

BOVINOS ALIMENTADOS COM *Brachiaria* spp E *Andropogon gayanus*: ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS DE FÍGADO E LINFONODOS

CECILIA NUNES MOREIRA,¹ MICHELE MORAIS,² EDISMAIR CARVALHO GARCIA,³ SEBASTIÃO CABRAL NETO,²
EUGÊNIO GONÇALVES DE ARAÚJO⁴ E MARIA CLORINDA SOARES FIORAVANTI⁴

1. Professora doutora, Campus Avançado de Jataí, UFG. E-mail: cissanm@yahoo.com.br. Autor correspondente.

2. Graduandos em Medicina Veterinária, EV/UFG

3. Professor substituto, CAJ/UFG

4. Professores doutores, EV/UFG

RESUMO

Diversos trabalhos relatam a presença de alterações hepáticas em ruminantes alimentados com *Brachiaria* spp, em casos espontâneos e/ou induzidos de fotossensibilização hepatógena. O objetivo deste trabalho foi verificar se o tipo de capim ingerido provoca alteração microscópica no fígado de bovinos. Foi caracterizada a lesão hepática, quantificados e localizados os macrófagos espumosos no fígado e linfonodos e as alterações correlacionadas com o peso dos animais. Avaliaram-se quarenta bovinos, distribuídos em dois grupos de vinte animais, mantidos, respectivamente, em pastagens de *Brachiaria* (*B. brizantha* e *B. decumbens*) e *Andropogon gayanus*. No frigorífico, foram colhidos de cada

animal fragmentos de fígado e de linfonodos mesentérico e pré-escapular. Os animais alimentados com *Brachiaria* spp apresentaram maior número de macrófagos espumosos no fígado e no linfonodo mesentérico. Notou-se correlação negativa entre o número de macrófagos espumosos e o peso dos animais, nos dois grupos. A quantidade de macrófagos espumosos foi maior na zona periácinar, seguida da zona mediozonal, do ácino hepático. Nos linfonodos mesentéricos os maiores valores foram verificados na zona cortical seguida da paracortical. Os linfonodos mesentéricos apresentaram maior número de células espumosas do que o fígado.

PALAVRAS-CHAVES: Colângio-hepatite, esporidesmina, gramíneas tropicais, macrófagos espumosos, saponinas.

ABSTRACT

BOVINE CATTLE FED *Brachiaria* spp AND *Andropogon gayanus* GRASS: HISTOLOGICAL ALTERATIONS OF LIVER AND LYMPH NODES

Numerous papers report hepatic alterations in ruminants fed with *Brachiaria* spp. The aim of this study was to verify whether the ingestion of *Andropogon gayanus* or *Brachiaria* (*B. brizantha* and *B. decumbens*) produces microscopic alterations in the liver of cattle. By histological examination was characterized the hepatic injury, and determined the amount and localization of foamy macrophages in the liver and mesenteric and scapular lymphonodes. Those changes were correlated with live weight gains of the animals. Forty bulls divided into two groups of twenty were grazing, from weaning to

slaughter, in *Brachiaria* spp or *A. gayanus* pastures. In the slaughterhouse, fragments of liver and mesenteric and scapular lymphonodes were collected. Results showed, in both groups, macro and microvacuolar degeneration of hepatocytes, mainly in the periácinar region. The animals fed on *Brachiaria* spp pastures revealed larger quantity of foamy macrophages in the hepatic parenchyma and mesenteric lymphonodes. There was a negative correlation between the number of foamy macrophages in the liver and in mesenteric lymphonodes with the live weight gain, regardless of the type of ingested grass. In the lymph nodes,

the highest macrophage concentrations were in the cortical zone, followed by the paracortical zone. The mesenteric

lymphonodes showed a higher amount of foam cells than the liver.

KEY WORDS: Colangiohepatitis, foamy cells, saponins, sporidesmin, tropical grasses.

INTRODUÇÃO

No Brasil, casos espontâneos e/ou induzidos de fotossensibilização hepatógena ou simplesmente alterações hepáticas em bovinos clinicamente sadios foram relatados em bovinos (LEMOS et al., 1996; MEAGHER et al., 1996; FIORAVANTI, 1999) e ovinos (LEMOS et al., 1996; CRUZ et al., 2001; DRIEMEIER et al., 2002; BRUM et al., 2007) alimentados com *Brachiaria* spp. Apesar dos inúmeros trabalhos publicados sobre o tema, a etiopatogenia do processo ainda suscita discussão. Inicialmente as alterações foram atribuídas à esporidesminotoxicose, intoxicação causada pela micotoxina esporidesmina, produzida pelo fungo *Pithomyces chartarum* (FAGLIARI et al., 1993; ALESSI et al., 1994). Para outros autores, as lesões são produzidas por saponinas esteroides presentes em vários tipos de gramíneas, dentre elas *Brachiaria* spp (MILES, 1993; TOKARNIA et al., 2000). A ausência de esporidesmina dos isolados de *P. chartarum* de surtos de fotossensibilização aliada à baixa contagem desses esporos faz pensar no papel das saponinas na obstrução biliar como causa de fotossensibilização (MEAGHER et al., 1996).

Vários estudos sobre fotossensibilização hepatógena associada à ingestão de *Brachiaria* spp em ruminantes foram realizados e todos mostram o mesmo padrão de alterações histológicas. Um dos mais importantes achados é a infiltração focal de macrófagos com citoplasma espumoso em fígado e linfonodos de bovinos e ovinos mantidos em pastagens onde predomina este capim (DRIEMEIER et al., 1998; DRIEMEIER et al., 1999; FIORAVANTI, 1999; CRUZ et al., 2001; GOMAR, 2002; BRUM et al., 2007).

A avaliação do fígado de bovinos saudáveis mostra, com grande frequência, a presença de macrófagos espumosos. SILVA (1989), ao examinar 94 fígados de bovinos, encontrou essas células em 49 casos (52,2%), FIORAVANTI (1999) em

67,57% de 150 bovinos estudados e FIORAVANTI et al. (2003) em 63% de 60 bovinos da raça Nelore. Macrófagos espumosos são células de citoplasma abundante, com inúmeros vacúolos pequenos de lipídios, que dão ao citoplasma a aparência de espuma (COTRAN et al., 1999). Essas células também foram observadas em vários processos: tumores de mama (DAMIANI et al., 1998); xantomas ou xantogranulomas da pele (JONES et al., 1996); e placas de aterosclerose (COTRAN et al., 1999; LIBBY et al., 2000; TABATA et al., 2003). Para COTRAN et al. (1999), os macrófagos espumosos podem ser encontrados em qualquer sítio de lesão celular e reação inflamatória, como resultado da fagocitose do colesterol das membranas das células destruídas.

Apesar de vários autores atribuírem a presença dos macrófagos espumosos do fígado de ruminantes às saponinas das gramíneas (LEMOS et al., 1996; DRIEMEIER et al., 1998; DRIEMEIER et al., 1999), a existência de radicais livres também pode estar relacionada ao surgimento dessas células (ANNUK, 2002). Radicais livres podem ocasionar, no fígado, a peroxidação de lipídios que, por sua vez, poderia desencadear o surgimento de macrófagos espumosos, do mesmo modo que o faz no curso da aterosclerose. Um segundo ponto a ser considerado é o fato de a lesão predominar em torno das veias terminais (zona periacinar). Esta localização poderia indicar o envolvimento das células endoteliais no desencadeamento do processo. Hipótese semelhante é levantada por SPANEL-BOROWSKI et al. (1997), em estudo *in vitro* com células endoteliais de aorta de bovinos, que sugerem ser necessária a presença concomitante de monócitos e células endoteliais para que haja a formação das células gigantes multinucleadas.

Segundo FIORAVANTI (1999), a quantidade de macrófagos espumosos é tão significativa que ocorre substituição de extensão apreciável de parênquima hepático por granulomas. Essas

células aparecem de forma isolada ou em grandes aglomerados, caracterizando uma inflamação crônica do tipo granulomatosa. Outros achados histológicos importantes incluem proliferação de ductos biliares e infiltração de linfócitos e macrófagos na tríade portal (FIORAVANTI, 1999; CRUZ, 2001; GOMAR, 2002). A degeneração microvacuolar ou macrovacuolar está presente na grande maioria dos animais, sendo considerada um achado inespecífico, sem prejuízo à saúde do animal (FIORAVANTI, 1999).

Bovinos clinicamente saudáveis, mantidos em pastagem de *Brachiaria* spp, podem ser portadores de lesões em linfonodos mesentéricos como descreveram DRIEMEIER (1998), GOMAR (2002) e FIORAVANTI et al. (2003). A principal alteração é a presença de macrófagos espumosos em todos os linfonodos mesentéricos e, na maioria das vezes, com maior número do que aquele verificado no fígado.

O conhecimento das alterações histológicas do fígado de bovinos que consomem *Brachiaria* spp é relevante, pois é provável que, em virtude da extensão do comprometimento hepático e das alterações de suas funções, ocorra perda de peso ou de ganho de peso dos bovinos, mesmo na ausência de sinais clínicos (FIORAVANTI, 1999; CAZES, 2004).

O objetivo deste trabalho foi verificar se o tipo de capim consumido provoca alteração microscópica no fígado e linfonodos de bovinos e, por fim, correlacionar as alterações com o peso dos animais.

MATERIAL E MÉTODOS

Quarenta bovinos Nelore, machos, provenientes de uma propriedade rural situada no município de Jataí, GO, foram distribuídos em dois grupos de vinte animais – grupos 1 (lotação de 1,2UA) e 2 (lotação de 0,5UA) – sendo mantidos, do desmame até o abate, respectivamente, em pastagem de *Brachiaria* (*B. brizantha* e *B. decumbens*) e *Andropogon gayanus*. No período anterior ao desmame, os animais tiveram acesso aos dois tipos de capim. Procedeu-se ao abate dos

bovinos em frigorífico e à pesagem individual nessa ocasião.

Após o abate, colheram-se, de cada animal, fragmentos de fígado, linfonodo mesentérico e linfonodo pré-escapular. Fixaram-se as amostras em formalina tamponada a 10%, sendo recortadas 24 horas após a colheita, quando o fixador foi trocado. Os fragmentos aí permaneceram por mais 24 horas, para completar a fixação. Em seguida, após lavagem em água corrente, foram transferidos para unicassetes, onde permaneceram estocados em álcool 70%.

Processaram-se as amostras de acordo com métodos convencionais de histopatologia, sendo os fragmentos corados inicialmente pela técnica da hematoxilina e eosina, descrita por LUNA (1968). As amostras que apresentaram alterações histológicas foram submetidas à coloração de Tricrômio de Masson e Mallory para verificar a presença de fibras colágenas (SCHEVER & LEFKOWITCH, 1994).

Empregaram-se os critérios adotados por FIORAVANTI (1999), os quais foram adaptados. Fez-se uso da definição proposta por RAPAPPORT (1973), em que o ácino hepático é dividido em três zonas (centroacinar ou zona 1, mediozonal ou zona 2 e periacinar ou zona 3). As lesões localizadas de acordo com a zona de Rapapport foram caracterizadas quanto ao tipo de alteração (degenerativa e inflamatória) e classificadas quanto à extensão (em focal, multifocal e difusa) e quanto à intensidade da alteração inflamatória (grau I e grau II). Quantificaram-se os macrófagos espumosos no fígado e linfonodos dos bovinos considerando-se sua localização no órgão.

De acordo com a ocorrência de células espumosas no fígado dos bovinos, foi determinado um escore para a presença de macrófagos espumosos, considerando-se o valor médio de 770 células espumosas. Como a presença de alterações no espaço porta também foi variável, foi considerada alteração inflamatória de grau I quando a amostra apresentava pequeno grau de infiltrado periductal, podendo conter até 770 macrófagos espumosos no parênquima hepático. Considerou-se inflamação grau II aquela

acompanhada de colângio-hepatite com fibrose do espaço porta, proliferação de ductos biliares e infiltrado periductal, devendo conter obrigatoriamente mais de 770 células espumosas no parênquima hepático.

Realizaram-se a avaliação histopatológica dos linfonodos mesentérico e pré-escapular por meio de contagem e a distribuição dos macrófagos espumosos (zona cortical, paracortical e medular). O linfonodo mesentérico de um bovino alimentado com capim *Brachiaria spp* foi perdido durante o processamento.

Para o estudo dos dados histológicos que produziram resposta de caráter qualitativo, representando uma resposta de natureza categórica (escores), efetuou-se o estudo da dispersão de frequência χ^2 . Para análise das respostas histopatológicas utilizaram-se testes não paramétricos de Wilcoxon e Kruskal-Wallis. As prováveis associações entre as variáveis foram verificadas pelo coeficiente de Spearman para correlação entre as ordenações. Para a realização das análises utilizou-se o programa Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas – SAEG (RIBEIRO JUNIOR, 2001).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Notou-se degeneração macrovacuolar focal

e de baixo grau nos dois grupos de animais, na ordem de 25% (5/20) para aqueles alimentados com *A. gayanus* e 40% (8/20) para os que consumiam *Brachiaria* spp. Trata-se de valores superiores aos encontrados por FIORAVANTI et al. (2003), que relataram sua ocorrência em 3,3% dos animais alimentados com *Brachiaria* spp.

Constatou-se degeneração microvacuolar em todos os animais que consumiam *Brachiaria* spp e em 95% dos alimentados com *A. gayanus*. Resultados semelhantes foram relatados por GOMAR (2002) e FIORAVANTI et al. (2003). Embora os dois grupos tenham apresentado alteração, os bovinos que consumiram *Brachiaria* spp apresentaram maior grau de degeneração micro e macrovacuolar. Esses achados são inespecíficos e a localização predominante da degeneração microvacuolar foi a região periácinar, como também relatado por FIORAVANTI (1999).

Registraram-se três padrões de alterações inflamatórias: o primeiro consistiu de infiltrado inflamatório focal de células mononucleares no parênquima; o segundo de acúmulo de macrófagos espumosos, em forma de células isoladas ou aglomeradas no parênquima hepático, com padrão zonal; e o terceiro de infiltrado de células mononucleares no espaço porta (Figura 1).

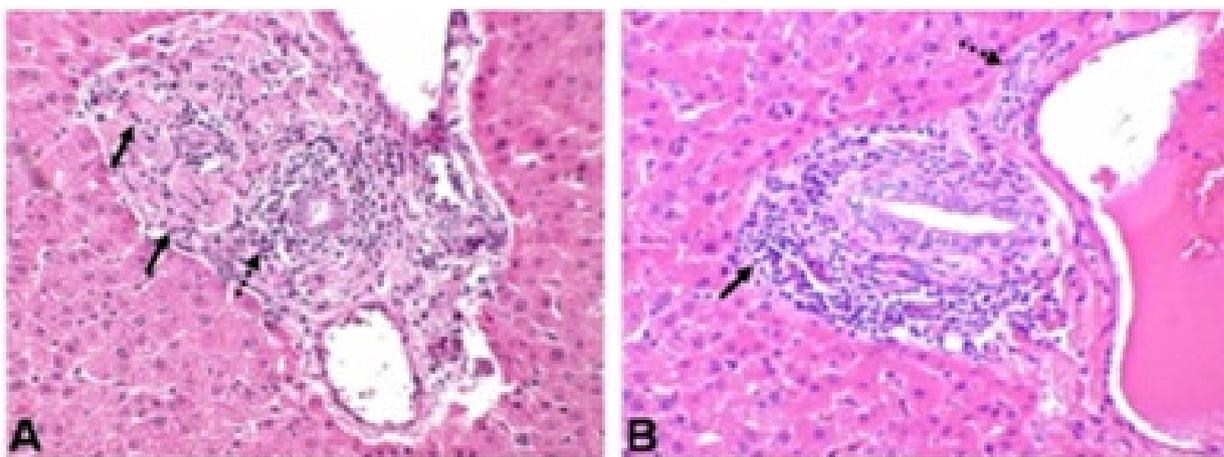


FIGURA 1. Fotomicrografia de fígado de bovino. (A) Macrófagos espumosos no espaço porta (seta contínua) e infiltrado mononuclear periductal (seta interrompida). HE, 250X. (B) colângio-hepatite, infiltrado periductal (seta contínua) e proliferação de ductos biliares (seta interrompida). HE, 250X

Neste estudo, as células inflamatórias mononucleares localizaram-se preferencialmente no espaço porta, com pequenos e raros infiltrados no parênquima. A mais expressiva resposta inflamatória foi do tipo granulomatosa parenquimatosa, à semelhança da descrição de RINGLER (2000), formada preferencialmente (mas não exclusivamente) por macrófagos que se apresentavam organizados ou agregados em coleções ou folhetos bastante compactados.

Considerando a intensidade da reação inflamatória no espaço porta, não foi constatada diferença significativa ($p>0,05$) entre os grupos (Tabela 1), mas o do *A. gayanus* apresentou reação mais evidente. A ocorrência de infiltrado

de células inflamatórias mononucleares, mais evidentes na região periductal do espaço porta e, ocasionalmente, no parênquima hepático, também foi observada por FIORAVANTI (1999); CRUZ (2001); SCHILD (2001) e GOMAR (2002). ALESSI et al. (1994) descrevem que infiltrado de células inflamatórias, na maioria das vezes mononucleares, foi identificado em animais com a forma subclínica da intoxicação por esporidiesmina, em 50% dos animais avaliados. Neste estudo, notou-se infiltrado de células mononucleares no parênquima nos dois grupos de animais, com a mesma porcentagem de ocorrência de 35% (7/20). Em todos os casos a distribuição foi focal, em um ou dois pontos isolados.

TABELA 1. Frequência de casos segundo a intensidade da alteração inflamatória no espaço porta

Animais	Reação inflamatória no espaço porta		Total
	Grau II	Grau I	
<i>A. gayanus</i>	5	15	20
<i>Brachiaria</i> spp.	1	19	20
Total	6	34	40

X^2 da tabela acima: 3,14; não significativo para $p>0,05$

Foram consideradas alterações sugestivas de intoxicação por esporidiesmina e/ou saponina os achados histopatológicos que caracterizam a colângio-hepatite, ou seja, maior quantidade de tecido conjuntivo no espaço porta (Figura 2) e infiltrado inflamatório mononuclear restrito ao espaço porta, acompanhado de proliferação de ductos biliares (Figura 3).

A presença de tecido conjuntivo no espaço porta, um dos indicativos de colângio-hepatite, foi

constatada em 20% e 50% dos animais do grupo *A. gayanus* e *Brachiaria* spp, respectivamente, com diferença ($p<0,05$) significativa (Tabela 2). FIORAVANTI et al. (2003) encontraram a mesma alteração em 39% dos animais alimentados com *Brachiaria* spp. Como a formação de tecido conjuntivo indica reparação de uma reação inflamatória (RINGLER, 2000), esses animais provavelmente sofreram uma agressão que foi ou estava sendo solucionada.

TABELA 2. Frequência de casos segundo a proliferação de tecido conjuntivo no espaço porta

Animais	Proliferação de tecido conjuntivo no espaço porta		Total
	Sim	Não	
<i>A. gayanus</i>	4	16	20
<i>Brachiaria</i> spp.	10	10	20
Total	14	26	40

X^2 da tabela acima: 3,95; significativo para $p<0,05$

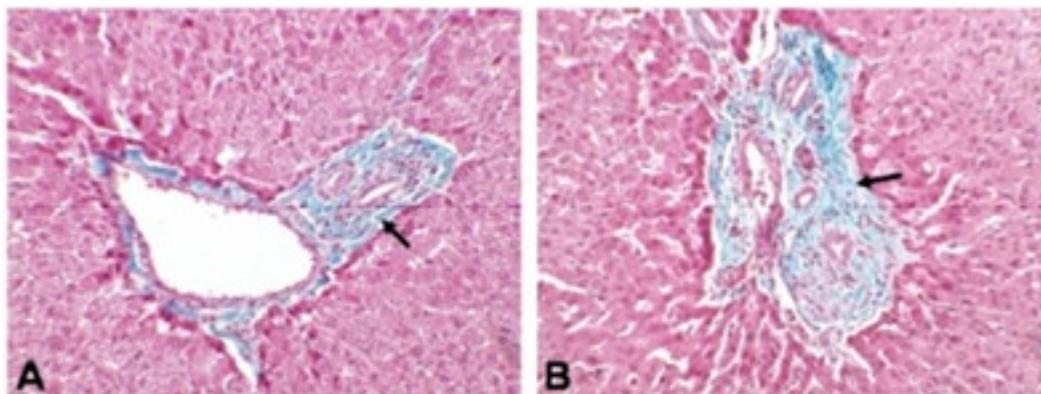


FIGURA 2 . Fotomicrografia de fígado de bovino. (a e b) fibras reticulares (setas) e proliferação de tecido conjuntivo no espaço porta. Tricômio de Masson, 250X

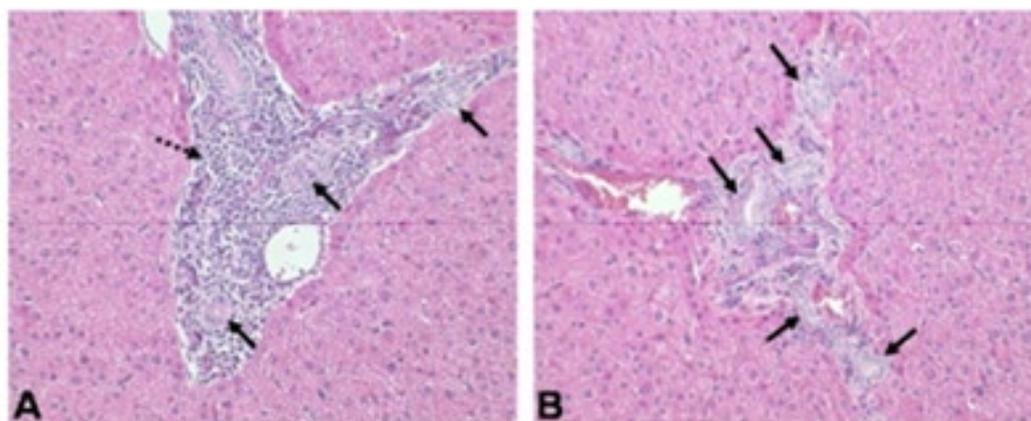


FIGURA 3. Fotomicrografia de fígado de bovino. (a) Proliferação de ducto biliar (setas contínuas) e colângio-hepatite (seta interrompida) no espaço porta. HE, 250X. (b) Espaço porta com proliferação de ducto (setas contínuas)

Com relação à presença de infiltrado mononuclear periductal, não houve diferença significativa entre os grupos ($p > 0,05$); 55% e 65% dos animais alimentados com *A. gayanus* e *Brachiaria* spp, respectivamente, apresentaram tal alteração. FIORAVANTI et al. (2003) encontraram colângio-hepatite em frequência parecida (57,4%) em bovinos alimentados com *Brachiaria* spp.

A frequência de animais com proliferação de ductos biliares foi de 45% no grupo do *A. gayanus* e 35% no grupo da *Brachiaria* spp, sem diferença significativa ($p > 0,05$) entre eles. O mecanismo da proliferação de ductos ainda não está totalmente esclarecido e as explicações se referem à colestase. Uma série de insultos ao fígado pode resultar na proliferação de novos ductos biliares nas áreas por-

tais. Não se conhece o mecanismo responsável por tal proliferação. A origem das células que formam estas estruturas é incerta, embora tenham sido propostos o epitélio do ducto biliar, colangiólitos e hepatócitos (CARLTON & MCGAVIN, 1998).

Avaliando-se as alterações em conjunto, encontraram-se 65% (13/20) dos animais com alterações sugestivas de intoxicação por esporidemia e/ou saponina para o grupo do *A. gayanus* e 70% (14/20) dos animais do grupo da *Brachiaria* spp, não havendo diferença significativa ($p > 0,05$) entre eles.

Neste estudo a colângio-hepatite foi encontrada isoladamente ou acompanhada de outras alterações. A mais frequente foi a reação inflamatória granulomatosa zonal, caracterizada pelo acúmulo

de macrófagos espumosos, sob a forma de células isoladas ou aglomerados no parênquima hepático. Verificaram-se fibroplasia portal, moderada à grave, e proliferação de ductos biliares em alguns momentos. Estes resultados também foram relatados por FIORAVANTI (1999); GOMAR (2002) e FIORAVANTI et al. (2003).

Foram encontrados macrófagos espumosos em 55% dos animais que consumiam *A. gayanus* e em todos os bovinos alimentados com *Brachiaria* spp. Para DRIEMEIER et al. (1999), seu aparecimento no fígado de bovinos coincide com a introdução de *Brachiaria* spp como pastagem principal no Brasil.

Os macrófagos espumosos corados pela HE se apresentaram como uma célula grande, com

citoplasma abundante, levemente basofílico, de aspecto espumoso, na maioria das vezes multinucleadas, com os núcleos na periferia e limites celulares imprecisos, semelhantes aos descritos por FIORAVANTI (1999). A reação inflamatória é do tipo granulomatosa, em que os macrófagos apresentaram-se sob forma de aglomerados, por vezes fusionados em células gigantes multinucleadas, distribuídas no parênquima, semelhante à descrição de RINGLER (2000). A localização predominante das células espumosas foi nas proximidades das veias terminais hepáticas (Figura 4), semelhante ao descrito por FIORAVANTI (1999) e FIORAVANTI et al. (2003).

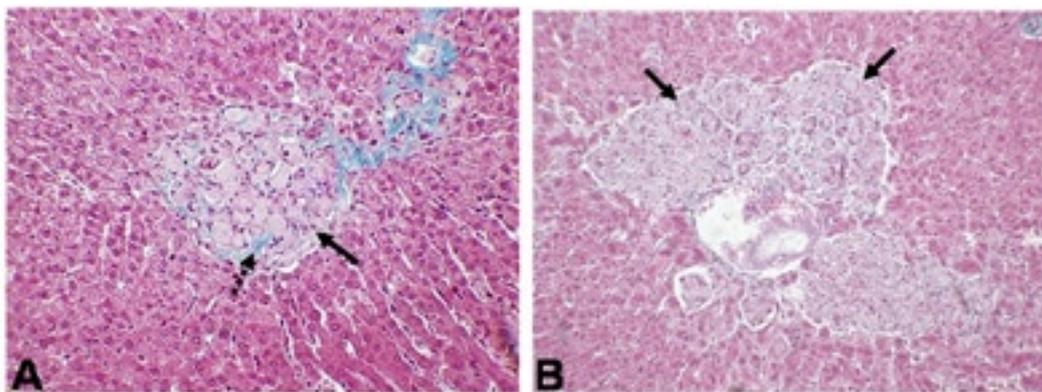


FIGURA 4. Fotomicrografia de fígado de bovino. (A) substituição de extensa área do parênquima por aglomerados de macrófagos espumosos (setas contínuas) entremeados com fibras reticulares (seta interrompida). Tricrômio de Masson, 250X. (B) aglomerado de macrófagos espumosos (setas contínuas) na região periacinar próximo à veia terminal hepática. Tricrômio de Masson, 250X

O aparecimento de células espumosas no fígado sugere cronologia caracterizada inicialmente como células isoladas e jovens, que evoluem para conjuntos de células hipertróficas maduras e, finalmente, originam granulomas bem delimitados. Evolução similar foi relatada por SILVA (1989) e FIORAVANTI (1999). Constatou-se que, nos animais com menor número de macrófagos espumosos, a maioria das células encontravam-se isoladas ou em pequenos aglomerados, de até cinco células. Nos animais com contagem elevada verificou-se predomínio de grandes aglomerados com mais de cinquenta macrófagos, comprometendo grande

área do parênquima hepático e caracterizando uma inflamação crônica do tipo granulomatosa, achado esse semelhante ao relatado por FIORAVANTI (1999).

A localização dos macrófagos espumosos foi predominantemente na região periacinar, seguida pela mediozonal e centroacinar (Tabela 3). Essa mesma distribuição foi observada por DRIEMEIER et al. (1999), FIORAVANTI (1999) e SCHILD (2001).

Houve diferença significativa ($p < 0,05$) quanto ao número de macrófagos espumosos no fígado entre os dois grupos avaliados, sendo maior

no grupo de animais que consumiam *Brachiaria* spp. O padrão de distribuição das células foi similar nos dois grupos, sendo detectada diferença significativa ($p < 0,01$) com maiores valores no grupo da *Brachiaria* spp, na zona periácinar.

Esse padrão de distribuição zonal de macrófagos com citoplasma espumoso no fígado pode ser mais bem compreendido quando se avalia o parênquima hepático sob o conceito de ácino hepático (RAPPAPORT, 1973), considerando-se que as lesões têm uma distribuição zonal que varia com a atividade metabólica dos hepatócitos. A ocorrência de maior número de células espumosas na região periácinar pode estar relacionada ao fato de nesse local estar a maioria das enzimas que participam de biotransformação (TOMMASO & JORGE, 2006). Para TEUSTSCH et al. (1998), a interpretação do padrão de localização das lesões está correlacionada à distribuição das enzimas e outras substâncias, de modo que pequenas alterações nos hepatócitos da região centroacinar podem desencadear extensas alterações naqueles localizados no final dos sinusóides (zona periácinar), como o encontrado neste estudo.

Ao contrário do verificado por DRIEMEIER (1999), foram vistos macrófagos de citoplasma espumoso em bovinos que não consumiram *Brachiaria* spp, o que indica a necessidade de reavaliar a relação entre a sua presença e a ingestão desta gramínea.

Avaliou-se a quantidade de macrófagos com citoplasma espumoso no linfonodo mesentérico (Figura 5) de 39 bovinos. Em 5,1% dos animais não havia células, em 10,2% havia de uma a 100, em 43,6% notou-se de 100 a 1.400 e em 41,02% havia mais de 1.400 células.

Os macrófagos espumosos em cortes histológicos de linfonodo mesentérico foram quantificados e os resultados são apresentados na Tabela 4, em seus valores totais.

Notou-se diferença significativa quanto ao número de macrófagos espumosos nos linfonodos mesentéricos entre os grupos avaliados, sendo maior no grupo dos bovinos que consumiam *Brachiaria* spp ($p < 0,01$). A distribuição das células foi semelhante nos dois grupos, sendo detectados os maiores valores na zona cortical ($p < 0,01$), seguida da paracortical e medular.

TABELA 3. Quantidade de macrófagos espumosos presentes em cada uma das zonas do ácino hepático de bovinos abatidos alimentados com capim *A. gayanus* ou *Brachiaria* spp.

	Número total de macrófagos espumosos				Total
	Zona centroacinar	Zona mediozonal	Zona periácinar	Espaço porta	
<i>A. gayanus</i> (n=20)	132 ^{BC**a*}	2.340 ^{ABa}	8.358 ^{Ab}	0 ^{Cb}	10.830 ^b
<i>Brachiaria</i> spp (n=20)	735 ^{Ba}	4.874 ^{Aa}	14.040 ^{Aa}	450 ^{Ba}	20.099 ^a
Total	867	7.214	22.398	450	30.929

*Teste de Wilcoxon. Letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam valores equivalentes, $p > 0,05$.

**Teste de Kruskal Wallis. Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam valores não equivalentes, $p < 0,05$.

TABELA 4. Quantidade de macrófagos espumosos presentes em cada uma das zonas do linfonodo mesentérico de bovinos abatidos alimentados com capim *A. gayanus* ou *Brachiaria* spp

	Número total de macrófagos espumosos			Total
	Zona cortical	Zona paracortical	Zona medular	
<i>A. gayanus</i> (20)	12.060 ^{A**b*}	5.647 ^{ABb}	2.512 ^{Ba}	20.219 ^b
<i>Brachiaria</i> spp (19)	26.056 ^{Aa}	7.691 ^{Ba}	3.439 ^{Ba}	37.186 ^a
Total	38.116	13.338	5.951	57.405

*Teste de Wilcoxon. Letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam valores equivalentes, $p > 0,05$.

**Teste de Kruskal Wallis. Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam valores não equivalentes, $p < 0,05$.

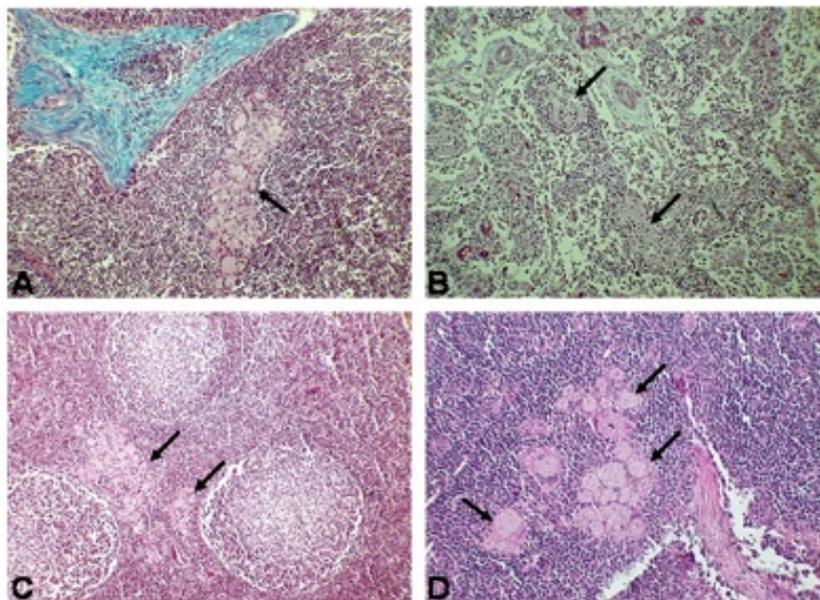


FIGURA 5. Fotomicrografia de linfonodo mesentérico de bovino. (a) presença de aglomerados de macrófagos espumosos (setas contínuas) na região cortical. Triocômio de Masson, 250X. (b) presença de macrófagos espumosos (setas contínuas) na região medular. HE, 250X. (c e d) pequenos e grandes aglomerados de macrófagos espumosos (setas contínuas) na região cortical. HE. 250X

Estes resultados mostram que bovinos aparentemente sadios mantidos em pastagem de *B. brizantha* e *B. decumbens* podem ser portadores de lesões em linfonodos mesentéricos como descreveram DRIEMEIER (1998), GOMAR, (2002) e FIORAVANTI et al. (2003). No presente estudo, verificaram-se macrófagos espumosos no linfonodo mesentérico em 80% dos animais do grupo *A. gayanus* e em 95% dos animais do grupo *Brachiaria* spp, à semelhança dos resultados descritos por GOMAR (2002) e FIORAVANTI et al. (2003), que constataram que todos os bovinos alimentados com *Brachiaria* spp apresentavam macrófagos com citoplasma espumoso no linfonodo mesentérico.

Segundo JUNQUEIRA & CARNEIRO (2004), os macrófagos podem ser encontrados nas três zonas do linfonodo, sendo predominantes na zona medular, podendo penetrar nos seios da região cortical. A ocorrência de maior número de macrófagos espumosos na região cortical provavelmente deveu-se ao fato de a circulação linfática ser unidirecional, em que os vasos aferentes oriundos do intestino entram pela curvatura maior, através da cápsula (região cortical), e a infiltração

da linfa prossegue através dos seios e nódulos até confluir em um único vaso eferente que sai pela curvatura menor no hilo, na região medular. Portanto, a chegada de moléculas no linfonodo é pela região cortical, provavelmente onde grande parte delas poderão ser fagocitadas (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004; ANKE, 2006; WAFAE, 2006).

O infiltrado de células espumosas foi maior, em número e extensão, nos linfonodos mesentéricos do que no parênquima hepático (Tabela 5), achado também descrito por DRIEMEIER et al. (1998).

Os cristais presentes nos macrófagos podem ser o resultado da deposição de saponinas litogênicas (LEMOS et al., 1998), mas existe também a possibilidade de os cristais serem a consequência da deposição de gordura oxidada (KLINKNER et al., 1995). Como nenhum trabalho comprovou a composição química desses cristais, as evidências têm sido baseadas apenas na morfologia (FIORAVANTI, 1999), sendo importante salientar que os cortes histológicos utilizados nos diagnósticos foram processados de forma rotineira, o que elimina tanto as saponinas (hidrossolúveis)

quanto o colesterol oxidado (lipossolúvel). Nessa perspectiva, a maior ocorrência de macrófagos espumosos nos linfonodos, em comparação com o fígado, poderia ser explicada pelo fato de que, segundo BALESTRO (2002) e SILVA (2002), como os vasos linfáticos têm porosidade maior que os vasos sanguíneos, as macromoléculas de gordura, capturadas no intestino, aproveitariam este caminho para chegarem até o fígado, já que

a absorção intestinal de lipídeos é exclusivamente linfática, sendo, portanto, carregadas por proteínas (globulinas e albumina) para tornarem-se hidrossolúveis. Segundo os mesmos autores, como uma das funções do sistema linfático é a filtração do sangue, parte desse excesso de gordura ficaria retida no linfonodo mesentérico, resultando em número maior de macrófagos espumosos neste órgão do que no fígado.

TABELA 5. Quantidade de macrófagos espumosos totais presentes no linfonodo mesentérico e no fígado de bovinos abatidos alimentados com capim *A. gayanus* ou *Brachiaria* spp.

Animais	Número total de macrófagos espumosos		
	<i>A. gayanus</i>	<i>Brachiaria</i> spp	Total
Fígado	10.830 ^{B**b*}	20.099 ^{Ba}	30.929 ^B
Linfonodo mesentérico	20.219 ^{Ab}	37.186 ^{Aa}	57.405 ^A
Total	31.049	57.285	88.334

*Teste de Wilcoxon. Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam valores não equivalentes, $p > 0,05$.

**Teste de Kruskal Wallis. Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam valores não equivalentes, $p < 0,05$.

Em apenas um animal do grupo *Brachiaria* spp foram encontradas, no linfonodo pré-escapular, cinquenta células espumosas, sem relação com o número de macrófagos no fígado ou no linfonodo mesentérico, pois este animal apresentava baixa contagem de macrófagos em ambos os órgãos. A baixa quantidade de macrófagos espumosos nos linfonodos pré-escapulares indica, provavelmente, que o aparecimento dessas células não tem relação com substâncias oriundas do intestino ou sistema porta, visto que nos linfonodos pré-escapulares não circula linfa

proveniente deste conjunto de órgãos (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004).

O peso médio dos animais no dia do abate diferiu entre os grupos, sendo o peso médio dos bovinos do grupo *A. gayanus* de 603 kg, superior ao valor médio de 556,9kg verificado nos animais do grupo *Brachiaria* spp ($p < 0,001$).

Foi avaliada a correlação entre o número de macrófagos no fígado e no linfonodo mesentérico e o peso dos animais, independente do tipo de capim ingerido e, em seguida, entre os dois grupos, individualmente (Tabela 6).

TABELA 6. Coeficiente de correlação de Spearman (r_s) entre o peso dos animais e a presença de macrófagos espumosos (ME) em parênquima hepático e linfonodo mesentérico. Valores de p do teste t de Student

Peso versus	r_s	N	P	Interpretação
ME no fígado dos 40 bovinos	-0,4648	40	0,0018	Muito significativo
ME no fígado (<i>Brachiaria</i> spp)	-0,5380	20	0,0095	Muito significativo
ME no fígado (<i>A. gayanus</i>)	-0,3916	20	0,0439	Significativo
ME no linfonodo mesentérico dos 39 bovinos	-0,5203	39	0,0007	Muito significativo
ME no linfonodo mesentérico (<i>Brachiaria</i> spp)	-0,6203	19	0,0042	Muito significativo
ME no linfonodo mesentérico (<i>A. gayanus</i>)	-0,3609	20	0,0578	Não significativo

Todas as comparações apresentaram correlação negativa significativa ($p > 0,05$), com exceção do número de células espumosas dos linfonodos mesentéricos com o peso dos animais que consumiam *A. gayanus*.

A correlação entre o número de macrófagos com citoplasma espumoso no fígado e a quantidade de células no linfonodo mesentérico (Tabela 7) dos animais foi altamente positiva ($p < 0,01$).

TABELA 7. Coeficiente de correlação de Spearman (r_s) entre a presença de macrófagos espumosos (ME) no fígado e a presença de macrófagos espumosos no linfonodo mesentérico. Valores e p do teste t de Student

ME no fígado versus	r_s	N	P	Interpretação
ME no linfonodo mesentérico (<i>Brachiaria</i> spp)	0,2965	20	0,0051	Muito significativo
ME no linfonodo mesentérico (<i>A. gayanus</i>)	0,6203	19	0,0023	Muito significativo

CONCLUSÕES

Bovinos aparentemente saudáveis alimentados com *Brachiaria brizantha*, *Brachiaria decumbens* e *Andropogon gayanus* apresentam, na histologia, alterações hepáticas degenerativas e inflamatórias. Macrófagos espumosos estão presentes no parênquima hepático e nos linfonodos mesentéricos dos bovinos alimentados com os dois tipos de gramínea, porém em maior quantidade nos alimentados com *Brachiaria* spp. Bovinos com maior número de macrófagos espumosos no fígado apresentam pesos menores.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo financiamento do projeto.

REFERÊNCIAS

ALESSI, A. C.; FAGLIARI, J. J.; OKUDA, H. T.; PASSI-PIERI, M. Intoxicação natural de bovinos pela micotoxina esporidesmina. 4 - Lesões hepáticas. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 46, n. 4, p. 319-328, 1994.

ANKE, B. **Prevalência de linfedema subsequente a tratamento cirúrgico para câncer de mama no Rio de Janeiro**. Rio de Janeiro, 2000, 142 f. Dissertação (Mestre em Saúde Pública) – Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2000.

ANNUK, M. **Endothelium-dependent vasodilation and oxidative stress in chronic renal failure**. Uppsala, 2002, 56 f. Thesis (Doctor of Philosophy in internal medicine) – Faculty of Medicine, Uppsala University, Uppsala, 2002.

BALESTRO, R. J. **Drenagem linfática**. [on line], 2002. Disponível em: <http://www.soscorpo.com.br/drena.htm>. Acesso em: 17 out. 2006.

BRUM, K. B.; HARAGUSHI, M.; LEMOS, R. A. A.; RIET-CORREA, F.; FIORAVANTI, M. C. S. Crystal-associated cholangiopathy in sheep grazing *Brachiaria decumbens* containing the saponin protodioscin. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 27, p. 39-42, 2007.

CARLTON, W. W.; MCGAVIN, M. D. **Patologia veterinária especial de Thomson**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 1998. 672 p.

CAZES, R. L. Ação fotossensibilizante do gênero *Brachiaria* contaminada por pithomyces chartarum (requeima). 2004. **Saúde Animal**. [on line]. Disponível em: http://www.matsuda.com.br/ifast/sis_php/fatos/requeima.doc. Acesso em: 20 jul. 2006.

COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. **Robbins pathologic basis of disease**. 5. ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1999. 1400 p.

CRUZ, C.; DRIEMEIER, D.; PIRES, V. S.; SCHENKEL, E. P. Experimentally induced cholangiohepatopathy by dosing sheep with fractionated extracts from *Brachiaria decumbens*. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Stillwater, v.13, n.2, p.170-172, 2001.

DAMIANI, S.; CATTANI, M. G.; BUONAMICI, L.; EUSEBI, V. Mammary foam cells. Characterization by im-

- munohistochemistry and in situ hybridization. **Virchows Archive**, v. 432, n. 5, p. 433-440, 1998.
- DRIEMEIER D.; BARROS S. S.; PEIXOTO P. V.; TOKARNIA C. H.; DÖBEREINER J.; BRITO M. F. Estudo histológico, histoquímico e ultraestrutural de fígados e linfonodos de bovinos com presença de macrófagos espumosos (“foam cells”). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 18, n. 1, p. 29-34, 1998.
- DRIEMEIER, D.; COLODEL, E. M.; SEITZ, A. L.; BARROS, S. S.; CRUZ, C. E. Study of experimentally induced lesions in sheep by grazing *Brachiaria decumbens*. **Toxicon**, Oxford, v. 40, n. 7, p. 1027-1031, 2002.
- DRIEMEIER, D.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V.; BRITO, M. F. Relação entre macrófagos espumosos (“foam cells”) no fígado de bovinos e ingestão de *Brachiaria* spp no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 2, p. 79-83, 1999.
- FAGLIARI, J.J.; PASSIPIERI, M.; KUCHEMUCK, M.R.G.; CURI, P.R. Intoxicação natural de bovinos pela micotoxina esporidesmina. II. Aspectos clínicos. **Arquivos Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 45, n. 3, p. 275-82, 1993.
- FIORAVANTI, M. C. S. **Incidência, avaliações clínica, laboratorial e anatomopatológica da intoxicação subclínica por esporidesmina em bovinos**. Botucatu, 1999, 256 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1999.
- FIORAVANTI, M. C. S.; TRINDADE, B. R.; BRUM, K. B.; CARNEIRO, R. B.; MENEZES, L. B.; FRANÇA, A. F. S.; ORSINI, G. F.; SILVA, L. A. F. Estudo histopatológico do fígado, linfonodo mesentérico, intestino e aorta de bovinos alimentados com capim *Brachiaria brizantha*. In: ENCONTRO NACIONAL DE PATOLOGIA VETERINÁRIA, 11., 2003, Botucatu. **Anais...** Botucatu: UNESP, 2003. p.35.
- GOMAR, M. S. **Características das células espumosas no fígado, linfonodos mesentéricos e intestino de bovinos associados ao consumo de *Brachiaria* spp**. Porto Alegre, 2002, 62 f. Dissertação (Mestrado em Patologia Veterinária) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.
- JONES, T.C.; HUNT, R.D.; KING, N.W. **Veterinary pathology**. 6. ed. Baltimore: Willians & Wilkins, 1996. 1392 p.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 540 p.
- KLINKNER, A.M.; WAITES, C.R.; KERNS, W.D.; BUGELSKI, P.J. Evidence of foam cell and cholesterol crystal formation in macrophages incubated with LDL by fluorescence and electron microscopy. **Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, Seattle, v. 43, n. 10, p. 1071-1078, 1995.
- LEMOS R. A. A.; FERREIRA L. C. L.; SILVA S. M.; NAKATO L.; SALVADOR S. C. Fotossensibilização e colangiopatia associada a cristais em ovinos em pastagem de *Brachiaria decumbens*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 26, p. 109-113, 1996.
- LEMOS, R. A. A.; NAKASATO, L.; HERRERO JUNIOR, G. O.; SILVEIRA, A. C.; PORFIRIO, L.C. Fotossensibilização e colangiopatia associada a cristais em caprinos mantidos sob pastagens de *Brachiaria decumbens* no Mato grosso do Sul. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 28, n. 3. p. 5070- 510, 1998.
- LIBBY, P.; AIKAWA, M.; SCHONBECK, U. Cholesterol and atherosclerosis. **Biochimica et Biophysica**, Amsterdam, v. 1529, p. 299-309, 2000.
- LUNA, L. G. **Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology**. 3. ed. New York: McGraw-Hill, 1968. 258 p.
- MEAGHER L. P.; WILKINS A. L.; MILES C. O.; COLLIN R. G.; FAGLIARI J. J. Hepatogenous photosensitization of ruminants by *Brachiaria decumbens* and *Panicum dichotomiflorum* in the absence of sporidesmin: lithogenic saponins may be responsible. **Veterinary and Human Toxicology**, Manhattan, v. 38, p. 271-274, 1996.
- MILES, C. O. A role for steroidal saponins in hepatogenous photosensitisation. **New Zealand Veterinary Journal**, Wellington, v. 41, p. 221, 1993.
- RAPPAPORT, A. M. The structural and functional units of the human liver (liver acinus). **Microvascular Research**, New York, v. 6, p. 212, 1973.
- RIBEIRO JUNIOR, J.I. **Análises estatísticas no SAEG**. Universidade Federal de Viçosa. 2001. 301 p.
- RINGLER, D. J. Inflamação e reparo. In: JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. **Patologia veterinária**. 6. ed. São Paulo: Manole, 2000. p.119-165.
- SCHEVER, P. J.; LEFKOWITCH, J. H. **Liver biopsy interpretation**. 5. ed. Philadelphia: Saudars Company, 1994. 315 p.

- SCHILD, A. L. Fotossensibilização hepatógena. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; MENDES, M. C.; LEMOS, R. A. A. **Doenças de ruminantes e eqüinos**. v. 2, 2. ed. São Paulo: Varela, 2001. p.177-180.
- SILVA, L. B. **Alterações hepáticas em bovinos acometidos de “Doença periodontal” (cara inchada)**. Belo Horizonte, 1989, 27 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1989.
- SILVA, P. **Digestão**. [on line], 2002. Disponível em: <http://www2.ufp.pt/~pedros/qfisisio/qfisiol.htm>. Acesso em: 17 out. 2006.
- SPANEL-BOROWSKI, K.; HERRMANN, G.; RICKEN, A.M.; DAVIS, W.C. Evidence for the development of macrophage-like cells in long-term culture of bovine aortic endothelial cells. **Animal Anatomy**, v.179, n. 6, p. 535-544, 1997.
- TABATA, T.; MINE, S. M.; KAWAHARA, C.; OKADA, Y.; TANAKA, Y. Monocyte chemoattractant protein-1 induces scavenger receptor expression and monocyte differentiation into foam cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, San Diego, v. 305, p. 380-385, 2003.
- TEUTSCH, H. E.; SCHUERFELD, D.; GROENZINGER, E. Three-dimensional reconstruction of parenchymal units in the liver of the rat. **Hepatology**, Baltimore, v. 29, n. 2, p. 494-505, 1999.
- TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. **Plantas tóxicas do Brasil**. Rio de Janeiro: Helianthus, 2000. 310 p.
- TOMMASO, A.; JORGE, S. G. **Anatomia hepática**. [on line], 2006. Disponível em: http://www.hepcentro.com.br/dra__adriana.htm. Acesso em: 16 out. 2006.
- WAFÄE, N. **Sistema linfático**. [on line], 2006. Disponível em: <http://grad.unifesp.br/alunos/materialapoio/2006/saopaulo/med/1med/modulo%20bases%20morfologicas/Roteiro%20de%20Anatomia%20Descritiva%20e%20Topogr%20A0fica.pdf>. Acesso em: 17 out. 2006.

Protocolado em: 13 mar. 2007. Aceito em: 22 out. 2008.