



ACHADOS HISTOPATOLÓGICOS OBSERVADOS NOS CORNOS UTERINOS DE NOVILHAS ALIMENTADAS COM DIETAS RICAS EM GORDURA

Jefferson Ruela de Azevedo¹

Mariana de Mello Zanim²

Danila Lansana dos Anjos³

Mylene Muller⁴

Ivanor Nunes do Prado⁵

Selwyn Arlington Headley⁶

RESUMO: Um estudo histológico foi realizado para caracterizar as alterações histológicas encontradas nos cornos uterinos de novilhas alimentadas com dietas ricas em altas taxas de gordura, na tentativa de relacionar a deposição de tecido adiposo com baixo desempenho reprodutivo. Amostras de 23 cornos uterinos de novilhas foram utilizadas neste estudo. Três grupos de animais foram avaliados: a) Grupo I (n=8), ração sem adição de gordura (SG); b) Grupo II (n=7), ração contendo semente de linho (LIN); e c) Grupo III (n=8), ração suplementada com gordura protegida (GP). A avaliação histológica não constatou a presença de tecido adiposo nos cornos uterinos examinados; entretanto, foram observadas necrose das glândulas endometriais, fibrose endometrial periglandular e edema intersticial. As possíveis causas destas alterações são discutidas.

PALAVRAS-CHAVE: histopatologia, reprodução, gordura, cornos uterinos, bovinos,

HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS OBSERVED IN THE UTERINE HORNS OF FEMALE CALVES FED WITH A DIET RICH IN FAT

ABSTRACT: A histological study was designed to characterize histological alterations in the uterine horns of cows maintained on diets with elevated indices of fat in an attempt to relate the deposit of fatty tissue with low reproductive indices. Samples from 23 uterine horns were evaluated. Three groups of animals were examined: a) Group I (n=8), diet without the addition of fat; b) Group II (n=7), diet with oil seeds; and c) Group III (n=8), diet supplemented with protected fatty elements. No deposits of fatty tissues were observed in the uterine horns examined. However, necrosis of endometrial glands, periglandular endometrial fibrosis, and interstitial edema were observed. The possible causes of these alterations are discussed.

KEYWORDS: Histopathology, reproduction, fat, uterine horns, cattle

¹ Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária do CESUMAR – Centro Universitário de Maringá, Bolsista do Programa de Bolsas de Iniciação Científica do CESUMAR (PROBIC)

² Acadêmicas do Curso de Medicina Veterinária do CESUMAR – Centro Universitário de Maringá, Programa de Bolsas de Iniciação Científica do CESUMAR (PROBIC)

³ Acadêmicas do Curso de Medicina Veterinária do CESUMAR – Centro Universitário de Maringá, Programa de Bolsas de Iniciação Científica do CESUMAR (PROBIC)

⁴ Zootecnista, Professora Adjunta, Fundação Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF)

⁵ Zootecnista, Professor Departamento de Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Maringá, PR

⁶ Orientador e Docente do Curso de Medicina Veterinária, Laboratório de Patologia Veterinária, Centro Universitário de Maringá - CESUMAR



1. INTRODUÇÃO

Recentemente algumas pesquisas têm sido desenvolvidas tentando explicar a complexa relação existente entre os ácidos graxos essenciais e a reprodução, através de mecanismos envolvendo a síntese de prostaglandina (PETIT *et al.*, 2002). Além da prostaglandina, a suplementação de gordura pode aumentar as concentrações de colesterol sanguíneo (STANKO *et al.*, 1997), sendo este o precursor para os hormônios esteróides (MARKS *et al.*, 1996). Acredita-se que a suplementação de gordura na dieta pode afetar a fertilidade, pelo fato de os ácidos graxos serem os precursores de prostaglandina e dos hormônios esteróides (PETIT *et al.*, 2002).

Durante um experimento realizado na Universidade Estadual de Maringá (UEM) em novilhas suplementadas com fontes de gordura rica em ômega-3 ou ômega-6, o índice reprodutivo observado não correspondeu às expectativas da suplementação. Por isso existia a preocupação em verificar a existência de possíveis alterações na percentagem de gordura na parede uterina ou de doenças reprodutivas que pudessem estar relacionadas ao índice obtido.

No Brasil existem várias doenças infecciosas reprodutivas normalmente associadas a baixos índices de fertilidade em bovinos. Entretanto as doenças de origem viral (herpesvírus bovino tipo I, rinotraqueíte infecciosa bovina - IBR / vulvovaginite pustular infecciosa bovina; pestivírus, diarreia viral bovina, BVD), bacteriana (listeriose, *Listeria monocytogenes*; brucelose, *Brucella abortus*; campilobacteriose, *Campylobacter fetus* spp. *veneralis*) e protozoária (toxoplasmose, *Toxoplasma gondii*; neosporose, *Neospora caninum*) em geral são mais freqüentemente relatadas (Kennedy e Miller, 1993; JONES *et al.*, 1997; FRAY *et al.*, 1998).

Este artigo teve como objetivo descrever as possíveis alterações histológicas encontradas nos cornos uterinos destes animais para determinar se os baixos índices reprodutivos posteriormente encontrados estavam diretamente relacionados à deposição acentuada de tecido adiposo, alterações induzidas por doenças reprodutivas, ou uma combinação destes fatores.

2. MATERIAL E MÉTODO

As 23 novilhas (1/2 sangue Nelore) utilizadas neste trabalho foram anteriormente submetidas a um experimento para avaliar o efeito da adição de gordura dietética na superovulação. Estes animais foram divididos em três grupos: a) Grupo I (n=8), ração sem adição de gordura (SG); b) Grupo II (n=7), ração contendo semen-

te de linho (LIN); e c) Grupo III (n=8), ração suplementada com gordura protegida (GP). As dietas foram formuladas de acordo com as recomendações do NRC (1996) e mantidas com quantidades iguais de energia e proteína.

Sete dias após a inseminação artificial, os animais foram abatidos e seus úteros retirados. Amostras dos cornos uterinos esquerdos e direitos foram fixadas em solução de formalina a 10% e processadas para avaliação histopatológica de rotina.

3. RESULTADOS

Na avaliação histopatológica, acúmulos de tecido adiposo não foram observados nos cornos uterinos avaliados, porém foram observadas lesões histológicas na maioria dos tecidos examinados. As principais lesões observadas fora: necrose das glândulas endometriais, fibrose intersticial e edema intersticial.

A necrose endometrial foi caracterizada pela destruição parcial ou total das glândulas endometriais associada a infiltrado inflamatório misto (Fig. 1 A e B); a fibrose intersticial foi caracterizada por proliferação moderada a acentuada de fibroblastos ao redor das glândulas endometriais com dilatação das glândulas endometriais, resultando, às vezes, em atrofia compressiva das glândulas adjacentes (Fig. 2); distensão do interstício endometrial caracterizou o edema intersticial (Fig. 3).

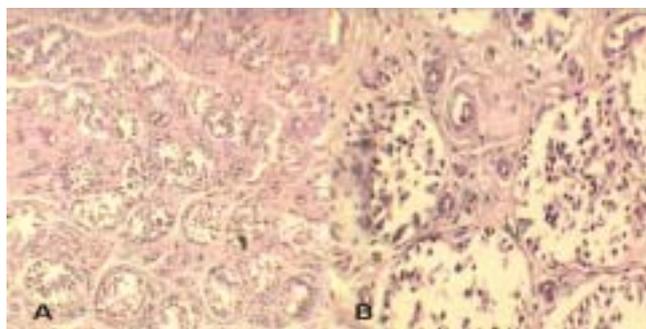


Figura 1. Corno uterino, bovino, endometriose. Há destruição acentuada das glândulas endometriais (HE, A, Obj. 10x, B 40x).

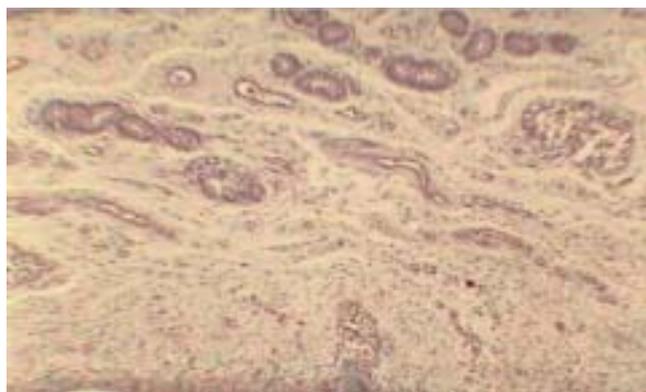


Figura 2. Corno uterino, bovino, endometriose. Observa-se proliferação acentuada de tecido conjuntivo periglandular com atrofia das glândulas adjacentes (HE, Obj. 10x).

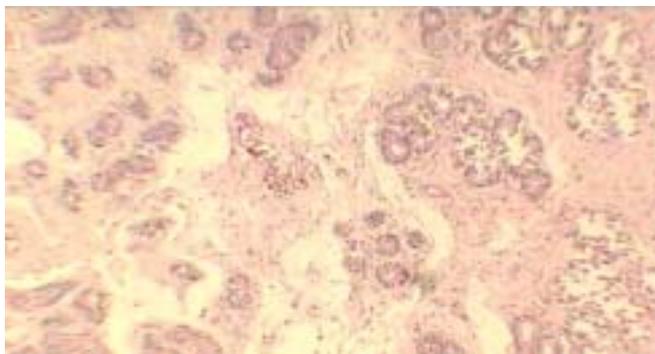


Figura 3. Corno uterino, bovino. Há marcada distensão do interstício entre as glândulas endometriais com necrose glandular (Obj. 10x)

Muitos animais apresentaram mais de um tipo de alteração histológica, sendo que muitas alterações foram observadas nos dois cornos uterinos do mesmo animal. Um resumo das alterações se encontra na Tabela 1. Considerando-se o número total das lesões observadas, a necrose das glândulas endometriais (86,9%; 20/23) foi a lesão mais freqüente, seguida por fibrose (65,22%; 15/23) e edema intersticial (2,35%; 1/23). No Grupo I, a necrose endometrial (87,5%; 7/8) e a fibrose intersticial (75%; 6/8) foram as alterações mais freqüentes; no Grupo II, a necrose e a fibrose intersticial apresentaram a mesma freqüência (85,71%; 6/7); não foi observado o edema intersticial nestes grupos. No grupo III, a necrose endometrial foi a mais freqüente (87,5%; 7/8), seguida por fibrose (37,5%; 3/8) e o edema intersticial (12,5%; 1/8).

Tabela 1. Principais alterações histológicas observadas nos cornos uterinos de bovinos alimentados com teores diferentes de gordura.

TRATAMENTO	N ^o	PRINCIPAL ALTERAÇÃO HISTOLÓGICA					
		Necrose endometrial		Fibrose intersticial		Edema intersticial	
			%		%		%
Sem Gordura (A)	8	7	87,50	6	75,00	0	0,00
Semente de Linho (B)	7	6	85,71	6	85,71	0	0,00
Gordura Protegida (C)	8	7	87,50	3	37,50	1	12,50
Total	23	20	86,96	15	65,22	1	4,35

4. DISCUSSÃO

Durante este estudo não foram encontrados depósitos de tecido adiposo no endométrio dos cornos uterinos avaliados. A ausência

de tecido adiposo nos tecidos avaliados sugere que o acúmulo anormal de tecido adiposo provavelmente não seja relacionado ao baixo índice de fertilidade obtido anteriormente. No entanto, alterações histológicas inesperadas foram observadas.

As alterações histológicas encontradas nos cornos uterinos durante esta investigação são inespecíficas para bovinos, portanto não são características de uma determinada enfermidade. Assim, as doenças reprodutivas bovinas comuns, como aquelas induzidas por herpesvírus bovino, listeriose, brucelose, toxoplasmose e neosporose, não devem ser totalmente descartadas. Adicionalmente, a participação de qualquer uma dessas doenças somente poderá ser confirmada a partir de métodos de diagnóstico específicos (imunoistoquímica ou biologia molecular).

Casos de necrose endometrial como os observados nestes bovinos têm sido relacionados a herpesvírus bovino (KENNEDY e MILLER, 1993), à administração de infusões medicamentosas (oxitetraciclina e nitrofurazona) e à utilização de agentes químicos, como preparações de iodo (MCENTEE, 1990). Infusões medicamentosas e agentes químicos nas vias reprodutivas de vacas podem induzir necrose, hiperemia e edema endometrial, porém o endométrio danificado é normalmente regenerado dentro de alguns dias (MCENTEE, 1990). Como não foram fornecidas e não é conhecida a história clínica destes animais, estes fatores não devem ser totalmente eliminados como possíveis causas da necrose.

O herpesvírus bovino tipo I produz uma doença reprodutiva denominada vulvovaginite pustular infecciosa, que poderá resultar em aborto e infecções uterinas, sendo caracterizada por necrose associada a corpúsculos de inclusão intranucleares em células epiteliais (KENNEDY e MILLER, 1993). Entretanto, estas inclusões são mais facilmente encontradas no início da infecção (KENNEDY e MILLER; JONES *et al*, 1997), tornando-se difícil seu aparecimento à medida que o tempo da infecção se prolonga. Adicionalmente, as alterações histológicas associadas à infecção por herpesvírus bovino tipo I são também observadas em órgãos não reprodutivos (por exemplo, fígado, rim, pulmão e intestino) do animal acometido; mas como somente os cornos uterinos foram avaliados, não foi possível caracterizar a participação deste agente nas alterações observadas. Embora não fossem observadas inclusões intranucleares nos cornos uterinos examinados, as quais caracterizariam uma infecção por este vírus, sua participação na etiopatogenia das lesões uterinas não deve ser totalmente descartada. Ainda, o proprietário destes animais relatou que os animais utilizados neste experimento não foram vacinados e já houve sinais característicos de vulvovaginite pustular infecciosa em vacas mantidas na sua propriedade (Jair de Araújo Marques, comunica

ção pessoal).

Embora muitos animais na região da avaliação experimental sejam vacinados contra as principais doenças reprodutivas, nem sempre os animais vacinados são totalmente imunizados. Conseqüentemente existe o risco de um animal ser vacinado contra uma determinada enfermidade, mas não totalmente protegido, podendo assim ser infectado em condições especiais, tornando-se susceptível à infecção.

Durante este estudo uma percentagem relativamente alta (65%; 15/23) de fibrose endometrial foi observada nos cornos examinados. A fibrose endometrial também conhecida como fibrose endometrial periglandular tem sido relacionada à infertilidade ou baixas taxas de infertilidade em éguas (WALTER *et al.*, 2001; LOPATE 2004), em outros animais domésticos (MUNSON *et al.*, 2002). Coletivamente, a fibrose periglandular e a dilatação das glândulas endometriais, como foram observadas neste estudo, são manifestações histológicas da endometriose, que por sua vez é uma das causas mais freqüentes de infertilidade em éguas (WALTER *et al.*, 2001). Esta enfermidade é classificada histologicamente em graus I, IIA, IIB e III (WALTER *et al.*, 2001; LOPATE 2004). O grau de endometriose está diretamente relacionado à capacidade de concepção e manutenção do feto até o final da gestação nas éguas.

No grau I, com endométrio normal, a chance de concepção e manutenção do feto até o final da gestação é de mais de 80%; no grau IIA, caracterizado por fibrose multifocal com inflamação moderada, é de 50 a 80% a chance de manutenção do feto até o final da gestação; no grau IIB, caracterizado por fibrose difusa, estima-se em 10 a 50% de possibilidade de concepção e manutenção do feto até o final da gestação; e no grau III, com inflamação e fibrose difusa, há menos de 10% de chance de concepção e manutenção do feto até o final da gestação. Embora este estudo não tenha utilizado este sistema de classificação da endometriose, se estes resultados fossem classificados, a classificação histológica predominante seria entre graus os IIB e III. Éguas com graus IIB e III de endometriose periglandular apresentam um prognóstico desfavorável em termos reprodutivos (WALTER *et al.*, 2001; LOPATE 2004). Não foi encontrado um sistema de classificação histológica semelhante para alterações uterinas em vacas, entretanto, deve-se tomar cuidado na interpretação destes resultados, pois os ciclos reprodutivos da égua e da vaca são diferentes e as respostas uterinas à lesão provavelmente sejam diferentes. Conseqüentemente, existe a necessidade de elaborar um sistema de classificação das alterações uterinas em vacas para determinar se existe uma correlação positiva entre o grau de endometriose e capacidade reprodutiva.

CONCLUSÃO

Durante este estudo não foram encontrados depósitos anormais de tecido adiposo nos cornos uterinos examinados; entretanto foram observadas alterações histológicas compatíveis com endometriose periglandular e, talvez, lesões indicativas de infecção por Herpesvírus bovino tipo I. Logo, há necessidade de realizar estudos mais específicos para melhor caracterizar o agente etiológico responsável pelas alterações descritas.

REFERÊNCIAS

FRAY, M.D.; PRENTICE, H.; CLARKE, M.C. et al. Immunohistochemical evidence for the localization of bovine viral diarrhoea virus, a single-stranded RNA virus, in ovarian oocytes in the cow. **Veterinary Pathology**, v. 35, p. 253-259, 1998.

JONES, T.C.; HUNT, R.D.; KING, N.W. **Veterinary Pathology**. 6 ed, Lipponcott Williams & Wilkins: Philadelphia, 1997, 1392 pp.

KENNEDY, P.C., MILLER, R.C. The female genital system.: IN: JUBB, K.V.C., KENNEDY, P.C., PALMER, N (Eds). **The pathology of domestic animals**. 4 ed., San Diego: Academic Press, vol. 3, cap. 4, p. 349-470, 1993.

LOPATE, C. **Equine Endometrial Biopsy**. [On line] acessado no dia 2 de dezembro de 2004. Disponível em < <http://www.addl.purdue.edu/newsletters/1998/summer/eeb.shtml> >.

MCENTEE, K. **Reproductive pathology of domestic animals**. San Diego: Academic Press. 1990, 401pp.

MARKS, D.B.; MARKS, A.D.; SMITH, C.M. **Basic Medical Biochemistry**. Williams & Wilkins Ed., 806p., 1996.

MUNSON, L., GARDNER, I. A., MASON, R. J., CHASSY, L. M., SEAL, U. S. Endometrial Hyperplasia and Mineralization in Zoo Felids Treated with Melengestrol Acetate Contraceptives. **Veterinary Pathology**. v. 39, p.:419-427, 2002

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. - NRC. 1996. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7th Revised Edition, National Academy Press. Washington, D.C. 242 p.

PETIT, H.V.; DEWHURST, R. J.; SCOLLAN, N. D. et al. Milk

production and composition, ovarian function, and prostaglandin secretion of dairy cows fed omega-3 fats. **Jornal of Dairy Science**, v.85, p.889-899, 2002.

WALTER, I., HANDLER, J., REIFINGER, M., AURICH, C. Association of endometriosis in horses with differentiation of periglandular myofibroblasts and changes of extracellular matrix proteins. **Reproduction**, v. 121, p. 581–586, 2001.