subclínica e clínica apresentaram redução na produção de leite de aproximadamente 2,65 kg/dia e 7,7 kg/dia, respectivamente, nas primeiras três semanas pós-parto. Esses achados estão de acordo com a literatura clássica sobre o metabolismo energético de ruminantes (Beitz, 1996). Além disso, houve aumento do teor de gordura e da relação gordura/proteína no leite, enquanto os teores de proteína, lactose, sólidos não-gordurosos e densidade do leite foram reduzidos.

Dessa forma, evidencia-se que a adaptação metabólica das vacas no período de transição é determinante para o sucesso da lactação subsequente. A ocorrência de distúrbios metabólicos como a cetose, resultante do desequilíbrio entre a oferta e a demanda energética, compromete não apenas a produção, mas também a qualidade do leite. O monitoramento do β -hidroxibutirato e a adoção de estratégias nutricionais e de manejo no período de transição são medidas importantes para reduzir a ocorrência de hipercetonemia e melhorar o desempenho produtivo e a saúde metabólica de vacas leiteiras (Leblanc, 2020).

1.3.1 Alterações Metabólicas e Produção

O rápido aumento da produção de leite com ingestão insuficiente de matéria seca leva a um balanço energético negativo (BEN) no período de transição, o que, por sua vez, pode resultar em distúrbios no metabolismo de carboidratos e lipídios, com impacto negativo na saúde e produtividade da vaca (Ahrens *et al.*, 2025). A cetose é um distúrbio metabólico comum em vacas leiteiras no período de transição, decorrente do balanço energético negativo, caracterizado pelo acúmulo de corpos cetônicos no organismo. Esta que pode vir a ser classificada como cetose primária, que ocorre devido ao balanço energético negativo no início da lactação, sem a presença de outras doenças, enquanto a cetose secundária é consequência de enfermidades clínicas que reduzem o consumo alimentar, como metrite, retenção de placenta ou deslocamento de abomaso (Andersson, 1988; Duffield *et al.*, 2009).

Esta doença metabólica se manifesta de forma clínica ou subclínica, sendo que a cetose clínica e a subclínica diferem principalmente na presença de sinais clínicos e nos níveis de corpos cetônicos circulantes, com impactos distintos na produção e na saúde das vacas leiteiras (Kang *et al.*, 2023). Na forma clínica, observam-se sinais como anorexia, letargia, redução do consumo de matéria seca, queda na produção de leite e perda de condição corporal, podendo ocorrer alterações comportamentais e, em casos mais severos, manifestações neurológicas associadas à hipercetonemia e ao comprometimento metabólico sistêmico (Futia *et al.*, 2023). Já a cetose subclínica é caracterizada pela ausência de sinais visíveis, apesar de concentrações elevadas de β -hidroxibutirato (BHBA), geralmente entre 1,2 e 3,0 mmol/L (Ospina *et al.*, 2010). Ainda que silenciosa, a subclínica compromete o desempenho produtivo e reprodutivo, além de aumentar a predisposição a doenças secundárias como metrite, deslocamento de abomaso e mastite, devido ao comprometimento do consumo de matéria seca e à imunossupressão associada à hipercetonemia no período de transição (De Jong *et al.*, 2023).

O quadro clínico de cetose, de forma geral, predispõe ao aumento do risco de descarte/abate no início da lactação levando à piora da saúde do rebanho e a perdas financeiras para as fazendas leiteiras (McLaren *et al.*, 2006). O diagnóstico de cetose subclínica depende da

quantificação de corpos cetônicos no sangue, leite ou urina, enquanto a cetose clínica pode ser identificada com base nos sintomas e confirmada por testes laboratoriais (Serrenho *et al.*, 2022). Estudos indicam que vacas com cetose subclínica apresentam redução da produção de leite já nos primeiros dias de lactação, mesmo na ausência de sinais clínicos evidentes, e maiores taxas de descarte involuntário (Raboisson; Mounié; Hurtaud., 2014). A identificação de fatores de risco e a implementação de estratégias de manejo no período de transição são fundamentais para reduzir a ocorrência de doenças metabólicas e melhorar a saúde do rebanho leiteiro (Schären-Bannert *et al.*, 2025).

Em estudo com vacas leiteiras entre 3 e 9 dias pós-parto, Hubner *et al.* (2022) avaliaram os efeitos da cetose (β -hidroxibutirato $\geq 1,2$ mmol/L), hipoglicemia (glicose $\leq 2,2$ mmol/L) e a coexistência dos fatores cetose e hipoglicemia sobre o perfil metabólico, a saúde, a produção de leite e os desfechos reprodutivos. A cetose em vacas multíparas foi associada a maior frequência de distúrbios metabólicos (hipomagnesemia, hipocalcemia, elevação de AGNE e ureia) e eventos adversos, como descarte, retenção de placenta, metrite, cetose clínica e deslocamento do abomaso à esquerda. Por outro lado, vacas com hipoglicemia isolada apresentaram perfil metabólico semelhante ao das vacas normais e menor incidência de algumas doenças metabólicas, além de maior produção de leite em vacas multíparas. A presença simultânea de cetose e hipoglicemia aumentou a ocorrência de cetose clínica, porém com menor impacto metabólico comparado à cetose primária.

A ausência de aumento na atividade pós-parto pode servir como um indicador de alerta precoce para vacas em risco de doença, permitindo a identificação antecipada de distúrbios metabólicos e infecciosos no período de transição (Giordano *et al.*, 2020). Recentemente, em uma pesquisa realizada, foi observado que no pós-parto, vacas saudáveis apresentaram maior atividade locomotora em comparação às com cetose subclínica e as clinicamente doentes ($P < 0,05$), e apenas vacas saudáveis e sem cetose subclínica mostraram aumento significativo de atividade do pré-parto para o pós-parto ($P < 0,0001$), indicando que a ausência desse aumento pode estar associada à presença de distúrbios, sugerindo que a atividade locomotora pode ser um indicador precoce de risco para cetose subclínica e doenças clínicas (Ahrens *et al.*, 2025).

A detecção precoce de doenças, idealmente antes do aparecimento de sintomas clínicos mais graves, permite uma intervenção mais precoce, melhora a resposta ao tratamento e mitiga as consequências a longo prazo em termos de saúde e desempenho animal (Cascone *et al.*, 2022). A implementação de estratégias baseadas em dados fisiológicos e comportamentais é fundamental para melhorar o diagnóstico precoce e a tomada de decisão no manejo de vacas no período de transição. Sistemas de monitoramento contínuo, que combinam sensores de atividade com parâmetros metabólicos, têm se mostrado promissores na identificação de animais em risco antes

do aparecimento de sinais clínicos evidentes. Essa abordagem multidimensional permite intervenções mais assertivas, contribuindo para a redução da incidência de doenças, melhora da performance zootécnica e aumento da sustentabilidade dos sistemas de produção leiteira (Rutten *et al.*, 2013).

1.3.2 Índice de Escore de Condição Corporal

O índice de Escore de Condição Corporal (ECC) é um importante método empregado em vacas leiteiras para avaliar a quantidade de tecido sob a pele. Trata-se de uma prática subjetiva a fim de estimar a quantidade de energia metabolizável armazenada em gordura e músculo (reservas corporais) em um animal vivo. Esses sistemas, portanto, exigem que os animais estejam contidos durante a realização da pontuação (Edmonson *et al.*, 1989). Além disso, é importante considerar que os momentos críticos para monitorar a pontuação da condição corporal do rebanho são 30 dias antes da cobertura, 90 dias após a cobertura, ao desmame, 100 dias antes do parto e no parto (Lowman; Scott; Somerville, 1976).

O método pode ser aplicado em várias fases da vida reprodutiva do animal, mas principalmente durante a lactação. A alta produtividade no início do período pós-parto leva à mobilização de reservas corporais, principalmente gordura e, em menor grau, proteína, para atender às demandas energéticas da produção de leite, podendo ocorrer perda significativa de peso corporal no início da lactação sem prejuízos imediatos à saúde (Butler, 2020). O escore de condição corporal (ECC) é um indicador amplamente utilizado do estado energético em vacas leiteiras, sendo associado ao risco de doenças no período de transição e refletindo o equilíbrio entre ingestão e demanda energética no início da lactação, com impacto direto sobre a saúde e o desempenho produtivo do rebanho (Rearte *et al.*, 2023).

Alguns autores propuseram diferentes escalas de escore de condição corporal, sendo a escala de 1 a 9 utilizada para gado de corte (Erb *et al.*, 1985) e a escala de 1 a 5 adotada para gado leiteiro (Ruegg *et al.*, 1992). Idealmente, nenhuma vaca do rebanho deve apresentar escore de condição corporal (ECC) inferior a 2,0 pontos, uma vez que valores baixos estão associados a maior risco de doenças metabólicas, pior desempenho produtivo e comprometimento da reprodução (Rearte *et al.*, 2023; Roche *et al.*, 2009). Uma pontuação de condição corporal de 3,0 a 3,5 indica a condição ideal para vacas em lactação (Wu *et al.*, 2020). Se uma vaca tiver pontuação acima de 4,0, ela é considerada acima do peso ideal (Sordillo; Raphael, 2021). Se tiver pontuação de 5,0, ela é considerada uma vaca obesa, com alto risco de muitos problemas metabólicos, diminuição da fertilidade e maior propensão a parar de se alimentar no momento do parto (Lean *et al.*, 2021).

O ECC excessivo antes do parto tem sido reconhecido como um fator de risco frequentemente associado a problemas de saúde e distúrbios metabólicos, como retenção de placenta, metrite, cetose, deslocamento de abomaso e ovários císticos (Vanholder *et al.*, 2015). Diante desses fatos, o manejo nutricional adequado, com manutenção de vacas em boa condição corporal, seguido de suplementação estratégica de nutrientes no período de transição, é essencial para otimizar o desempenho produtivo e reprodutivo, reduzindo a ocorrência de distúrbios metabólicos no pós-parto (Cardoso *et al.*, 2020). A pontuação de condição corporal constitui uma ferramenta eficiente no manejo de vacas leiteiras, permitindo a avaliação do estado energético dos animais e auxiliando na tomada de decisão nutricional e reprodutiva ao longo das diferentes fases produtivas, com impacto direto sobre a fertilidade e o desempenho do rebanho (Dezetter *et al.*, 2024).

1.3.3 Corpos Cetônicos

Durante o início da lactação, a ingestão de nutrientes pelas vacas leiteiras frequentemente é insuficiente para atender às elevadas exigências metabólicas impostas pela produção de leite, resultando em um estado de balanço energético negativo (Mekuriaw *et al.*, 2023). Como resposta adaptativa, ocorre a mobilização intensiva do tecido adiposo, promovendo a liberação de ácidos graxos não esterificados (AGNE) na circulação (Gross *et al.*, 2022). O fígado atua como o principal sítio para a oxidação desses AGNE, porém, quando a capacidade oxidativa hepática é excedida ou quando há limitação de intermediários do ciclo do ácido tricarboxílico (TCA), a oxidação incompleta dos ácidos graxos culmina na produção aumentada de corpos cetônicos, especialmente o β -hidroxibutirato (BHB), além do acetoacetato e da acetona (Drackley, 2020). O acúmulo de corpos cetônicos no sangue, decorrente de produção excessiva ou baixa utilização periférica, resulta em elevações nas concentrações circulantes de cetonas, sendo que a cetose em vacas leiteiras é primariamente diagnosticada com base na concentração de corpos cetônicos no sangue, leite ou urina (Duffield *et al.*, 2020).

Os carboidratos da dieta (incluindo a celulose) são fermentados no rúmen em AGV (ácidos acético, butírico e propiônico) e somente pequena quantidade de glicose é absorvida (Nielsen *et al.*, 2023). Para fornecer glicose, precisa ser formada (gliconeogênese) a partir de fontes de não hexose (não açúcares) (Beckett *et al.*, 2025). Em ruminantes cerca de 85% da glicose se formam no fígado através da gliconeogênese. As principais fontes de não hexose são propionato (AGV), glicerol, lactato e proteína (Pang *et al.*, 2023). O oxaloacetato origina-se de compostos de três carbonos (3-C) como propionato e piruvato ou de outros intermediários no ciclo, quando não existem compostos suficientes de 3-C para a formação do oxaloacetato, ou se a produção de acetil

CoA for excessiva (por exemplo, oxidação excessiva de gordura para formação de glicose ou energia), o acetil CoA se acumula como acetoacetil CoA (Zhang *et al.*, 2024), o qual é subsequentemente degradado em acetoacetato, β -hidroxibutirato e acetona, conhecidos como corpos cetônicos (Reece, 2008).

Em ruminantes normais, a concentração sanguínea de corpos cetônicos é de apenas 2 a 4 mmol/L (White, 2015). Durante hipoglicemia e mobilização aumentada de gordura, entretanto, a concentração de β -hidroxibutirato aumenta, sendo o corpo cetônico em maior concentração no sangue do animal (Klein *et al.*, 2020). Os valores de referência apresentados por Bergman (1996), indicam que um animal normal/saudável pode apresentar de 0 a 1,2 mmol/L de corpos cetônicos, um animal com cetose subclínica, 1,2 a 5,0 mmol/L e animais com cetose clínica, acima de 5,0 mmol/L.

Em sua maioria, as vacas leiteiras em sistemas de pastejo com parição sazonal apresentam algum grau de balanço energético negativo no início da lactação, o que leva à mobilização de reservas corporais e consequente aumento na produção de corpos cetônicos, especialmente o β -hidroxibutirato (BHB) (McArt *et al.*, 2021). Em um estudo desenvolvido por Hendriks *et al.* (2025) envolvendo três rebanhos, 76% das vacas foram diagnosticadas com cetose subclínica ou cetose clínica ao menos uma vez nos primeiros 35 dias de lactação. A incidência cumulativa de cetose subclínica foi de 64% nos primeiros 14 dias, variando entre os rebanhos (40% a 76%), e a de cetose clínica foi de 11% em 35 dias. O pico de incidência também variou entre os rebanhos, ocorrendo majoritariamente entre o 3º e o 7º dia pós-parto. A média do tempo de resolução da cetose foi de 3,3 dias, sendo que vacas com concentrações iniciais de BHB entre 1,2 e <2,0 mmol/L tiveram 43% mais chances de resolver o quadro em até 35 dias, quando comparadas às vacas com níveis entre 2,0 e 2,9 mmol/L. Além disso, vacas que testaram positivo para cetose subclínica após o 4º dia em lactação tiveram 62% mais chances de resolução do que aquelas que testaram positivo antes desse período.

Devido à alta incidência de cetose, os testes na fazenda são importantes para o monitoramento e tratamento desta doença. Recentemente, a maioria dos testes na fazenda tem sido realizada com o uso de medidores portáteis de cetonas no sangue originalmente desenvolvido para uso humano. Em estudo desenvolvido por Bach, Heuwieser e McArt (2016) foi avaliado a precisão de quatro medidores portáteis de β -hidroxibutirato (BHB) no diagnóstico de cetose em vacas leiteiras. Todos os dispositivos apresentaram alta correlação com o método laboratorial de referência ($r > 0,95$).

REFERÊNCIAS

ABUELO, A. Symposium review: late-gestation maternal factors affecting the health and development of dairy calves. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 4, p. 3882-3893, 2020.

AHRENS, C. *et al.* Early detection of subclinical ketosis and clinical diseases in dairy cows using peripartum motion activity. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 242, e106574, 2025.

ALLISON, W. R. Laboratory Evaluation of the Liver. In: THRALL, M. *et al.* (Eds.). **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. 2. ed. Boca Raton: Wiley-Blackwell, 2012.

ANDERSSON, L. Subclinical ketosis in dairy cows. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 4, n. 2, p. 233-251, 1988.

BACH, K. D.; HEUWIESER, W.; McART, J. A. A. Technical note: Comparison of 4 electronic handheld meters for diagnosing hyperketonemia in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 11, p. 9136-9142, 2016.

BECKETT, L. M. *et al.* Invited review: Fueling milk production carbon by carbon: regulation of hepatic glucose production in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, 2025.

BEITZ, D. C. Capítulo 25 - Metabolismo Lipídico. In: SWENSON, M. J.; REECE, W. O. **Dukes - Fisiologia dos Animais Domésticos**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p. 412-429.

BONATO, D. V. *et al.* Cetose em vacas leiteiras de alta produção. **Investigação de Medicina Veterinária**, v. 14, n. 6, p. 96-101, 2015.

BUTLER, S. T. Review: Nutritional management to optimize reproductive performance in dairy cows. **Animal**, v. 14, supl. 1, p. s153-s163, 2020.

CASCONE, G. *et al.* Subclinical ketosis in dairy herds: impact of early diagnosis and treatment. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 9, e895468, 2022.

CHOWDHURY, G. *et al.* The contribution of ketone bodies to basal and activity-dependent neuronal oxidation in vivo. **Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism**, v. 34, n. 7, p. 1233-1242, 2014.

COLLARD, B. *et al.* Relationships between energy balance and health traits of dairy cattle in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 2683-2690, 2000.

DE JONG, E. *et al.* Milk β -hydroxybutyrate metrics and hyperketonemia surveillance in dairy cows. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 10, 2023.

DEZETTER, C. *et al.* Association between body condition profiles, milk production, and reproduction performance in Holstein and Normande cows. **Journal of Dairy Science**, v. 107, p. 11621-11638, 2024.

DRACKLEY, J. K. Physiological adaptations and lipid metabolism in transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 103, p. 1-15, 2020.

DUFFIELD, T. F. *et al.* Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 2, p. 571-580, 2009.

DUFFIELD, T. F. *et al.* Update on subclinical ketosis in dairy cows: diagnosis and implications for health and production. **Journal of Dairy Science**, v. 103, 2020.

EDMONSON, A. J. *et al.* A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 1, p. 68-78, 1989.

FUTIA, Y. A. *et al.* Clinical ketosis in dairy cows: case reports. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 22, n. 4, p. 713-719, 2023.

GIORDANO, J. O. *et al.* Associations between activity monitoring, health disorders, and performance in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, 2020.

GROSS, J. J. *et al.* Lipid mobilization and metabolic adaptation in dairy cows during the transition period. **Journal of Dairy Science**, v. 105, p. 1-18, 2022.

HAUSMANN, A. *et al.* Effects of a combination of plant bioactive lipid compounds and biotin compared with monensin on body condition, energy metabolism and milk performance in transition dairy cows. **PLOS ONE**, v. 13, n. 3, e0193685, 2018.

HENDRIKS, S. J. *et al.* Investigating the epidemiology of hyperketonemia in grazing dairy cows in early lactation: Incidence, prevalence, and time to resolution of hyperketonemia. **Journal of Dairy Science**, v. 108, p. 5257-5270, 2025.

HOFFMANN, D. A. C. *et al.* Metabolic profile of prepartum dairy cows and its influence on the immediate postpartum period, colostrum quality and passive immunity transference. **The Veterinary Journal**, v. 308, 2024.

HORST, E.; KVIDERA, S.; BAUMGARD, L. Invited review: The influence of immune activation on transition cow health and performance-A critical evaluation of traditional dogmas. **Journal of Dairy Science**, v. 104, p. 8380-8410, 2021.

HUANG, Y. *et al.* Plasma and milk metabolomics profiles in dairy cows with subclinical and clinical ketosis. **Journal of Dairy Science**, v. 107, n. 8, p. 6340-6357, 2024.

HUBNER, A. *et al.* Characterization of metabolic profile, health, milk production, and reproductive outcomes of dairy cows diagnosed with concurrent hyperketonemia and hypoglycemia. **Journal of Dairy Science**, v. 105, n. 11, p. 9054-9069, 2022.

JAIN, S. K.; McVIE, R.; BOCCHINI, J. A. Hyperketonemia (ketosis), oxidative stress and type 1 diabetes. **Pathophysiology**, v. 13, n. 3, p. 163-170, 2006.

KANG, D. *et al.* Animal health and nutrition: metabolic disorders in cattle and improvement strategies. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 12, 2023.

KLEIN, S. L. *et al.* Genetic and nongenetic profiling of milk β -hydroxybutyrate and acetone and their associations with ketosis in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 11, p. 10332-10346, 2020.

LEAN, I. J. *et al.* Invited review: Effects of nutrition and body condition on dairy cow health and productivity. **Journal of Dairy Science**, v. 104, p. 1-25, 2021.

LEBLANC, S. J. Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. **Journal of Reproduction and Development**, v. 56, suppl. S29-S35, 2010.

LEBLANC, S. J. Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 9, p. 8274-8293, 2020.

LEROY, J. L. *et al.* Nutrient prioritization in dairy cows early postpartum: mismatch between metabolism and fertility?. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 43, suppl. 2, p. 96-103, 2008.

LING, T. *et al.* Maternal late-gestation metabolic stress is associated with changes in immune and metabolic responses of dairy calves. **Journal of Dairy Science**, v. 101, p. 6568-6580, 2018.

LOWMAN, B. G. N.; SCOTT, N. A.; SOMERVILLE, S. H. **Condition scoring of cattle**. Edinburgh: The Edinburgh School of Agriculture, 1976.

MA, J. *et al.* Time profiles of energy balance in dairy cows in association with metabolic status, inflammatory status, and disease. **Journal of Dairy Science**, v. 107, p. 9960-9977, 2024.

MANN, S. *et al.* The use of blood metabolite and inflammatory markers to predict transition cow diseases. **PLOS ONE**, v. 11, n. 4, 2016.

MARTENS, H. Increasing milk yield and negative energy balance: a Gordian knot for dairy cows?. **Animals**, v. 13, n. 19, 2023.

McART, J. A. A. *et al.* Monitoring and prevention of hyperketonemia in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 104, p. 1-18, 2021.

McLAREN, C. J. *et al.* The relationship between herd level disease incidence and a return over feed index in Ontario dairy herds. **Canadian Veterinary Journal**, v. 47, p. 767-773, 2006.

MEKURIAW, Y. *et al.* Negative energy balance and its implication on productive and reproductive performance of early lactating dairy cows: review paper. **Journal of Applied Animal Research**, v. 51, n. 1, p. 220-228, 2023.

MILES, E. D. *et al.* Glutamine synthetase and alanine transaminase expression are decreased in livers of aged vs. young beef cows and GS can be upregulated by 17 β -estradiol implants. **Journal of Animal Science**, v. 93, n. 9, p. 4500-4509, 2015.

NIELSEN, N. I. *et al.* Rumen fermentation patterns and nutrient absorption in dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 302, p. 115-128, 2023.

OSPINA, P. A. *et al.* Evaluation of nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeastern United States: Critical thresholds for prediction of clinical diseases. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 2, p. 546-554, 2010.

PANG, R. *et al.* The molecular mechanism of propionate-regulating gluconeogenesis in bovine hepatocytes. **Animal Bioscience**, v. 36, n. 11, p. 1693-1699, 2023.

RABOISSON, D.; MOUNIÉ, M.; HURTAUD, C. Effect of the level of subclinical ketosis on milk production and fertility in dairy cows: a meta-analysis. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 12, p. 7547-7555, 2014.

REARTE, R. *et al.* Monitoring of body condition in dairy cows to assess disease risk at the individual and herd level. **Animals**, v. 13, n. 19, e3114, 2023.

RICO, J. E.; BARRIENTOS-BLANCO, M. A. Invited review: Ketone biology-The shifting paradigm of ketones and ketosis in the dairy cow. **Journal of Dairy Science**, v. 107, n. 6, p. 3367-3388, 2024.

ROCHE, J. R. *et al.* Influence of body condition score on reproductive and metabolic responses in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 2, p. 576-585, 2009.

SCHÄFF, C. T. *et al.* Effects of feeding high energy diets prepartum on lactational performance, blood metabolites, and hepatic metabolism in transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 12, p. 7312-7329, 2012.

SCHÄREN, M. *et al.* Aspects of transition cow metabolomics-Part II: Histomorphologic changes in the liver parenchyma throughout the transition period, in cows with different liver metabotypes and effects of a metaphylactic butaphosphan and cyanocobalamin treatment. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 8, p. 9227-9244, 2021.

SCHÄREN-BANNERT, M. *et al.* Metabolic disorders in transition dairy cows in a 500-cow herd-analysis, prevention and follow-up. **Dairy**, v. 6, n. 5, p. 49, 2025.

SEJERSEN, H. *et al.* Liver protein expression in dairy cows with high liver triglycerides in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 2409-2421, 2012.

SHI, X. *et al.* NEFAs activate the oxidative stress-mediated NF- κ B signaling pathway to induce inflammatory response in calf hepatocytes. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 145, p. 103-112, 2015.

SORDILLO, L. M.; RAPHAEL, W. Significance of metabolic stress, lipid mobilization, and inflammation on transition cow health. **Annual Review of Animal Biosciences**, v. 9, p. 253-279, 2021.

THEINERT, K. B. *et al.* Qualitative and quantitative changes in total lipid concentration and lipid fractions in liver tissue of periparturient German Holstein dairy cows of two age groups. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 9, 2022.

TONEY, M. D. Aspartate aminotransferase: an old dog teaches new tricks. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 544, p. 119-127, 2014.

VANHOLDER, T. *et al.* Risk factors for metabolic and reproductive disorders in high-yielding dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 98, 2015.

VERGARA, C. F. *et al.* Risk factors for postpartum problems in dairy cows: explanatory and predictive modeling. **Journal of Dairy Science**, v. 97, p. 4127-4140, 2014.

VOGEL, L. *et al.* A potential gateway to understanding liver disease development: peripartum lipid fluctuations in dairy cows. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 12, 2024.

WALTER, L. L. *et al.* Effects of parity and stage of lactation on trend and variability of metabolic markers in dairy cows. **Animals**, v. 12, n. 1008, p. 1-18, 2022.

WALTNER, S. S.; McNAMARA, J. P.; HILLERS, J. K. Relationships of body condition score to production variables in high producing Holstein dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 3410-3419, 1993.

WHITE, H. M. The role of TCA cycle anaplerosis in ketosis and fatty liver in periparturient dairy cows. **Animals**, v. 5, n. 3, p. 793-802, 2015.

WU, J. *et al.* Effects of body condition on the insulin resistance, lipid metabolism and oxidative stress of lactating dairy cows. **Lipids in Health and Disease**, v. 19, p. 56, 2020.

ZHANG, Y. *et al.* Current understanding of bovine ketosis: from molecular basis to farm-level management. **Animals**, v. 15, n. 24, e3644, 2024.

ZHU, Y. *et al.* Low abundance of insulin-induced gene 1 contributes to SREBP-1c processing and hepatic steatosis in dairy cows with severe fatty liver. **Journal of Dairy Science**, v. 106, p. 5626-5635, 2023.

2 RELAÇÃO ENTRE PERFIL HEPÁTICO METABÓLICO, HISTOLOGIA HEPÁTICA E PRODUÇÃO LEITEIRA

2.1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de leite, com mais de 34 bilhões de litros por ano, com produção em 98% dos municípios brasileiros, tendo a predominância de pequenas e médias propriedades, empregando perto de 4 milhões de pessoas. Atualmente o país conta com mais de 1 milhão de propriedades produtoras de leite (Brasil, 2024). Segundo a Secretaria da Agricultura e do Abastecimento do Paraná, em 2023, foram cerca de 3.626.378 bilhões de litros repassados para os laticínios. O ranking nacional, segue liderado por Minas Gerais com 23,8% da captação nacional, seguido por Paraná (14,8%) e Rio Grande do Sul (13,1%). Além disso, há anos, a cidade de Castro se consagrou como a bacia leiteira do país (Castanho, 2021), este fato se deve ao investimento em tecnologia promovido na região.

Os bovinos de leite passam por diversas fases durante a lactação, e o período pós-parto é um dos mais críticos da produção, onde o animal está iniciando a curva de lactação e atingirá o pico de produção (Serrenho, *et al.*, 2022). Vacas leiteiras no início da lactação, requerem níveis elevados de energia para a produção de leite, este fator combinado com uma ingestão relativamente baixa de energia podem resultar em um balanço energético negativo (BEN) (Xu, *et al.*, 2020). A literatura descreve as doenças pós-parto em vacas leiteiras como parte de um complexo de doenças multifatorial, com uma gama diversificada de bem-estar animal e manejo desempenhando um papel central como fatores de risco (Schären-Bannert *et al.*, 2025).

O metabolismo da gliconeogênese é fundamental para a sobrevivência e produtividade de bovinos leiteiros, pois esses animais absorvem quantidades mínimas de glicose diretamente do trato digestivo (Aschenbach *et al.*, 2010). Ao contrário de não ruminantes, os carboidratos da dieta das vacas são convertidos em ácidos graxos voláteis (AGVs) através da fermentação realizada pelos microrganismos do rúmen (Pang *et al.*, 2023). Devido a esse processo, o animal depende da síntese hepática para produzir cerca de 80% a 90% de toda a glicose necessária para suas funções metabólicas (Aschenbach *et al.*, 2010).

A intensa mobilização de triglicerídeos e ácidos graxos durante o balanço energético negativo aumenta a liberação de ácidos graxos não esterificados (AGNE) para a circulação. Quando a captação hepática excede a capacidade de oxidação e exportação do fígado, ocorre aumento da cetogênese e acúmulo de metabólitos associados à cetose e à disfunção metabólica (Zhang *et al.*, 2024). A oxidação de ácidos graxos em mitocôndrias hepáticas dá-se por duas vias, os ácidos graxos são oxidados de maneira incompleta em acetil-CoA, esta molécula se desvia da oxidação em CO² no fígado por formação de corpos cetônicos (acetoacetato, β -hidroxibutirato e

acetona), que são oxidados em CO_2 em tecidos periféricos. A concentração de corpos cetônicos no plasma sanguíneo normalmente baixo, mas pode elevar-se de modo acentuado, quando as taxas de cetogênese excedem as taxas de oxidação de corpos cetônicos por tecidos periféricos (Beitz, 1996). Com o avanço da tecnologia, novos dispositivos móveis para medição de corpos cetônicos têm sido desenvolvidos, oferecendo eficácia, rapidez, e baixo custo para detecção da doença.

A cetose em geral acomete vacas no período de seis semanas após o parto. A taxa de mortalidade é baixa, mas como a cetose acarreta perda acentuada na produção de leite e no peso corpóreo, isto resulta num grande prejuízo econômico para o produtor de leite. A cetose bovina é classificada em cetose primária e secundária (Bergman, 1996). No pós-parto, quando o metabolismo lipídico pode ficar desregulado (isto é, intenso e prolongado), a lipólise sobrecarrega rapidamente a capacidade do fígado de processar os ácidos graxos livres (AG) que libera, resultando em maior síntese de corpos cetônicos e desenvolvimento de cetose primária (Chirivi, 2024). A cetose clínica primária é caracterizada por apetite reduzido, queda na produção de leite e letargia, associadas a aumento de β -hidroxibutirato (BHB) plasmático (geralmente $>3,0 \text{ mmol/L}$) e, em alguns casos, hipoglicemia ($<2,0 \text{ mmol de glicose/L}$) (Duffield, 2000; Dervishin *et al.*, 2021). Em relação a cetose secundária, esta pode ser induzida ou agravada por apetite deficiente resultante de qualquer uma série de condições patológicas como metrite, distúrbios gastrointestinais, mastite e nefrite (Bergman, 1996).

O fígado desempenha papel central na coordenação do metabolismo energético durante o período de transição, regulando o fluxo de nutrientes necessários para atender às elevadas demandas da gestação e, principalmente, do início da lactação. Nesse período, o balanço energético negativo intensifica a mobilização de ácidos graxos não esterificados para o fígado, favorecendo tanto a produção de corpos cetônicos quanto o acúmulo de lipídios nos hepatócitos. Assim, a cetose e a lipidose hepática compartilham mecanismos fisiopatológicos comuns e frequentemente coexistem, sendo a hipercetonemia uma manifestação das alterações metabólicas associadas ao comprometimento do metabolismo hepático, ao mesmo tempo em que sua persistência pode agravar a disfunção do órgão (Panousis; Karatzias, 2018). Estima-se que, nas quatro primeiras semanas após o parto, mais de 50% das vacas leiteiras de alta produção apresentem lipidose hepática leve a moderada, enquanto aproximadamente 5 a 10% desenvolvem formas graves da enfermidade (Bobe *et al.*, 2004). A lipidose hepática está associada à redução da produção de leite, diminuição da eficiência reprodutiva, aumento do risco de descarte e maior suscetibilidade a processos infecciosos e inflamatórios, comprometendo o desempenho produtivo e a saúde dos animais (Melendez; Pinedo, 2024).

Diante da estreita relação entre o metabolismo energético, a formação de corpos cetônicos e as alterações hepáticas durante o período de transição, torna-se relevante investigar se variações

nas concentrações de β -hidroxibutirato (BHBA), mesmo abaixo do limiar convencional para hipercetonemia subclínica, estão associadas a alterações na saúde hepática. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo geral avaliar a associação entre diferentes concentrações séricas de β -hidroxibutirato (BHBA), dentro de uma faixa inferior ao limiar clássico para diagnóstico de hipercetonemia subclínica, e indicadores bioquímicos e histológicos da saúde hepática em vacas leiteiras de alta produção durante o período de transição. Para isso, foram estabelecidos como objetivos específicos avaliar a associação entre as concentrações de BHBA e a ocorrência e intensidade de vacuolização hepatocelular; investigar sua relação com parâmetros bioquímicos hepáticos e metabólicos, incluindo AST, ALT, GGT, FA, glicemia, triglicerídeos e colesterol; verificar sua associação com características individuais dos animais, como escore de condição corporal, idade e produção de leite; e avaliar a relação entre as concentrações de BHBA e os marcadores inflamatórios fibrinogênio e haptoglobina.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi desenvolvido no CTP – Centro de Treinamento de Pecuaristas, localizado nas proximidades da Colônia Castrolanda, no município de Castro, Paraná. A região de Castro é caracterizada pelo clima Cfb, temperatura média anual de 17,8 °C, “latitude aproximada 24°47’27”S, longitude 50°00’01”W”, e altitude de 988 metros em relação ao nível do mar (IAT, 2016). O CTP é considerado referência regional, possuindo parceria com o SENAR (Serviço Nacional de Aprendizagem Rural) e oferecendo cursos de Manejo de Bovino Leiteiro, Eletricidade Rural e Inseminação Artificial de forma gratuita a alunos e produtores (Sistema FAEP, 2024). O rebanho era composto por 820 vacas da raça Holandesa, mantidas em sistema Free Stall, das quais 395 estavam em lactação, com produção média diária de 12.900 litros de leite, destinada à Cooperativa Castrolanda.

Foram incluídas no estudo 47 vacas Holandesas pluríparas, selecionadas aleatoriamente entre 10 e 20 dias pós-parto, independentemente da presença de sinais clínicos de cetose. A amostra correspondeu a mais de 10% das vacas em lactação do rebanho, cuja produção média era de aproximadamente 34 litros de leite por animal ao dia. O experimento foi conduzido ao longo de seis meses, com coletas realizadas em cinco momentos (19/08/2025, 30/08/2025, 23/09/2025, 02/12/2025 e 07/02/2026). Os animais foram submetidos à avaliação ultrassonográfica, biópsia hepática, análise histológica e determinação dos parâmetros bioquímicos propostos. O delineamento experimental consistiu na estratificação dos animais em dois grupos, de acordo com a concentração sérica de β -hidroxibutirato (BHBA) aferida com auxílio do cetosímetro portátil no momento da coleta: Grupo A (n = 23), com BHBA $\geq$ 0,6 mmol/L, e Grupo B (n = 24), com BHBA

< 0,6 mmol/L. A estratificação em 0,6 mmol/L foi adotada por corresponder à média de concentração de BHBA observada na população avaliada. Embora esse valor esteja abaixo do limite convencionalmente utilizado para a classificação de cetose subclínica, sua utilização foi considerada pertinente ao objetivo do estudo, que buscou avaliar a ocorrência e o grau de vacuolização hepatocelular mesmo em concentrações de BHBA inferiores ao limiar diagnóstico de cetose subclínica.

Os índices avaliados englobam os parâmetros relacionados ao ECC, idade, peso, idade ao primeiro parto, intervalo entre partos, necessidade de auxílio no parto, histórico de doenças, intervalo entre parto e concepção, produção diária de leite, dias em leite, produção do rebanho, relação gordura:proteína do rebanho e bioquímica sérica, com a aferição das concentrações de enzimas hepáticas, como AST, ALT, GGT, FA, triglicerídeos, colesterol, glicose e fibrinogênio. Além disso, a propriedade dispõe de um programa de monitoramento zootécnico que registra rotineiramente informações relativas ao peso ao nascer, idade ao primeiro parto, histórico reprodutivo, incidência de doenças, entre outros parâmetros de interesse produtivo e sanitário. Esses dados foram disponibilizados à equipe de pesquisa para utilização no presente trabalho, considerando o valor agregado que podem oferecer às análises.

Para o experimento foram coletadas exclusivamente amostras de sangue e fígado. Essas amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental, localizado no Bloco M e coordenado pelo Prof. Dr. Leandro Cavalcante Lipinski, na Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG). As amostras de sangue foram processadas para determinação do fibrinogênio e das atividades séricas das enzimas hepáticas, enquanto as amostras de fígado foram dispostas em lâminas, coradas, observadas em microscópio e submetidas à avaliação da presença ou ausência de gordura nos hepatócitos.

2.2.1 Análises sanguíneas

Para a coleta de sangue, os animais foram devidamente contidos em brete e identificados quanto ao número do brinco, momento em que também foi registrado o ECC, conforme a metodologia proposta por Edmonson *et al.* (1989) específica para vacas holandesas. Atribuíram-se incrementos de 0,25 unidade ao índice, a fim de representar variações graduais no estado corporal dos animais. Os tubos destinados às amostras foram previamente identificados, um contendo EDTA (para obtenção de plasma) e três sem o anticoagulante (para obtenção de soro), e a coleta foi realizada por venopunção da veia jugular. Imediatamente após a obtenção do sangue, procedeu-se à mensuração dos corpos cetônicos (BHBA) por meio de cetosímetro portátil (FreeStyle Optium Neo®, Abbott). A glicemia, por sua vez, foi avaliada com auxílio de

glicosímetro digital (Accu-Chek Active®, Roche). Os dados foram registrados em planilha específica. Após as amostras foram acondicionadas em caixas de isopor com gelo, garantindo a preservação até o processamento laboratorial.

No laboratório, as amostras coletadas sem anticoagulante foram processadas/centrifugadas por 10 minutos (3.000 rpm), para a obtenção do soro, o qual foi posteriormente aliquotado em microtubos do tipo Eppendorf devidamente identificados e armazenados em freezer a -20°C até o momento da análise. As amostras obtidas com EDTA foram utilizadas para separação do plasma e após a determinação da concentração de fibrinogênio, seguindo metodologia descrita por Lassen (2006). Após a separação, o plasma também foi aliquotado em microtubos Eppendorf identificados e armazenado em freezer a -20°C , assegurando a rastreabilidade e a preservação adequada até a realização das análises laboratoriais.

Para a determinação das enzimas plasmáticas, AST, ALT, GGT e FA foram utilizados kits comerciais da marca Labtest Diagnóstica, seguindo-se rigorosamente as recomendações do fabricante. As leituras das amostras foram realizadas em espectrofotômetro. Além disso, foram realizadas análises para quantificação de haptoglobina por meio da técnica de ensaio imunoenzimático (ELISA), utilizando kit comercial Catlle HP, ELK7354, sensibilidade de 5.9 ng/mL, faixa de detecção de 15.63-1000 ng/mL, em triplicatas, da marca ELK Biotechnology, conforme os protocolos recomendados pelo fabricante.

2.2.2 Biópsia e Ultrassonografia de Fígado

A biópsia hepática foi realizada por profissional treinado e membro da equipe de pesquisa e doutorando no Programa de Pós- Graduação em Ciências da Saúde oferecido na Universidade Estadual de Ponta Grossa. Inicialmente, procedeu-se à avaliação ultrassonográfica transintercostal do fígado, utilizando os espaços intercostais direitos como janelas acústicas para obtenção das imagens do parênquima hepático (FIORE *et al.*, 2018). Em seguida, realizou-se a tricotomia da região de punção no lado direito do animal, seguida de antissepsia com álcool 70% e solução de iodo. Após a aplicação de gel de ultrassom, o fígado foi localizado por ultrassonografia, sendo as imagens registradas em dispositivo de armazenamento digital previamente identificado.

Posteriormente, realizou-se anestesia local com 10 mL de lidocaína, seguida de pequena incisão cutânea com lâmina de bisturi nº 15 e punção com agulha de biópsia calibre 12 $\times$ 10 (12G $\times$ 10 cm) para obtenção da amostra hepática. O fragmento coletado foi imediatamente acondicionado em frasco identificado contendo 20 mL de formol e armazenado em recipiente apropriado. Ao término do procedimento, foi realizada nova antissepsia da região, aplicação de unguento cicatrizante e liberação do animal do brete.

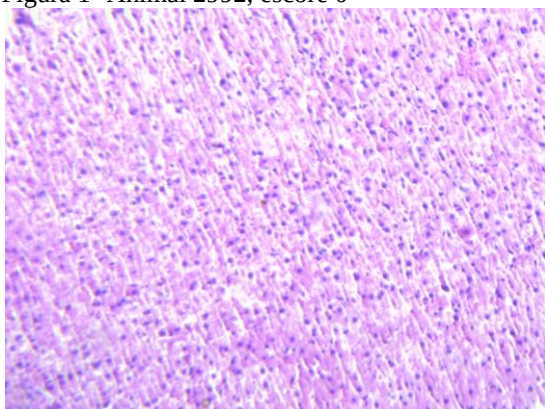
2.2.3 Análise Histológica

As amostras hepáticas dos animais incluídos no estudo foram processadas histologicamente e coradas com hematoxilina-eosina (HE) (Santos *et al.*, 2021). A análise da vacuolização hepatocelular que corresponde ao acúmulo de lipídios foi efetuada de maneira cega, empregando a escala semiquantitativa sugerida por Gerspach *et al.* (2017), a qual se fundamenta na proporção de hepatócitos afetados. As amostras foram denominadas com quatro escores distintos: escore 0, que se refere à ausência ou à vacuolização mínima (< 1% dos hepatócitos); escore 1, caracterizado por vacuolização leve e focada, abrangendo entre 1% e 25% dos hepatócitos; escore 2, que é definido por vacuolização moderada e multifocal, afetando de 26% a 50% dos hepatócitos; e escore 3, que representa vacuolização intensa e difusa, presente em mais de 50% dos hepatócitos. Na lâmina histológica corada com hematoxilina-eosina (HE), a vacuolização hepatocelular é visualizada como espaços claros e arredondados no citoplasma dos hepatócitos, decorrentes da remoção do conteúdo lipídico durante o processamento histológico. A intensidade da vacuolização é determinada pela quantidade e distribuição dos hepatócitos afetados, permitindo sua classificação nos escores de 0 a 3, conforme a proporção de células vacuolizadas observada no tecido.

As amostras hepáticas foram processadas no Laboratório de Histologia da UEPG, sendo submetidas à fixação, desidratação em séries crescentes de etanol (70%, 80%, 90% e 100%), diafanização em xilol, inclusão em parafina e cortes seriados de 5 µm em micrótomo. Os cortes foram montados em lâminas histológicas, secos em estufa a 35 °C por 24 horas e corados pela técnica de hematoxilina e eosina (HE). Após a coloração, as lâminas foram montadas com lamínulas utilizando meio de montagem sintético para posterior avaliação em microscopia óptica.

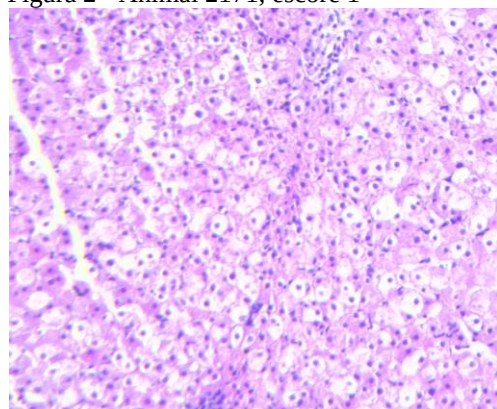
Para cada bloco de parafina foram confeccionadas duas lâminas histológicas, sendo uma destinada à coloração e análise microscópica e a outra mantida como material de reserva para eventuais análises complementares. As imagens dos tecidos foram obtidas e analisadas com fotomicroscópio Olympus LG-PS2 (ampliação de 20x) e utilizando o software TCapture mantendo o padrão, para todas as amostras. Seguindo a metodologia desenvolvida por Gerspach *et al.* (2017), a Figura 1 representa o escore nº 0, a Figura 2 representa o escore nº1, a Figura 4, o escore nº2 e a Figura 4, escore nº3.

Figura 1- Animal 2992, escore 0



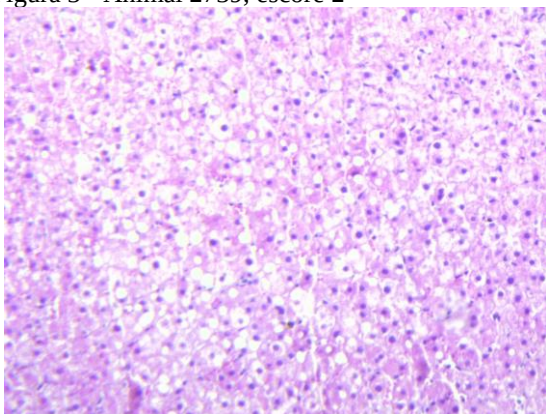
Fonte: O autor.

Figura 2- Animal 2171, escore 1



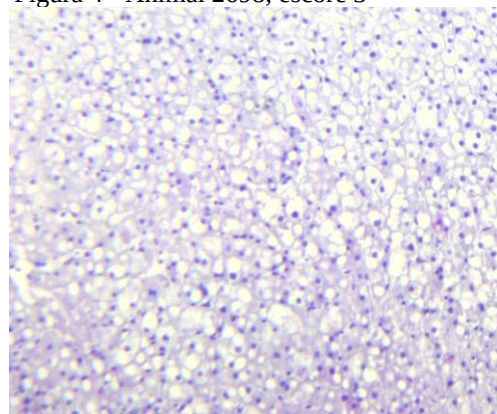
Fonte: O autor

Figura 3 - Animal 2739, escore 2



Fonte: O autor.

Figura 4 - Animal 2698, escore 3



Fonte: O autor.

2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos durante o experimento foram organizados e submetidos à análise estatística utilizando o software IBM SPSS Statistics®, versão 20.0 (IBM Corp., Armonk, NY, EUA). Adicionalmente, a Inteligência Artificial Kimi K2.6 foi empregada como ferramenta auxiliar na interpretação exploratória dos resultados gerados no software R para análises de correlações de Spearman. Em todas as análises, adotou-se teste t de Student e nível de significância de 5% ($p < 0,05$) e intervalo de confiança de 95%.

2.4 RESULTADOS

2.4.1 Parâmetros sanguíneos

Os 47 animais foram classificados de acordo com a concentração de BHBA no momento da avaliação: Grupo A ($\text{BHBA} \geq 0,6 \text{ mmol/L}$; $n = 23$) e Grupo B ($\text{BHBA} < 0,6 \text{ mmol/L}$; $n = 24$). As estatísticas descritivas e os valores de p para as comparações entre os grupos estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Parâmetros bioquímicos séricos e plasmáticos de vacas Holandesas estratificadas por concentração de BHBA

Parâmetros avaliados	Grupo A (BHBA $\geq 0,6$)	Grupo B (BHBA $< 0,6$)	p-valor
Alanina aminotransferase (U/L)	27,28 $\pm$ 13,04 ^a	24,90 $\pm$ 11,18 ^a	0,506
Aspartato aminotransferase (U/L)	71,13 $\pm$ 25,33 ^a	64,22 $\pm$ 24,94 ^a	0,351
Fosfatase Alcalina (U/L)	65,20 $\pm$ 23,24 ^a	90,01 $\pm$ 45,63 ^b	0,022
Gama-glutamil transferase (U/L)	53,31 $\pm$ 16,58 ^a	55,84 $\pm$ 19,94 ^a	0,638
Glicemia (mg/dL)	58,42 $\pm$ 7,29 ^a	65,52 $\pm$ 8,71 ^a	0,364
Triglicerídeos (mg/dL)	14,63 $\pm$ 28,60 ^a	21,96 $\pm$ 50,38 ^a	0,540
Colesterol (mg/dL)	157,96 $\pm$ 57,39 ^a	130,91 $\pm$ 46,65 ^a	0,084
Fibrinogênio (g/dL)	0,60 $\pm$ 0,61 ^a	0,51 $\pm$ 0,81 ^a	0,664
Haptoglobina (μ g/mL)	40,44 $\pm$ 13,79 ^a	53,48 $\pm$ 13,97 ^b	0,0024

Fonte: O autor.

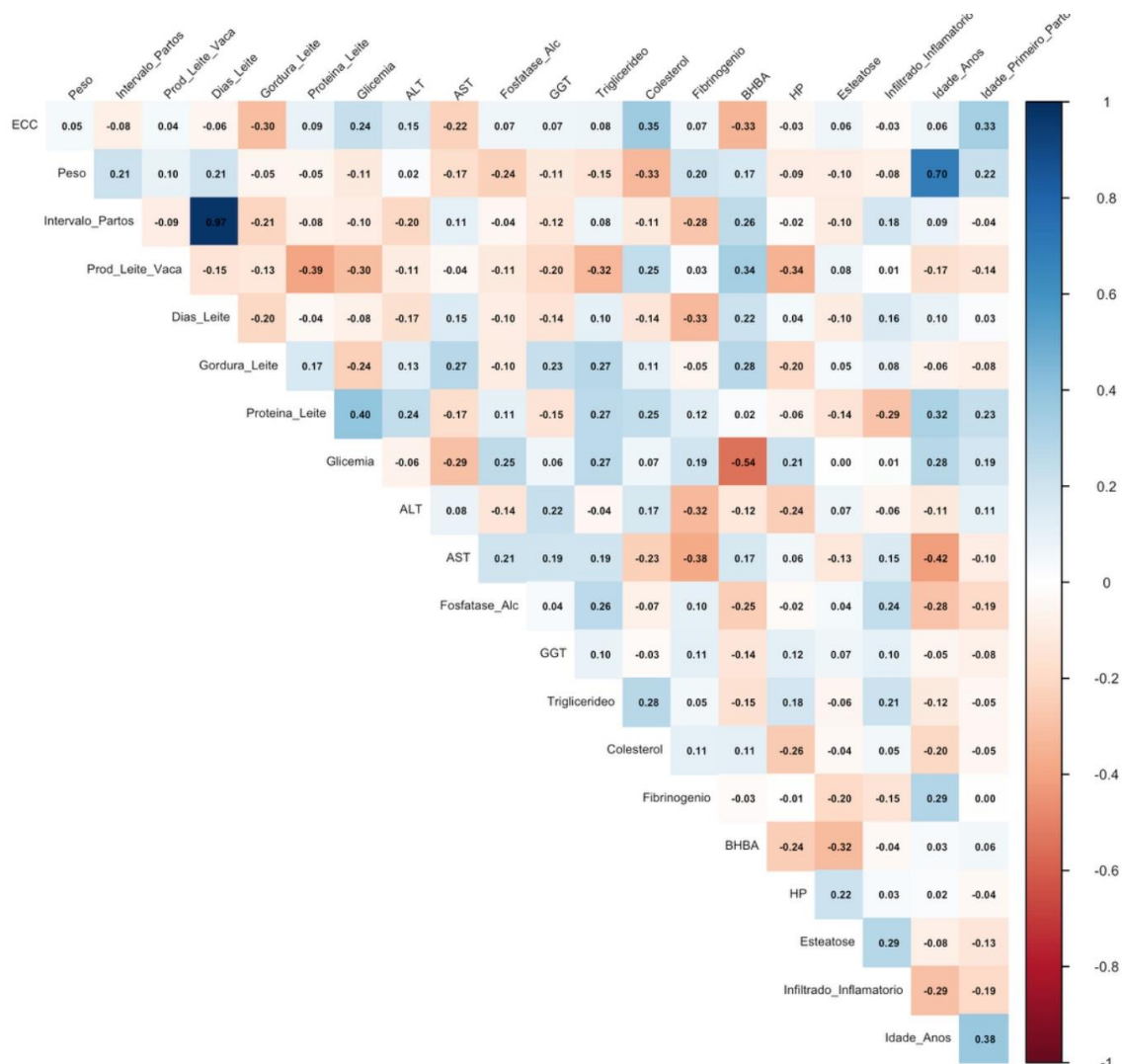
Notas: Valores expressos como média $\pm$ desvio-padrão. Médias seguidas por letras distintas na mesma linha diferem entre si ($p < 0,05$).

Não foram observadas diferenças entre os grupos nas atividades de AST, ALT e GGT, nem nas concentrações de glicose, triglicerídeos, colesterol e fibrinogênio ($p > 0,05$). A atividade de FA ($p = 0,022$) e da Haptoglobina ($p = 0,0024$) foram maiores no Grupo B do que no Grupo A. A concentração de BHBA foi, por definição do critério de estratificação, maior no Grupo A.

2.4.2 Correlações observadas entre os índices zootécnicos avaliados

A análise de correlação identificou associação negativa entre glicemia e BHBA ($r = -0,54$; $p < 0,001$) e entre ECC e BHBA ($r = -0,33$; $p = 0,023$). A haptoglobina apresentou correlação negativa com a produção de leite ($r = -0,34$; $p = 0,019$) e positiva, porém fraca e não significativa, com o escore histológico ($r = 0,22$; $p = 0,137$). A produção de leite correlacionou-se negativamente com as médias do rebanho dos teores de gordura ($r = -0,39$; $p = 0,007$) e proteína do leite ($r = -0,30$; $p = 0,040$). A correlação entre produção de leite e intervalo entre partos foi forte e altamente significativa ($r = 0,97$; $p < 0,0001$), como é possível observar na Figura 5.

Figura 5 – Matriz de correlação de Spearman entre as variáveis bioquímicas e metabólicas avaliadas nos Grupos A e B.



Fonte: O autor.

Em relação ao nível de BHBA com valor de $\geq 1,2$ mmol/L, temos 3 animais com produções diárias superiores a média do rebanho de 34 litros, conforme Tabela 2. E considerando a correlação entre produção de leite e BHBA, observamos uma correlação positiva fraca de 0,34.

Tabela 2 – Animais com nível de BHBA superior de 1,2 mmol/L grupos experimentais

Animais	Nível de BHBA (mmol/L)	Produção de Leite (L)
2354	1,5	25
2150	1,2	31,1
2439	1,2	45

Fonte: O autor.

2.4.3 Grau de Esteatose Hepática

Os escores de esteatose hepática não diferiram significativamente entre os grupos ($p > 0,05$) (Tabela 3). O Grupo A apresentou escore médio de $1,83 \pm 1,12$, enquanto o Grupo B

apresentou escore médio de $1,60 \pm 1,26$.

Tabela 3 – Comparação do escore de esteatose hepática entre os grupos experimentais

Grupos	Esteatose hepática	p-valor
A ($\geq 0,6$)	1,83 ($\pm 1,12$) ^a	($p > 0,05$)
B ($< 0,6$)	1,60 ($\pm 1,26$) ^a	($p > 0,05$)

Fonte:

O

autor.

Nota: Valores expressos como média $\pm$ desvio-padrão. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si ($p > 0,05$).

2.5 DISCUSSÃO

2.5.1 Perfil metabólico

O monitoramento do perfil metabólico constitui uma ferramenta importante para a identificação precoce de vacas com maior risco de desenvolver distúrbios metabólicos durante o período de transição, fase caracterizada por intensas adaptações fisiológicas, metabólicas e imunológicas (Leblanc, 2010). Nesse contexto, a avaliação integrada de biomarcadores possibilita compreender a resposta adaptativa dos animais às elevadas exigências energéticas impostas pelo início da lactação.

No presente estudo, os animais foram estratificados utilizando um ponto de corte de BHBA de 0,6 mmol/L, valor inferior ao limiar classicamente adotado para o diagnóstico de hipercetonemia subclínica ($\geq 1,2$ mmol/L) (Ospina *et al.*, 2010). Dessa forma, os grupos avaliados representam diferentes intensidades de cetogênese dentro de uma faixa predominantemente subclínica e não diagnóstica de cetose, e não propriamente grupos de animais cetóticos versus não cetóticos. Essa distinção é fundamental para a interpretação dos resultados, uma vez que as diferenças observadas refletem variações metabólicas em um contexto adaptativo e não necessariamente indicam doença metabólica estabelecida.

As concentrações séricas de colesterol, triglicerídeos, glicose e fibrinogênio não diferiram entre os grupos avaliados. Esses resultados indicam que, no momento da coleta, não foram detectadas diferenças nesses marcadores metabólicos e inflamatórios entre os animais com maiores e menores concentrações de BHBA. Entretanto, a ausência de diferença estatística não permite concluir que a homeostase metabólica estivesse plenamente preservada, uma vez que o delineamento transversal do estudo representa apenas um momento da adaptação metabólica e alguns marcadores apresentaram elevada dispersão dos dados.

O colesterol é frequentemente utilizado como indicador indireto do metabolismo e do transporte lipídico, enquanto o fibrinogênio constitui uma importante proteína de fase aguda associada à resposta inflamatória sistêmica (Saco & Bassols, 2023). A estabilidade desses

marcadores entre os grupos sugere que diferenças discretas nas concentrações de BHBA, abaixo do limiar clássico para hipercetonemia subclínica, não foram acompanhadas por alterações detectáveis nesses parâmetros. Esse comportamento é compatível com o descrito por Hausmann *et al.* (2018), segundo os quais vacas no período de transição podem apresentar adaptações metabólicas relevantes sem alterações expressivas em marcadores sistêmicos, sobretudo na ausência de doença clínica estabelecida.

O BHBA é reconhecido como o principal biomarcador para avaliação da cetogênese em vacas leiteiras, devido à sua elevada estabilidade e à capacidade de refletir a intensidade da produção hepática de corpos cetônicos (Duffield, 2000; Benedet *et al.*, 2019). Embora o ponto de corte empregado neste estudo seja inferior ao valor utilizado para o diagnóstico de hipercetonemia subclínica, os animais do Grupo A apresentaram concentrações significativamente superiores às do Grupo B, indicando maior intensidade da cetogênese no momento da coleta. Portanto, essa diferença deve ser interpretada como consequência da estratificação adotada, e não como evidência de cetose subclínica estabelecida nos animais. Assim, os grupos representam diferentes graus de adaptação metabólica ao longo do período de transição, dentro de uma faixa considerada predominantemente fisiológica.

Durante o início da lactação, o aumento da demanda energética para síntese de leite frequentemente excede a capacidade de ingestão de matéria seca, estabelecendo o BEN (Utamy *et al.*, 2025). Como mecanismo compensatório, ocorre aumento da mobilização de ácidos graxos provenientes do tecido adiposo, os quais são captados pelo fígado e direcionados para β -oxidação, reesterificação ou produção de corpos cetônicos, principalmente BHBA (Emam *et al.*, 2024). Esse processo representa uma adaptação fisiológica essencial para manutenção da produção leiteira, podendo ocorrer mesmo na ausência de alterações clínicas ou laboratoriais indicativas de doença metabólica (Mondal *et al.*, 2026).

A glicose exerce papel central nesse processo, uma vez que constitui o principal precursor para a síntese de lactose, responsável pela manutenção do volume de leite produzido (Mephram, 1993). No presente estudo, as concentrações glicêmicas permaneceram semelhantes entre os grupos, indicando que não foram detectadas diferenças nesse marcador durante o momento avaliado. Embora esse resultado seja compatível com a atuação de mecanismos compensatórios capazes de manter a disponibilidade de glicose, ele não permite afirmar que a homeostase glicêmica estivesse completamente preservada, uma vez que reduções mais expressivas da glicemia tendem a ocorrer principalmente em situações de hipercetonemia clínica ou experimentalmente induzida (Zarrin *et al.*, 2017).

Os resultados demonstram que diferenças discretas nas concentrações séricas de BHBA, inferiores ao limiar clássico utilizado para o diagnóstico de hipercetonemia subclínica, não foram

acompanhadas por diferenças nos demais marcadores metabólicos avaliados. Assim, o aumento do BHBA observado no Grupo A deve ser interpretado como indicativo de maior intensidade da cetogênese dentro do processo adaptativo característico do início da lactação, e não como evidência isolada de comprometimento metabólico estabelecido. O presente estudo reforça que a interpretação do BHBA deve ser realizada de forma integrada aos outros indicadores. Tal abordagem reforça o caráter adaptativo, e não necessariamente patológico, das respostas metabólicas observadas nos animais durante o período de transição.

2.5.2 Enzimas hepáticas

As atividades séricas das enzimas AST, ALT e GGT não diferiram entre os grupos avaliados, indicando que as diferenças observadas nas concentrações séricas de BHBA não foram acompanhadas por evidências bioquímicas de lesão hepatocelular relevante ou de alterações colestáticas diferenciais. Entretanto, esses resultados não permitem afirmar diretamente que a função hepática estivesse preservada, uma vez que essas enzimas refletem principalmente integridade celular e alterações hepatobiliares, não constituindo marcadores diretos da capacidade funcional do fígado.

A AST é amplamente utilizada na avaliação clínica de bovinos por apresentar associação com processos de lesão celular. Porém, a enzima não é específica do tecido hepático, estando também presente em elevadas concentrações na musculatura esquelética e cardíaca (Ünal *et al.*, 2025). Dessa forma, aumentos na atividade sérica podem refletir tanto alterações hepatocelulares quanto lesões musculares. No presente estudo, a ausência de diferença entre os grupos sugere que as distintas concentrações de BHBA não foram acompanhadas por alterações detectáveis na atividade da AST. Resultado semelhante foi descrito por Bertoni *et al.* (2008), que também observaram estabilidade dessa enzima frente a variações no status metabólico de vacas no período de transição, corroborando observações previamente relatadas por Zimmerly e Weiss (2001).

Em contraste, estudos envolvendo vacas com comprometimento metabólico mais intenso demonstram aumento significativo da AST. Ghanem *et al.* (2016) observaram elevação desta enzima em animais com cetose clínica, enquanto Du *et al.* (2018) e Shi *et al.* (2021) relacionaram sua maior atividade à lipidose hepática e à progressão da cetose. Nesses casos, o acúmulo excessivo de lipídios compromete a integridade dos hepatócitos, favorece alterações na autofagia hepática e aumenta a liberação de enzimas intracelulares para a circulação (Du *et al.*, 2018). Assim, embora a estabilidade da AST observada neste estudo seja compatível com a ausência de evidências bioquímicas de lesão hepatocelular relevante, ela deve ser interpretada considerando

a limitada especificidade da enzima para o tecido hepático.

Este comportamento semelhante foi observado para a ALT, cujas atividades permaneceram semelhantes entre os grupos. A aplicação diagnóstica da enzima em bovinos é limitada devido à baixa atividade hepática da ALT nessa espécie e à reduzida sensibilidade para detectar alterações hepáticas (Mohsin *et al.*, 2022). Estudos conduzidos por Ghazy, Gomaa e Nasr (2016) demonstraram aumento da ALT em vacas acometidas por deslocamento de abomaso e outras enfermidades associadas à disfunção hepática, condições clínicas significativamente mais severas do que aquelas observadas na população avaliada neste estudo.

A atividade da GGT também permaneceu semelhante entre os grupos. Essa enzima está localizada predominantemente nas membranas dos hepatócitos e do epitélio dos ductos biliares, sendo considerada um marcador mais específico de alterações hepatobiliares, especialmente de processos colestáticos (Miles *et al.*, 2015). Resultados semelhantes foram relatados por Lisuzzo *et al.* (2026), que não observou alterações significativas da GGT em vacas durante o período de transição submetidas a diferentes estratégias nutricionais. Em contrapartida, Du *et al.* (2018) verificaram aumento dessa enzima em vacas com hipercetonemia acompanhada de lipidose hepática severa e comprometimento hepatobiliar. Assim, a ausência de diferença na GGT reduz a evidência de alterações colestáticas diferenciais entre os grupos avaliados, embora não permita excluir completamente alterações hepatobiliares discretas que não sejam detectáveis por esse marcador.

Entre as enzimas avaliadas, a FA apresentou diferença significativa entre os grupos, com maiores atividades observadas nos animais com menores concentrações séricas de BHBA. Esse resultado difere daquele descrito em estudos envolvendo vacas com cetose clínica, deslocamento de abomaso ou lipidose hepática severa, nos quais a FA geralmente apresenta aumento concomitante à progressão das alterações hepáticas (Shi *et al.*, 2021). Além disso, a FA compreende um conjunto de isoenzimas distribuídas em diferentes tecidos, incluindo fígado, osso, intestino e placenta, não sendo específica para avaliação da função hepatobiliar. Além disso, a ausência de aumento concomitante da GGT reduz a sustentação de uma origem predominantemente hepatobiliar para a elevação observada, embora não a exclua completamente. Considerando que, no presente estudo, AST, ALT e GGT não apresentaram diferenças significativas entre os grupos, não há evidências de lesão hepatocelular ou colestase detectável, o que reforça a hipótese de que a elevação da FA observada seja decorrente de sua origem óssea.

Em relação à Hp, os grupos diferiram significativamente quanto às concentrações séricas, sendo o Grupo B o que apresentou os valores mais elevados. Embora concentrações elevadas de BHBA sejam frequentemente associadas à inflamação, esse resultado sugere que a resposta de fase

aguda pode ser desencadeada independentemente da intensidade do balanço energético negativo. A haptoglobina é uma importante proteína de fase aguda em bovinos e um marcador sensível de inflamação (Saco & Bassols, 2023). Segundo Fouza *et al.* (2024), sua elevação no período pós-parto pode refletir processos inflamatórios subclínicos ou alterações fisiológicas próprias da transição. Assim, os maiores valores observados no Grupo B podem estar relacionados à presença de infecções uterinas ou mamárias subclínicas antes da manifestação de alterações metabólicas mais intensas. Além disso, Hiss *et al.* (2009) demonstraram que a Hp apresenta concentrações elevadas durante a primeira semana pós-parto, enquanto Huzzey *et al.* (2011) destacaram que esse aumento também pode resultar de fatores como distocia e estresse de manejo, independentemente do estado energético.

Embora alguns estudos tenham associado a hipercetonemia a uma resposta inflamatória mais acentuada, essa relação nem sempre se apresenta de forma direta durante o período de transição, uma vez que a hipercetonemia pode ocorrer com pouca ou nenhuma evidência de ativação inflamatória concomitante (Drackley *et al.*, 2025). Nesse contexto, Luo *et al.* (2023) demonstraram que alterações metabólicas e imunológicas ocorrem simultaneamente, evidenciando a interação entre metabolismo e inflamação. Dessa forma, a maior concentração de HP observada no grupo com menor concentração de BHBA reforça a hipótese de que esse biomarcador pode identificar desafios inflamatórios independentemente da hipercetonemia, contribuindo para a detecção precoce de alterações na saúde de vacas durante o período de transição.

As diferenças discretas nas concentrações séricas de BHBA, inferiores ao limiar clássico adotado para o diagnóstico de hipercetonemia subclínica, não foram acompanhadas por alterações nas principais enzimas indicadoras de lesão hepatocelular ou colestase. Os resultados sugerem que as diferentes intensidades de cetogênese observadas não se associaram a evidências bioquímicas de comprometimento hepático diferencial entre os grupos. Contudo, devem ser interpretados considerando as limitações inerentes aos marcadores utilizados, uma vez que alterações funcionais ou morfológicas discretas podem não ser detectadas apenas pela avaliação das enzimas séricas.

2.5.3 Correlações

A análise das correlações permitiu identificar associações entre variáveis metabólicas, produtivas e fisiológicas durante o período de transição, contribuindo para a compreensão das adaptações que ocorrem nessa fase. Entretanto, é importante ressaltar que correlações expressam apenas a intensidade e a direção da associação entre variáveis, não permitindo estabelecer relações de causa e efeito (Zar, 2010). Dessa forma, os resultados devem ser interpretados

considerando o delineamento transversal do estudo e as limitações inerentes a esse tipo de análise.

Observou-se correlação negativa moderada entre as concentrações séricas de glicose e BHBA ($r = -0,54$), indicando que animais com maiores concentrações de corpos cetônicos tendem a apresentar menores concentrações de glicose no momento da coleta. Essa associação é biologicamente plausível e está de acordo com as adaptações metabólicas características do início da lactação, período em que a elevada demanda energética para síntese de leite favorece o estabelecimento do balanço energético negativo, reduzindo a disponibilidade de glicose e estimulando a mobilização de ácidos graxos e a produção hepática de corpos cetônicos (Mikula *et al.*, 2021; Norvezh *et al.*, 2019). Entretanto, a associação observada não deve ser interpretada como evidência de causalidade, mas sim como a relação entre dois marcadores que refletem adaptações metabólicas decorrentes do balanço energético negativo.

Também foi observada correlação negativa entre o ECC e as concentrações de BHBA, sugerindo que animais com menor condição corporal tendem a apresentar maior intensidade da cetogênese. Esse comportamento é compatível com a maior mobilização das reservas energéticas durante o balanço energético negativo e está de acordo com os resultados descritos por Poczynek *et al.* (2023), que relacionaram a perda de condição corporal ao aumento do risco de hipercetonemia. Entretanto, o ECC foi avaliado em um único momento, dessa forma, devido a ausência de registros da sua variação entre o período pré e pós-parto, não é possível determinar se as diferenças observadas refletem efetivamente maior mobilização das reservas corporais ou apenas características individuais dos animais.

A correlação positiva e de baixa magnitude observada entre a concentração de BHBA e a produção de leite ($r = 0,34$) indica uma tendência de maiores concentrações de BHBA em animais com maior produção leiteira. Essa associação pode estar relacionada à maior demanda energética imposta pela lactação, especialmente durante o período de transição, quando o aumento das exigências nutricionais pode superar a capacidade de ingestão de matéria seca, favorecendo o balanço energético negativo e a mobilização de reservas corporais. Nesse processo, o aumento da disponibilidade de ácidos graxos não esterificados para o fígado pode intensificar a cetogênese e, conseqüentemente, elevar as concentrações circulantes de BHBA. Estudos demonstram que a produção de leite pode apresentar associação positiva com as concentrações de BHBA no período pós-parto, refletindo a relação entre a intensidade da produção e as demandas metabólicas da lactação (Lean; Brus; Baldwin., 1992). Entretanto, a baixa magnitude da correlação encontrada no presente estudo demonstra que a produção de leite, isoladamente, apresenta limitada capacidade de explicar a variação nas concentrações de BHBA, uma vez que fatores como estágio de lactação, paridade, consumo de matéria seca, condição

corporal e capacidade individual de adaptação metabólica também influenciam esse marcador (Raboisson; Mounié; Hurtaud., 2014).

A forte correlação positiva entre produção de leite e intervalo entre partos ($r = 0,97$) sugere que animais de maior desempenho produtivo podem apresentar maior comprometimento da eficiência reprodutiva, resultado compatível com a intensificação do BEN em vacas de alta produção. Esse comportamento é descrito por Martens (2023), que destaca o desafio de conciliar elevada produtividade com adequado desempenho reprodutivo durante o período de transição. Da mesma forma, as correlações negativas entre produção de leite e os teores de gordura e proteína evidenciam o efeito de diluição dos sólidos do leite, frequentemente observado em rebanhos de elevada produção. Huang *et al.* (2024) relatam que vacas submetidas ao estresse metabólico apresentam alterações na composição do leite, especialmente redução dos componentes sólidos, enquanto a correlação positiva entre proteína do leite e glicemia observada neste estudo sugere que a adequada disponibilidade energética favorece a síntese proteica na glândula mamária.

Em relação aos indicadores de inflamação e saúde hepática, observou-se correlação fraca e negativa entre BHBA e haptoglobina, bem como correlação fraca e positiva entre haptoglobina e vacuolização hepatocelular compatível com acúmulo lipídico. Esses resultados sugerem que o discreto aumento da cetogênese e das alterações morfológicas hepáticas não foi acompanhado por resposta inflamatória sistêmica expressiva. Respostas semelhantes foram encontradas por Schären *et al.* (2021), que observaram alterações metabólicas e histológicas durante o período de transição que podem ocorrer independentemente de aumento significativo dos marcadores inflamatórios, especialmente na ausência de doença clínica estabelecida.

Por fim, as correlações positivas entre peso corporal, idade e tempo desde o primeiro parto refletem o desenvolvimento fisiológico esperado dos animais, indicando que vacas mais velhas tendem a apresentar maior massa corporal em decorrência da maturidade e do maior número de lactações. Conforme discutido por Lean *et al.* (2022), após o completo desenvolvimento corporal, as variações no peso passam a refletir principalmente mudanças nas reservas energéticas ao longo dos ciclos produtivos. As associações observadas são compatíveis com a fisiologia do período de transição e reforçam a utilidade da avaliação integrada de indicadores metabólicos, produtivos e hepáticos para caracterização das adaptações que ocorrem no início da lactação.

2.5.4 Avaliação histológica

Os escores de vacuolização hepatocitária não diferiram significativamente entre os

grupos, indicando que animais com maiores concentrações séricas de BHBA apresentaram alterações morfológicas semelhantes àsquelas observadas nos animais com menores concentrações. Esse resultado está de acordo com Theinert *et al.* (2022), que descreve a ocorrência de graus leves de esteatose hepática como uma condição frequentemente observada durante o início da lactação, mesmo na ausência de enfermidades metabólicas. O fato de ambos os grupos apresentarem graus semelhantes de vacuolização hepatocelular sugere que alterações morfológicas discretas podem ocorrer fisiologicamente nas primeiras semanas pós-parto, independentemente da classificação baseada exclusivamente nas concentrações séricas de BHBA.

A lipólise em vacas leiteiras, intensificada durante o BEN no período de transição, constitui uma adaptação essencial para mobilizar reservas corporais e sustentar a alta demanda metabólica da lactação (Martens, 2023). Este processo é orquestrado por um perfil hormonal caracterizado pela elevação do hormônio do crescimento (GH) e redução dos níveis de insulina, o que sinaliza a quebra de gordura estocada através de uma cascata enzimática sequencial envolvendo as enzimas ATGL, HSL e MGLL (Wang *et al.*, 2022). No presente estudo, a correlação negativa moderada observada entre a glicemia e os níveis de BHBA ($r = -0,54$) confirmou que o déficit energético foi o principal impulsionador dessa mobilização lipídica no rebanho avaliado.

Neste contexto, quando a mobilização lipídica supera a capacidade hepática de oxidação ou exportação via lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL), ocorre o acúmulo ectópico de gordura nos hepatócitos (Gessner *et al.*, 2015). Pesquisas indicam que graus leves de vacuolização hepatocelular são relativamente frequentes nas primeiras semanas após o parto, afetando parcela expressiva das vacas leiteiras e apresentando caráter potencialmente reversível quando não associados a alterações metabólicas mais intensas (Pietsch *et al.*, 2021).

A ausência de diferenças nas atividades séricas de AST, ALT e GGT entre os grupos fortalece essa interpretação, uma vez que as alterações histológicas observadas não foram acompanhadas por evidências bioquímicas de lesão hepatocelular relevante ou de colestase diferencial. Entretanto, esses resultados não permitem afirmar que a função hepática estivesse completamente preservada, mas apenas indicam que as alterações morfológicas identificadas não foram acompanhadas por modificações detectáveis nos biomarcadores séricos utilizados.

Da mesma forma, a correlação fraca e positiva entre haptoglobina e vacuolização hepatocelular compatível com acúmulo lipídico sugere que essas alterações morfológicas não estiveram associadas à resposta inflamatória sistêmica expressiva. Schären *et al.* (2021) demonstraram que modificações metabólicas e histológicas durante o período de transição podem ocorrer independentemente do aumento significativo dos marcadores inflamatórios,

especialmente quando não há doença clínica estabelecida. Portanto, os resultados demonstram que as vacas da propriedade realizaram um mecanismo fisiológico de compensação eficaz, sendo capazes de manter a homeostase funcional do órgão sem sucumbir a falências hepáticas ou doenças de transição.

CONCLUSÃO

Nas condições deste estudo, a estratificação de vacas no início da lactação por concentrações de BHBA acima ou abaixo de 0,6 mmol/L não diferenciou o escore de vacuolização hepatocelular entre os grupos. As atividades semelhantes de AST, ALT e GGT indicaram ausência de evidência bioquímica de lesão hepatocelular ou colestase diferencial, enquanto a maior atividade de FA observada no grupo com menor BHBA não pôde ser atribuída especificamente à origem hepática. Já a associação negativa entre glicemia e BHBA mostrou-se compatível com um maior desafio energético nesses animais. Em conjunto, os resultados reforçam que o BHBA deve ser interpretado de forma integrada a dados clínicos, produtivos e bioquímicos, e não isoladamente.

REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA ESTADUAL DE NOTÍCIAS. **Tecnologia das cooperativas dos Campos Gerais ajuda Paraná a produzir cada vez mais leite**. Governo do Estado do Paraná. 2022. Disponível em: <https://www.parana.pr.gov.br/aen/Noticia/Tecnologia-das-cooperativas-dos-Campos-Gerais-ajuda-Parana-produzir-cada-vez-mais-leite>. Acesso em: 07 ago. 2024.
- ALBERGHINA, D. *et al.* Serum biochemical profile and protein electrophoresis in dairy cows during post-partum period. **Comparative Clinical Pathology**, v. 28, n. 3, p. 741-745, 2019.
- ANDJELIĆ, B. *et al.* Relationships between milk and blood biochemical parameters and metabolic status in dairy cows during lactation. **Animals**, v. 14, n. 4, p. 586, 2024.
- ASCHENBACH, J. R. *et al.* Gluconeogenesis in dairy cows: The secret of making sweet milk from sour dough. **IUBMB Life**, v. 62, n. 12, p. 869–877, 2010.
- AYEMELE, A. G.; TILAHUN, M.; LINGLING, S. Oxidative stress in dairy cows: insights into the mechanistic mode of action and mitigating strategies. **Antioxidants**, v. 10, n. 12, p. 1918, 2021.
- BANCROFT, J. D.; LAYTON, C.; SUVARNA, K. S. **Bancroft's theory and practice of histological techniques**. 8. ed. Philadelphia: Elsevier, 2019.
- BATISTA, C. P. *et al.* Correlation between liver lipidosis, body condition score variation, and hepatic analytes in dairy cows. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 44, p. e005121, 2022.

- BEITZ, D. C. Capítulo 25 - Metabolismo Lipídico. In: SWENSON, M. J.; REECE, W. O. **Dukes - Fisiologia dos Animais Domésticos**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p. 412-429.
- BENEDET, A. *et al.* Invited review: β -hydroxybutyrate concentration in blood and milk and its associations with cow performance. **Animal**, v. 13, n. 8, p. 1676-1689, 2019.
- BERGMAN, E. N. Capítulo 27 - Distúrbios do metabolismo dos carboidratos e gordura. In: SWENSON, M. J.; REECE, W. O. **Dukes - Fisiologia dos Animais Domésticos**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p. 412-429.
- BERTONI, G. *et al.* Effects of inflammatory conditions on liver activity in puerperium period and consequences for performance in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 9, p. 3300-3310, 2008.
- BOBE, G. *et al.* Invited review: Pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 10, p. 3105-3124, 2004.
- BRASIL. Ministério da Educação. Secretaria de Educação Profissional e Tecnológica. **Mapa do leite: políticas públicas e privadas para o leite**. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/producao-animal/mapa-do-leite>. Acesso em: 24 jul. 2024.
- CAIXETA, L. S.; OMONTESE, B. O. Monitoring and improving the metabolic health of dairy cows during the transition period. **Animals**, v. 11, n. 2, p. 352, 2021.
- CASTANHO, L. **Castro é o maior produtor de leite nacional**. Folha de Londrina, 2021. Disponível em: <https://www.folhadelondrina.com.br/folha-rural/castro-e-o-maior-produtor-de-leite-nacional-3116415e.html>. Acesso em: 29 jul. 2024.
- CATELLANI, A. *et al.* Metabolic and inflammatory responses reveal different adaptation to the transition period challenges in dairy cows. **Italian Journal of Animal Science**, v. 22, n. 1, p. 388-397, 2023.
- CHIBA, A. *et al.* Agarose gel electrophoresis pattern of serum alkaline phosphatase isoenzymes in Holstein cows during lactation. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v. 23, n. 3, p. 317-319, 2020.
- CHIRIVI, M. *et al.* Lipolysis inhibition as a treatment of clinical ketosis in dairy cows: Effects on adipose tissue metabolic and immune responses. **Journal of Dairy Science**, v. 107, n. 7, p. 5104-5121, 2024.
- COFFEY, M. P.; HICKEY, J.; BROTHERSTONE, S. Genetic aspects of growth of Holstein-Friesian dairy cows from birth to maturity. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 322-329, 2006.
- COOKE, R. F.; MORIEL, P.; HARVEY, K. M. Impacts of nutritional management during early postnatal life on long-term physiological and productive responses of beef cattle. **Frontiers in Animal Science**, v. 2, 2021.
- ĐEDOVIĆ, R. *et al.* Blood biochemical parameters of Simmental dairy cows in different lactation stages. **Biotechnology in Animal Husbandry**, v. 33, n. 2, p. 193-201, 2017.
- DEHGHAN SHAHREZA, F.; SEIFI, H. A.; MOHRI, M. The relationship between body condition score, thyroxin, and health condition and serum energy indices, insulin like growth factor-1, and

lipids profile over the transition period in Holstein dairy cows. **Iranian Journal of Veterinary Research**, v. 23, n. 2, p. 111-119, 2022.

DERVISHI, E. *et al.* Common and specific mineral and metabolic features in dairy cows with clinical metritis, hypocalcaemia or ketosis. **Research in Veterinary Science**, v. 135, p. 335-342, 2021.

DIABETES FARMA. **Monitor de Cetona Freestyle Optium Abbott**. Disponível em: <https://www.diabetesfarma.com.br/medidor-de-glicose-e-tira-de-glicose/monitor-de-cetona-freestyle-optium-abbott>. Acesso em: 5 ago. 2024.

DRACKLEY, J. K. *et al.* Cows with feed restriction–induced hyperketonemia early postpartum have a different immunometabolic profile than healthy cows or cows with inflammatory disorders. **Journal of Dairy Science**, v. 108, p. 7790-7799, 2025.

DU, X. *et al.* Elevated apoptosis in the liver of dairy cows with ketosis. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 43, n. 4, p. 1431-1442, 2017.

DU, X. *et al.* Impaired hepatic autophagic activity in dairy cows with severe fatty liver is associated with inflammation and reduced liver function. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 12, p. 11175-11185, 2018.

DUFFIELD, T. F. *et al.* Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 571-580, 2009.

DUFFIELD, T. F. Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 16, n. 2, p. 231-253, 2000.

EMAM, M. H. *et al.* Parturition behaviors as early indicators for postpartum energy associated biomarkers status. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v. 27, n. 2, p. 273-282, 2024.

FOUZA, D. O. *et al.* Serum haptoglobin as an indicator of inflammatory status in transition dairy cows. **Veterinary World**, v. 17, 2024.

GATIE, J. A. A study of measuring blood sugar levels in cows in areas around Nasiriyah city using the ready-made ACCU-CHEK method and using a kit. **University of Thi-Qar Journal of Agricultural Research**, v. 10, n. 1, p. 49-53, 2021.

GERSPACH, C. *et al.* Variation in fat content between liver lobes and comparison with histopathological scores in dairy cows with fatty liver. **BMC Veterinary Research**, v. 13, p. 98, 2017.

GESSNER, D. K. *et al.* Effects of a 6-wk intraduodenal supplementation with quercetin on energy metabolism and indicators of liver damage in periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 7, p. 4509-4520, 2015.

GHANEM, M. M. *et al.* Alterations in biochemical parameters and hepatic ultrasonography with reference to oxidant injury in ketotic dairy cows. **Benha Veterinary Medical Journal**, v. 31, n. 2, p. 231-240, 2016.

GHAZY, A. E.; GOMAA, N. A.; NASR, N. E. Hematological and biochemical evaluation in Holstein-Friesian cows before and after surgical correction of left abomasal displacement on-field condition. **Alexandria Journal of Veterinary Sciences**, v. 49, n. 1, p. 138-146, 2016.

GRUMMER, R. R. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 3882-3896, 1993.

GUIANET. **Mapa da região do Campos Gerais.** Disponível em: <http://www.geografia.seed.pr.gov.br/modules/galeria/detalhe.php?foto=359&evento=8>. Acesso em: 5 ago. 2024.

HAUSMANN, J. *et al.* Effects of a combination of plant bioactive lipid compounds and biotin compared with monensin on body condition, energy metabolism and milk performance in transition dairy cows. **PLOS ONE**, v. 13, n. 3, e0193685, 2018.

HISS, S. *et al.* Haptoglobin and lactate dehydrogenase measurements in dairy cows during the periparturient period. **Journal of Dairy Research**, v. 76, n. 2, p. 153–158, 2009.

HUZZEY, J. M. *et al.* Haptoglobin as an early indicator of metritis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 2, p. 621–625, 2009.

HUZZEY, J. M. *et al.* Management and environmental stressors influence haptoglobin concentrations in transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 94, 2011.

KESSLER, E. *et al.* Evaluation of serum and hair metabolic biomarkers in dairy cows with different levels of subcutaneous fat thickness at dry-off. **Metabolites**, v. 12, n. 8, p. 733, 2022.

KÖRÖSI, Z. H. *et al.* Association of production and selected dimensional conformation traits in Holstein Friesian cows. **Animals**, v. 14, n. 18, art. 2753, 2024.

LASSEN, E. D. Avaliação laboratorial das proteínas do plasma e do soro sanguíneo. In: THRALL, Mary. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 26, 2006.

LEAN, I. J. *et al.* Holstein dairy cows lose body condition score and gain body weight with increasing parity in both pasture-based and total mixed ration herds. **JDS Communications**, v. 3, n. 6, p. 431-435, 2022.

LEAN, I. J.; BRUS, D. L.; BALDWIN, R. L. Bovine ketosis: a review. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 6, p. 1617–1633, 1992.

LEBLANC, S. J. Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. **Journal of Reproduction and Development**, v. 56, supl. S29-S35, 2010.

LISUZZO, A. *et al.* Amelioration of postpartum hyperketonemia using amino acids, cyanocobalamin, inositol, α -lipoic acid, or monensin during the transition period of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 109, n. 6, p. 6593-6604, 2026.

LUO, Z. *et al.* Alterations in tryptophan metabolism are associated with inflammation and ketosis in transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 106, 2023.

LOWMAN, B. G. N.; SCOTT, N. A.; SOMERVILLE, S. H. **Condition scoring of cattle**. Edinburgh: The Edinburgh School of Agriculture, 1976. 5 p. (East of Scotland College of Agriculture Bulletin, v. 6).

MARTENS, H. Invited review: Increasing milk yield and negative energy balance: a Gordian knot for dairy cows? **Animals**, Basel, v. 13, n. 19, p. 3097, 2023.

McART, J. A. A.; NYDAM, D. V.; OETZEL, G. R. Epidemiology of subclinical ketosis in early lactation dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 9, p. 5056-5066, 2012.

MELLENDEZ, P.; PINEDO, P. Update on fatty liver in dairy cattle with major emphasis on epidemiological patterns, pathophysiology in relationship to abdominal adiposity, and early diagnosis. **Dairy**, v. 5, n. 4, p. 672-687, 2024.

MEPHAM, T. B. The development of ideas on the role of glucose in regulating milk secretion. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 44, n. 3, p. 509-522, 1993.

MIKUŁA, R. *et al.* Changes in metabolic and hormonal profiles during transition period in dairy cattle – the role of spexin. **BMC Veterinary Research**, v. 17, artigo 359, 2021.

MOHSIN, M. A. *et al.* Differentiation of subclinical ketosis and liver function test indices in adipose tissues associated with hyperketonemia in postpartum dairy cattle. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 8, art. 796494, 2022.

MONDAL, M. *et al.* Endocrine–metabolic regulation during the transition period in dairy cows: mechanisms, biomarkers, and emerging diagnostics for subclinical ketosis. **Frontiers in Endocrinology**, v. 17, 2026.

NORVEZH, F. *et al.* Serum Apelin-36 alteration in late pregnancy and early lactation of dairy cows and its association with negative energy balance markers. **Research in Veterinary Science**, v. 125, p. 285-289, 2019.

OSPINA, P. A. *et al.* Evaluation of nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeastern United States: Critical thresholds for prediction of clinical diseases. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 2, p. 546-554, 2010.

PANG, R. *et al.* The molecular mechanism of propionate-regulating gluconeogenesis in bovine hepatocytes. **Animal Bioscience**, v. 36, n. 11, p. 1693-1699, nov. 2023.

PANOUSIS, N.; KARATZIAS, H. Postparturient liver diseases of dairy cattle (Ketosis, fatty liver). I. Etiology and pathogenesis. **Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society**, v. 51, n. 3, p. 182-187, 2018.

PARANÁ. Instituto Água e Terra. **Relatório ambiental simplificado (RAS): Contorno Norte - Castro**. Curitiba: Instituto Água e Terra, 2020. Disponível em: https://www.iat.pr.gov.br/sites/agua-terra/arquivos_restritos/files/documento/2020-07/ras_contorno_norte_castro.pdf. Acesso em: 27 maio 2026.

PASCOTTINI, O. B.; LEROY, J. L. M. R.; OPSOMER, G. Metabolic stress in the transition period of dairy cows: focusing on the prepartum period. **Animals**, v. 10, n. 8, p. 1419, 2020.

PIETSCH, F. *et al.* Aspects of transition cow metabolomics - Part II: Histomorphologic changes in the liver parenchyma throughout the transition period. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 8, p. 9227-9244, 2021.

POCZYNEK, M. *et al.* Associations of body condition score at calving, parity, and calving season on the performance of dairy cows and their offspring. **Animals**, v. 13, n. 4, p. 596, 2023.

RABOISSON, D.; MOUNIÉ, M.; HURTAUD, C. Effect of the level of subclinical ketosis on milk production and fertility in dairy cows: a meta-analysis. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 12, p. 7547-7555, 2014.

SACO, Y.; BASSOLS, A. Acute phase proteins in cattle and swine: A review. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 52, n. 1, p. 16-31, 2023.

SANTOS, K. R. P. D. *et al.* **Manual de técnica histológica de rotina e de colorações**. Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 2021.

SCHÄREN, M. *et al.* Aspects of transition cow metabolomics - Part I. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 8, p. 9205-9226, 2021a.

SCHÄREN, M. *et al.* Aspects of transition cow metabolomics - Part III. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 8, p. 9245-9266, 2021b.

SCHÄREN, M. *et al.* Metabolic disorders in transition dairy cows in a 500-cow herd. **Dairy**, v. 6, n. 5, p. 49, 2025.

SECRETARIA DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO DO PARANÁ. **Com números recordes, Paraná lidera o aumento da produção de frangos...** Disponível em: <https://www.agricultura.pr.gov.br>. Acesso em: 24 jul. 2024.

SERRENHO, R. C. *et al.* An investigation of blood, milk, and urine test patterns for the diagnosis of ketosis... **Journal of Dairy Science**, v. 105, n. 9, 2022.

SHI, Z. *et al.* Disruption of endoplasmic reticulum homeostasis exacerbates liver injury in clinically ketotic cows. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 8, p. 9130-9141, 2021.

SILVEIRA, P. A. *et al.* **Impacto econômico das doenças do periparto de vacas leiteiras.** NUPEEC, 2009.

SIMONOV, M.; VLIZLO, V. Some blood markers of the functional state of liver in dairy cows with clinical ketosis. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine**, v. 18, n. 1, p. 74-82, 2015.

SISTEMA FAEP/SENAR-PR. **CTP, em Castro, oferta curso de inseminação artificial.** 15 maio 2024. Disponível em: <https://www.sistemafaep.org.br>. Acesso em: 27 maio 2026.

SPAANS, O. K. *et al.* Temporal profiles describing markers of inflammation and metabolism during the transition period... **Journal of Dairy Science**, v. 105, n. 3, p. 2669-2698, 2022.

THEINERT, K. B. *et al.* Qualitative and quantitative changes in total lipid concentration and lipid fractions in liver tissue of periparturient German Holstein dairy cows of two age groups. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 9, 2022.

THRALL, M. Avaliação laboratorial do fígado. In: THRALL, Mary. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária.** 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 26, 2006.

TREVISI, E. *et al.* Role of nutraceuticals during the transition period of dairy cows: a review. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 11, p. 96, 2020.

ÜNAL, C. N. *et al.* Investigation of negative energy balance and biochemical parameters in dairy cows with hypomagnesemia developing in the fresh period. **Livestock Studies**, v. 4, n. 1, p. 71-77, 2025.

UTAMY, R. F. *et al.* Legume-based green concentrate alleviates negative energy balance in postpartum dairy cows. **Veterinary World**, v. 18, 2025.

VALLADA, E. P. **Manual de técnicas hematológicas.** São Paulo: Atheneu, 1999.

WANG, H. L. *et al.* Clostridium perfringens can promote the formation of fatty liver in cows. **Veterinary Microbiology**, v. 312, p. 110826, 2026.

WANG, J. *et al.* Holstein cow milk-derived Lactobacillus plantarum L19 alleviates heat stress-induced liver injury. **Journal of Dairy Science**, v. 109, n. 1, p. 17-33, 2026.

WANG, L. *et al.* The impaired hepatic PNPLA2-PPAR α / δ signaling pathway is associated with lipid accumulation... **Journal of Dairy Science**, v. 105, n. 6, p. 5440-5454, 2022.

ZAR, J. H. Biostatistical Analysis. **Upper Saddle River: Pearson Prentice Hall**, v.5, p.944, 2010.

ZARRIN, M. *et al.* Elevation of blood β -hydroxybutyrate concentration affects glucose metabolism in dairy cows before and after parturition. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 3, p. 2323-2333, 2017.

ZHANG, Y. *et al.* Current understanding of bovine ketosis: from molecular basis to farm-level management. **Animals**, v. 15, n. 24, p. 3644, 2024.

ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO PARA USO DE ANIMAL

06/10/2025, 08:48

SEI/UEPG - 2819184 - Carta



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
Av. General Carlos Cavalcanti, 4748 - Bairro Uvaranas - CEP 84030-900 - Ponta Grossa - PR - <https://uepg.br>

CARTA

CARTA DE APROVAÇÃO

Processo SEI UEPG: 25.000024089-2

Projeto de Pesquisa : Aplicação da inteligência artificial para diagnóstico da esteatohepatite usando vacas em período de transição como modelo

Interessado: Prof. Dr. Leandro Cavalcante Lipinski

e-mail: leandrolipinski@yahoo.com.br

Data de Entrada do Processo SEI na CEUA: 12/03/2025

Resultado: Aprovado

Vigência: 06/10/2025 à 06/10/2028

Considerações

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Ponta Grossa (CEUA-UEPG) certifica que os procedimentos utilizando animais no projeto de pesquisa supracitado estão de acordo com a Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para fins Científicos e Didáticos (DBCA), estabelecida pelo Conselho Nacional para fins de Experimentação Animal (CONCEA) e com as normas internacionais para a experimentação animal. Dessa forma, fica autorizado o uso de: 150 (cento e cinquenta) bovinos fêmeas, no Processo SEI Nº.: 25.000024089-2.

Obs.:

- O relatório final deverá ser encaminhado em até 60 dias após a conclusão do Processo SEI Nº.: 25.000024089-2.

Ponta Grossa, 06 de outubro de 2025.



Documento assinado eletronicamente por **Raquel Abdallah da Rocha Oliveira, Vice-Coordenador(a) da Comissão de Ética no Uso de Animais/PROESP**, em 06/10/2025, às 08:39, conforme Resolução UEPG CA 114/2018 e art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site <https://sei.uepg.br/autenticidade> informando o código verificador **2819184** e o código CRC **CD2A95E0**.

06/10/2025, 08:48

SEI/UEPG - 2819184 - Carta

25.000024089-2

2819184v4