

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DA PARAÍBA
CAMPUS SOUSA
BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Avaliação dos aspectos histopatológicos da glândula mamária em ovelhas

Discente: Flávia Kellany de Lima Maciel

Orientador: Roseane Araújo Portela

Sousa - PB

2016

Flávia Kellany de Lima Maciel

Avaliação dos aspectos histopatológicos da glândula mamária em ovelhas

**Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado, como parte das exigências
para a conclusão do Curso de Graduação
em Medicina Veterinária do Instituto
Federal da Paraíba – Campus Sousa.**

Orientador (a): Prof (a). MSc. Roseane
Araújo Portela

Sousa - PB

2016

Flávia Kellany de Lima Maciel

Avaliação dos aspectos histopatológicos da glândula mamária em ovelhas

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado, como parte das exigências
para a conclusão do Curso de Graduação
em Medicina Veterinária do Instituto
Federal da Paraíba – Campus Sousa.

Sousa-PB, ___/___/_____

Professora MSc. Roseane Araújo Portela
Presidente da banca - Orientador

Professora DSc. Amélia Lizziane Leite Duarte
Membro

Professora DSc. Ana Valéria Mello de Souza Marques
Membro

Sousa - PB

2016

‘Dedico este trabalho aos meus avós e padrinhos Manoel Jorvino e Raimunda Jorvino “in memoriam”, que infelizmente não podem estar presentes neste momento tão feliz da minha vida, mas que não poderia deixar de dedicar a eles, pois sem sombra de dúvida, lhes devo muitas coisas principalmente por seus ensinamentos e valores passados. Obrigada por tudo! Saudades eternas!’

AGRADECIMENTOS

É realmente difícil agradecer todas as pessoas que de algum modo, seja qual for o momento, fizeram ou fazem parte da minha vida, por isso primeiramente quero agradecer a todos de coração.

Dediquei este trabalho “in memoriam” aos meus avós maternos e também padrinhos pelo fato de ter crescido e convivido tanto com eles foi também com eles que aprendi que a maior riqueza que o ser humano pode ganhar neste mundo é a educação e o amor para com sua família e para com Deus.

Quero começar dando as honras deste agradecimento a aqueles que me deram a vida, meus pais Quinha e Diassis, pois confiaram em mim e me deram esta oportunidade de concretizar e encerrar mais uma caminhada. Acredito que não mediram esforços para que este sonho se realizasse, sem a compreensão, ajuda e confiança deles nada disso seria possível hoje. A eles dedico a minha vida.

Agradeço a minha tia Nena e tia Corrinha pelo carinho de todos os dias, pela dedicação e os valores a mim passados a vocês a minha eterna gratidão seja qual for a fase e novidade em minha vida.

Aos meus irmãos Flaviana e César e ainda aos meus primos Neto, Vilma e Manoel que também são irmãos de coração obrigado pelo companheirismo, cumplicidade e amizade de cada um de vocês, sem vocês meus dias seriam menos alegres.

Agradeço aos meus bichos de estimação que alegam a minha casa, meus gatos, força maior pelo qual escolhi esta profissão tão admirável e difusa.

Não posso esquecer os meus amigos Jessika, Igor, Laís, Rita de Cássia, e tantos outros que fiz ao longo dos semestres, que dia após dia estavam ali, me fazendo companhia, me fazendo rir, vivendo cada detalhe do curso juntos, as noites mal dormidas o desespero das provas, as conversas altas horas, as saudades das férias. Ah a saudade! Desta nem quero falar.

Agradeço a coordenadora do Curso de Medicina Veterinária do IFPB Campus Sousa Dra. Ana Valéria Mello de Souza Marques por ter acreditado num sonho que agora é de todos, agradeço aos professores que desempenharam com dedicação as aulas ministradas.

Agradeço à minha querida e amável orientadora, Roseane Araújo Portela, que com paciência, conseguiu corrigir os meus textinhos com suas observações em vermelho, por ter me mostrado o caminho das obras científicas que com dedicação, presteza e competência conduz sua profissão e por ser uma excelente professora e profissional, as quais me espelham.

Agradeço a todos os funcionários da Universidade que atenciosamente atenderam as nossas necessidades básicas no decorrer dos anos.

E finalmente agradeço a Deus, por proporcionar estes agradecimentos à todos que tornaram minha vida mais afetuosa, além de ter me dado uma família maravilhosa e amigos sinceros. Deus, que a mim atribuiu uma alma que pode sentir e grandes missões pelas quais devo batalhar e vencer tudo junto a Ele, agradecer é pouco. Por isso quero lutar pra conquistar, se em algum momento eu cair e sei que vou, quero poder levantar para poder continuar e o principal, VIVER, com humildade e este será o meu modo de agradecer sempre.

RESUMO

Quando comparada aos estudos que norteiam a espécie bovina é notória a escassez de informações na literatura sobre a glândula mamária de ovinos. Isso não significa que são menos importantes, mas que são pouco estudadas. Nesse estudo objetivou-se avaliar os aspectos histopatológicos das glândulas mamárias de ovelhas não lactantes e com suspeita de mastite crônica variando de com ou sem secreção láctea. Foram utilizadas 12 matrizes de ovelhas não lactantes do rebanho do IFPB- Campus Sousa. Foram realizados exames das glândulas mamárias pelo método de inspeção e palpação. As ovelhas foram submetidas à mastectomia em seguida foram coletados fragmentos de tecido glandular. Os fragmentos foram fixados em formol a 10% e enviadas para UFCG/Campus Patos para o preparo de lâminas histológicas e posterior observação na microscopia óptica. Foram observadas as características histológicas referentes ao tecido glandular, adiposo, conjuntivo, células de defesa sendo classificados como acentuado, moderado e discreto. Esta organização direcionou a classificação, de cada metade mamária, como ativa, inativa e fibrose. Na análise das glândulas, nove apresentaram características inativas, nove com características ativas e seis com características de fibrose. Concluiu-se que avaliação histológica considerando a quantidade de tecido glandular, adiposo, conjuntivo, células de defesa e *corpora amylacea*, são capazes de determinar o padrão de atividade de cada glândula mamária de ovelhas deslanadas, como ativa, inativa e fibrose. Em relação à condição a suspeita clínica de mastite crônica com ou sem secreção láctea nas 12 ovelhas, das 24 glândulas houve nove com aspecto de glândula ativa e nove com aspecto de glândula inativa, caracterizando o padrão de 75% das glândulas mamárias das ovelhas, sugerindo que estas glândulas teriam ainda fases a serem desenvolvidas, semelhante à glândula mamária normal. Pesquisas com ovelhas em diferentes estágios da lactação precisam ser confrontados com os dados obtidos aqui neste projeto, para assim nortear uma pesquisa para que os processos patológicos que atingem as glândulas mamárias de ovelhas possam ser revertidos e remediados, assim como ocorre com as afecções mamárias que acometem os bovinos.

Palavras-chave: Ovelhas, parênquima glandular, ativa, inativa e fibrose.

ABSTRACT

When compared to studies that guide the bovine species is known to lack of information in the literature on the mammary glands of sheep. This does not mean that they are less important, but they are little studied. This study aimed to evaluate the histopathologic features of the mammary glands of not lactating ewes and with suspected chronic mastitis varying with or without milk secretion. Were used 12 arrays of non-lactating sheep of the flock IFPB- Campus Sousa. Tests were carried out of the mammary glands by inspection and palpation method. The sheep underwent mastectomy were then collected from glandular tissue fragments. The fragments were fixed in 10% formalin and sent to UFCG/Campus Patos for the preparation of histological slides and subsequent observation by light microscopy. The histological characteristics related to glandular tissue, fat, connective, defense cells being classified as severe, moderate and discrete were observed. This organization directed the classification of each breast half as active, inactive and fibrosis. In the analysis of the glands, nine were inactive features nine with active features and six with fibrotic characteristics. It was concluded that histological evaluation considering the amount of glandular, fat, connective tissue, immune cells and *corpora amylacea* are able to determine the pattern of activity of each mammary gland woolless sheep, as active, inactive and fibrosis. Regarding the condition the clinical suspicion of chronic mastitis with or without milk secretion in 12 sheep, the 24 glands there were nine with the aspect of active gland and nine inactive gland aspect, featuring the standard of 75% of the mammary glands of sheep, suggesting these glands still have phases to be developed, similar to normal mammary gland. Research with sheep in different stages of lactation must be compared with data obtained here in this project, so as to guide a search for the pathological processes that affect the mammary glands of sheep can be reversed and remedied, as with the breast conditions that affect the bovines.

Key words: Sheep, glandular parenchyma, active, inactive and fibrosis.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Glândula mamária inativa de ovelhas não lactantes. Tecido adiposo (A); tecido conjuntivo (C); *corpora amylacea* (CA); lóbulos e alvéolos glandulares (G); parênquima glandular. HE (Obj. 10x). 19
- Figura 2.** Glândula mamária de ovelhas não lactantes. Infiltrados celulares mononucleares intralobulares. Plasmócitos (ápice das setas); linfócitos (setas). HE (Obj. 40x). 20
- Figura 3.** Glândula mamária ativa de ovelhas não lactantes. Alvéolo (A); tecido conjuntivo (S). HE (Obj. 10x). 21
- Figura 4.** Glândula mamária com fibrose de ovelhas não lactantes. Tecido conjuntivo (TC); tecido conjuntivo de substituição nos lóbulos glandulares (C); ducto interlobular (L). HE (Obj. 10x). 22
- Figura 5.** Glândula mamária de ovelhas não lactantes. Graus de tecido glandular (TG). A- Acentuado tecido glandular; B- moderado tecido glandular; C- discreto tecido glandular; Tecido conjuntivo (S). HE (Obj. 4x). 23
- Figura 6.** Glândula mamária de ovelhas não lactantes. Graus de tecido conjuntivo (S). A- Acentuado tecido conjuntivo; B- moderado tecido conjuntivo; C- discreto tecido conjuntivo. HE (Obj. 10x). 23
- Figura 7.** Glândula mamária de ovelhas não lactantes. Graus de tecido adiposo (TA). A- Acentuado tecido adiposo; B- moderado tecido adiposo; C- discreto tecido adiposo. HE (Obj. 4x). 24
- Figura 8.** Glândula mamária de ovelhas não lactantes. Graus de *corpora amylacea* (CA). A- Acentuado *corpora amylacea*; B- moderado *corpora amylacea*; C- discreta *corpora amylacea*. HE (Obj. 10x). 25
- Figura 9.** Glândula mamária de ovelhas não lactantes, Graus de presença e distribuição de células de defesa (I). A- Acentuada presença de células de defesa, formando processo inflamatório, granulomas; B- Moderada presença de células de defesa, na região periductal; C- Discreta presença de células de defesa, difuso pelo estroma. HE (Obj. 10x). 26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação do padrão microscópico da glândula mamária de ovelha.....	18
--	----

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	OBJETIVOS	12
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1	ANATOMIA DA GLÂNDULA MAMÁRIA	13
2.2	HISTOLOGIA	14
2.3	PERÍODO SECO.....	14
2.4	DIFERENÇA HISTOLÓGICA DA GLÂNDULA MAMÁRIA EM VÁRIAS FASES.....	15
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	16
3.1	EXAME CLÍNICO	16
3.2	EXAME HISTOPATOLÓGICO	17
3.3	ANÁLISE DOS RESULTADOS	17
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	18
5	CONCLUSÃO	26
6	REFERÊNCIAS.....	28

1 INTRODUÇÃO

Pouco se conhece das peculiaridades da glândula mamária em ovinos, principalmente quando as raças nativas são abordadas. Quando se pesquisa sobre as glândulas mamárias em ovelhas deslanadas as informações são restritas. A escassez de informações na literatura sobre a glândula mamaria de ovinos quando comparada aos dos bovinos, não significa que são menos importantes, mas que são pouco estudadas (BLAGITZ et al., 2013).

Durante toda a vida do animal, a glândula mamária sofre várias alterações, não só no seu volume, mas também na sua estrutura interna e composição, que têm um forte impacto na produção de leite tanto em termos de quantidade e qualidade (FOWLER et al., 1990).

O desenvolvimento da glândula mamária, durante todas as fases da vida é influenciado por alguns fatores, o que certamente inclui o sistema endócrino, que interagem com os diferentes fatores de crescimento e os componentes epiteliais e mesenquimais. A fase final envolve o processo de diferenciação funcional durante desenvolvimento lóbulo-alveolar associada à gestação, seguida por involução quando o aleitamento ou ordenha cessa. Avaliar o comportamento da glândula mamária histologicamente é indicado para comparar os componentes epiteliais e mesenquimais nas diferentes fases do desenvolvimento da glândula mamária (CADAR et al., 2012).

A mastite atinge a produção de ovinos de forma irremediável, quando se comparados aos efeitos da doença em bovinos e caprinos podendo provocar perda da glândula mamária e até mesmo a morte do cordeiro (BLAGITZ, 2007 apud MENZIES, 2001, PUGH 2005, RADOSTITIS et al., 2002). Alguns trabalhos atribuem à mastite clínica tardiamente diagnosticada como causa primária da mortalidade de borregos e a produção insuficiente de leite nas ovelhas (COSTA et al., 2001, MENDONÇA et al., 2005).

1.1 OBJETIVOS

A presente pesquisa teve como finalidade avaliar os aspectos histopatológicos encontrados em glândulas mamárias de ovelhas não lactantes e com suspeita clínica de mastite crônica, os seguintes aspectos:

- Avaliar os aspectos histológicos da glândula mamária de ovelhas não lactantes e com suspeita clínica de mastite crônica com ou sem secreção láctea;
- Identificar os vários estágios do processo inflamatório, infeccioso, cicatricial e de regeneração da glândula mamária de ovelhas das raças Santa Inês, Dorper e mestiças;
- Conhecer estatisticamente o padrão histopatológico mais comum nas glândulas mamárias nas ovelhas não lactantes Santa Inês, Dorper e mestiças;
- Comparar a condição de não lactante com os achados histopatológicos da glândula mamária de ovelhas Santa Inês, Dorper e mestiças.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ANATOMIA DA GLÂNDULA MAMÁRIA

A glândula mamária, assim como as glândulas sudoríparas e sebáceas, é uma glândula cutânea, sendo, nos ovinos, localizada na região inguinal. As glândulas e tetas dos ruminantes são conhecidas coletivamente como úberes (RIBEIRO, 2005 apud JACOBSON & MCGILLIARD, 1988).

Conforme Birgel (2004), o úbere da ovelha consiste de duas glândulas mamárias independentes morfológica e funcionalmente. Assim, todo o leite ordenhado de uma metade é produzido pelo tecido glandular daquela metade, assim como a vascularização, o suprimento nervoso e a drenagem linfática (FRANDSON et al., 2005).

Durante a vida do animal, a glândula mamária sofre provavelmente mudanças no tamanho, na estrutura, na composição e na atividade em relação a qualquer outro tecido. Essas mudanças começam durante a vida fetal e continuam até que a glândula atinja a maturidade, mediante ação de ondas hormonais durante os sucessivos ciclos reprodutivos (KNIGHT & PEAKER, 1982). O tecido mamário continua a crescer após o parto e alcança o máximo crescimento durante o pico de lactação, sofrendo regressão após esse período. A quantidade de secreção de leite depende do crescimento do tecido epitelial tubuloalveolar da glândula mamária, processo que está sob controle hormonal. Com as gestações sucessivas, a glândula mamária vai aumentando seu desenvolvimento até atingir seu máximo potencial na terceira ou quarta gestação, cujas correspondentes lactações correspondem ao rendimento máximo (GONZÁLEZ, 2002).

2.2 HISTOLOGIA

A glândula mamária é uma glândula tubuloalveolar composta, que se origina do ectoderma (RIBEIRO, 2005 apud JACOBSON & MCGILLIARD, 1988). Grupos de unidades secretórias tubuloalveolares formam lóbulos separados por septos de tecido conjuntivo (MONTEIRO-RIVIERE, 2012). O interior da glândula mamária consiste em parênquima glandular, tecido conjuntivo e adiposo entrelaçados. As unidades secretoras dentro de cada secção tomam a forma de alvéolos microscópicos que conduzem a pequenos ductos excretores (DYCE, 2010).

Os alvéolos secretórios da glândula mamária têm forma esférica a ovóide e com um grande lúmen. O epitélio dos alvéolos varia de forma significativa em altura durante os diversos estágios da atividade secretória. O tecido intersticial da glândula mamária proporciona importante sustentação estrutural para as unidades secretórias e contém vasos sanguíneos, linfáticos e nervos. O tecido conjuntivo interlobular é espesso e contém os ductos interlobulares e os vasos sanguíneos e linfáticos mais calibrosos (MONTEIRO-RIVIERE, 2012).

O teto, ou mamilo, contém a parte terminal do sistema ductal. O seio lactífero é contínuo com a cisterna do teto (MONTEIRO-RIVIERE, 2012). A mucosa do teto circunda a cisterna do teto, que é preenchida com leite durante a lactação. A cisterna do teto é contínua à cisterna da glândula, porém entre elas há demarcação distinta por uma estrutura anelar. Esse anel contém uma veia de grande calibre que circunda a base do teto e, ocasionalmente, é denominado anel venoso de Furstenberg. Na extremidade distal do teto, conectando a cisterna do teto à parte externa, encontra-se o canal do teto (ducto papilar) (PUGH, 2005). A cisterna do teto se esvazia em um ou mais ductos papilares (canal do teto) que conduzem até a superfície externa. Em ruminantes, está presente um ducto papilar solitário, enquanto vários ductos papilares se abrem separadamente na superfície do teto de outras espécies (MONTEIRO-RIVIERE, 2012).

2.3 PERÍODO SECO

A regressão que ocorre quando a lactação termina varia entre as espécies. Todas as espécies reduzem a área de epitélio secretor e aumentam a quantidade relativa de estroma da glândula. Em ovelhas, a involução dura cerca de quatro semanas (FOSTER,

2013). O período seco em ruminantes é dividido em três fases: período de involução ativa, período de involução gradual e o período de colostrogênese e lactogênese (HURLEY, 1999). As alterações na composição da secreção mamária que ocorrem durante os estágios iniciais da involução indicam rápidas mudanças estruturais na glândula e nos mecanismos envolvidos na secreção e síntese láctea (BLAGITZ et al., 2008 apud HOLST et al., 1987, OLIVER & SORDILLO, 1989, REJMAN et al., 1989). A involução ativa inicia-se logo após o desmame, resultando em estase láctea com concomitante aumento de volume, declinando este rapidamente nas próximas semanas (SMITH & TODHUNTER, 1982, HURLEY, 1999). Estas mudanças influenciam a resposta imune local, como a redução da função fagocítica neste período (TATARCZUCH et al., 1997). No entanto, a variação na susceptibilidade também pode ser influenciada pela habilidade da secreção mamária de inibir o crescimento bacteriano (DUTT et al., 1986).

A fisiologia do período seco diverge bastante com a do período lactacional (HURLEY, 1999), sendo que após a secagem o úbere continua a sintetizar e secretar leite ocorrendo acúmulo máximo no segundo e terceiro dia após a secagem (NICKERSON, 1989). Todavia, durante o início deste período há um acúmulo de fluídos e concomitante aumento de componentes antibacterianos, leucócitos, imunoglobulinas e lactoferrina na tentativa de reduzir o volume de leite produzido (SMITH & TODHUNTER, 1982). A composição da secreção mamária é importante em termos da presença de fatores que conferem resistência a glândula mamária durante este período. Mudanças na composição podem refletir mudanças em funções celulares que ocasionam implicações na resistência da glândula mamária (TATARCZUCH et al., 1997).

2.4 DIFERENÇA HISTOLÓGICA DA GLÂNDULA MAMÁRIA EM VÁRIAS FASES

Em um estudo das características histológicas da glândula mamária de ovelhas da raça Dubska Pramenka na Bósnia, mostrou que tecido conjuntivo intralobular forma o suporte principal dentro dos lóbulos do parênquima mamário. O tecido conjuntivo foi reduzido e o tecido lóbulo-alveolar aumentou nas glândulas mamárias de ovelhas prenhes e lactantes (KATIKA et al., 2012). O tecido conjuntivo é bem desenvolvido nas

glândulas mamárias na puberdade que segundo Nunes (1997) é a idade em que os animais iniciam a vida reprodutiva, o que corresponde nas fêmeas quando ocorre o primeiro estro e ovulação. Já os animais gestantes apresentam delgadas fibras colágenas entre os alvéolos. A proporção relativa do tecido conjuntivo diminuiu durante a gestação e nas glândulas mamárias em lactação, devido o aumento do tamanho dos alvéolos glandulares (PARAMASIVAN et al., 2014a). Sulochana (1983) registrou que o tecido conjuntivo interlobular durante o período de lactação está reduzido ao mínimo.

Nas ovelhas não lactantes o tecido conjuntivo aumenta inter-alveolar, intra e interlobulares com aparecimento de vários fibroblastos. O efeito de regressão estimula deposição de fibras de tecido conjuntivo e correspondentemente diminuiu o número de alvéolos por lóbulo, o comprimento e largura do lóbulo, o diâmetro alveolar e o diâmetro lumial nas glândulas mamárias de ovelhas durante o período seco. Estruturas conhecidas como *corpora amylacea* são vistas nas suas várias fases de formação e localizado tanto no lúmen dos alvéolos quanto no tecido conjuntivo do septo (corpos intersticiais). As concreções amylacea intersticiais aparecem nas glândulas mamárias no período de involução (KATIKA et al., 2012).

No estudo sobre a glândula mamária de ovelhas Red Madras na Índia realizado por Paramasivan et al. (2014b) revelou que os septos do tecido conjuntivo ramificaram-se a partir cápsula fibroelástica. O tecido adiposo foi abundante e rodeada os pequenos grupos de ductos nas glândulas mamárias antes e durante puberdade. Nas ovelhas prenhes e lactantes, o tecido conjuntivo foi reduzido e tecido lóbulo-alveolar foi predominantemente aumentado.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 EXAME CLÍNICO

Foram utilizados 12 pares de glândulas mamárias de ovelhas adultas, Santa Inês, Dorper e mestiças, com procedência indeterminada e fazia parte do rebanho da ovinocultura do IFPB, unidade de São Gonçalo - Campus Sousa. O Médico Veterinário da ovinocultura da própria instituição, previamente indicou as ovelhas como não lactantes e com suspeita clínica de mastite crônica com e sem secreção láctea. Essa classificação foi baseada na anamnese, e inspeção e palpação da glândula mamária. As

ovelhas foram submetidas à mastectomia total e indicadas para descarte, devido à improdutividade leiteira.

3.2 EXAME HISTOPATOLÓGICO

De 12 úberes coletados foram retirados 48 fragmentos da glândula mamária. Sendo dois fragmentos de cada glândula mamária. Estas amostras foram fixadas em formol tamponado a 10%, e enviadas para UFCG/Campus Patos. As lâminas foram preparadas pelo processo rotineiro, sendo embebidas em parafina, seccionadas a 4-6 micra, coradas por hematoxilina e eosina e observadas em microscopia óptica.

Durante a avaliação microscópica, foram observadas características e quantidades de tecido glandular, adiposo, conjuntivo, células de defesa (mononucleares e polimorfonucleares) e *corpora amylacea*, bem como, suas distribuições e organizações entre o parênquima e o estroma. Estes caracteres foram classificados por comparação como discreto, moderada e acentuada. Esta classificação direcionou outra classificação, que considerou o padrão de atividade de cada metade mamária, como ativa, inativa e fibrose.

O padrão ativo foi definido quando havia parênquima glandular com os lóbulos amplos e alvéolos desenvolvidos, revestidos por células epiteliais alveolares com limites indistinguíveis e citoplasma não corado, e com material eosinofílico (secreção glandular) no lúmen, com grau de discreto ou moderado de tecido conjuntivo e tecido adiposo. O inativo foi definido com parênquima glandular com lóbulos menores, alvéolos fechados, presença parcial de material no lúmen, e com moderado a acentuada presença de tecido conjuntivo interlobular e intralobular. Nos padrões ativo e inativo considerou-se, também, a intensidade de tecido adiposo e *corpora amylacea*, variando de discreto a acentuado. O padrão caracterizado como fibrose foi definido quando havia desorganização e perda da arquitetura lobular e alveolar com substituição moderada à acentuada do parênquima glandular por tecido conjuntivo imaturo a maduro.

3.3 ANÁLISE DOS RESULTADOS

A análise dos resultados foi realizada por animal, fazendo referência direta por análise estatística descritiva de cada glândula mamária e auxiliada por tabela.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme a Tabela 1, nove glândulas mostraram características condizentes com a classificação de glândula inativa (Figura 1). Como glândulas que apresentam moderada à acentuada presença de tecido glandular, com lóbulos e alvéolos com a arquitetura preservada, porém pequenos e/ou pouco desenvolvidos, com ausência parcial ou total de material no lúmen, e moderada presença de tecido conjuntivo. Katika et al. (2012), em estudo descreve a estrutura histológica da glândula mamária durante o período seco, como glândula mamária pequena e fica cercado por fibras espessas de tecido conjuntivo que aumentaram devido o efeito de involução e apresenta um nível um pouco maior de tecido adiposo e pode ser vistas células adiposas de maneira isolada ou em grupos. No interior dos alvéolos, existem pequenos corpos de caseína (*corpora amylacea*) que também pode ser vistos nos ductos ou no tecido intersticial. A diminuição do diâmetro dos alvéolos glandulares é visível durante o período seco em relação ao período de lactação. Infiltrados de células mononucleares foram vistos no tecido conjuntivo inter-alveolar, intra e interlobulares da glândula mamária no período seco (KATIKA et al., 2012).

Tabela 1. Classificação de acordo com padrão microscópico das glândulas mamárias direitas e esquerdas de ovelha não lactantes.

Animal	Glândula Mamária	
	Direita	Esquerda
01	Glândula Ativa	Glândula Inativa
02	Fibrose	Fibrose
03	Glândula Inativa	Fibrose
04	Glândula Inativa	Glândula Ativa
05	Glândula Inativa	Glândula Inativa
06	Glândula Ativa	Glândula Ativa
07	Glândula Inativa	Glândula Inativa
08	Glândula Ativa	Glândula Ativa
09	Glândula Inativa	Glândula Inativa (Granuloma)
10	Fibrose	Fibrose
11	Glândula Ativa	Fibrose
12	Glândula Ativa	Glândula Ativa

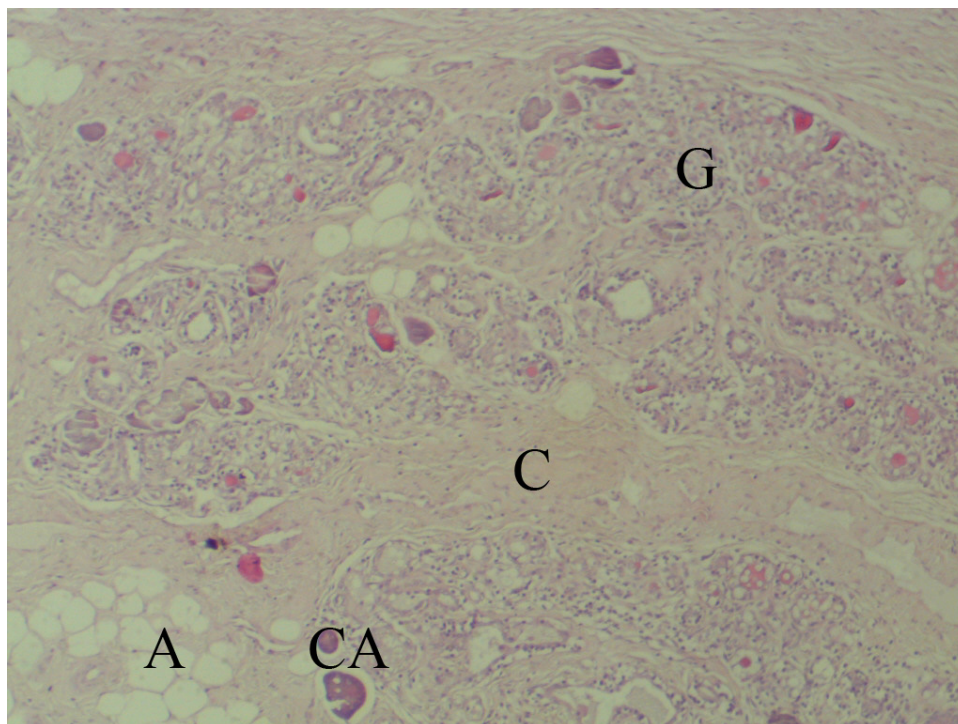


Figura 1. Glândula mamária inativa de ovelhas não lactantes. Tecido adiposo (A); tecido conjuntivo (C); *corpora amylacea* (CA); lóbulos e alvéolos glandulares (G); parênquima glandular. HE (Obj. 10x).

A glândula inativa, aqui descrita neste estudo se comparado ao descrito por Katica et al. (2012), poderia se classificar como glândula em período seco, porém mais estudos precisam ser corroborados para esta afirmação. Assim sendo, em suas características histológicas sugere que este padrão inativo podem se tornar ativo, pois a arquitetura lobular e alveolar se mantém, com ausência de alterações caracterizadas como permanente, como destruição do parênquima ou comprometimento por processos inflamatórios acentuados.

Os infiltrados celulares encontrados nas glândulas mamárias durante a pesquisa são predominantemente mononucleares (Figura 2) e foram vistos difusos no parênquima glandular, entre lóbulos e alvéolos e no tecido conjuntivo envolta dos ductos, classificada como região periductal, isso foi observado na glândula caracterizada como inativa. Porém Monteiro-Riviere (2012) diz que plasmócitos e linfócitos são comuns, particularmente na parição, ao ser secretado o colostro rico em imunoglobulinas. Um grande número de linfócitos foi visto por Lee e Lascelles (1970), no tecido conjuntivo entre dentro dos lóbulos das glândulas mamárias de ovelhas, um mês antes parição. Foram observados com bastante frequência no interior do epitélio glandular, alguns dos quais parecia estar dentro das células epiteliais, sendo um achado comum.

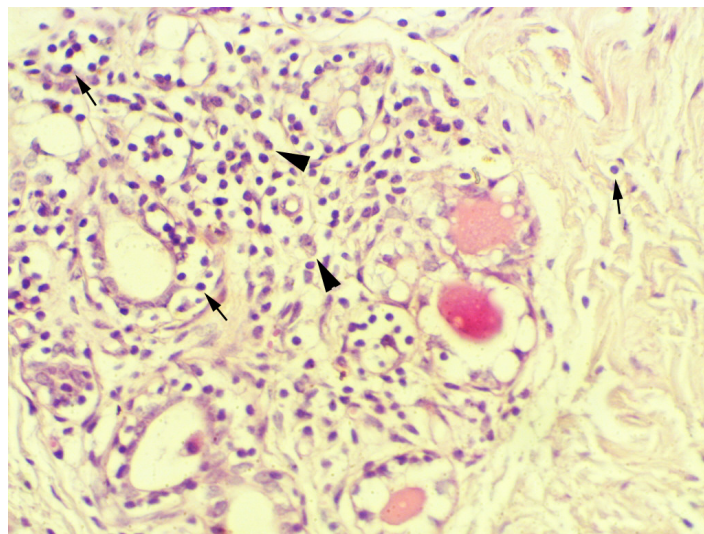


Figura 2. Glândula mamária de ovelhas não lactantes. Infiltrados celulares mononucleares intralobulares. Plasmócitos (ápice das setas); linfócitos (setas). HE (Obj. 40x).

Nove glândulas apresentaram características de glândula ativa (Figura 3). Caracterizam-se por glândulas com lóbulos e alvéolos bem desenvolvidos, alvéolos com lúmen repleto de material eosinofílico, e escasso à discreto tecido conjuntivo. No estudo realizado por Cadar et al. (2012), com ovelhas da raça Turcana, na Romênia, observou-se que tecido conjuntivo em ovelhas prenhes e lactantes se encontra reduzido e o tecido lóbulo-alveolar está predominantemente aumentado, devido ao aumento do tamanho dos alvéolos glandulares, que aumentaram devido a produção de secreção láctea. No estudo realizado por Lee e Lascelles (1970) em ovelhas da raça Merino, na Austrália, demonstrou que a concentração de células mononucleares diminuiu enquanto à estrutura glandular se desenvolve e imediatamente depois do parto, houve um aumento transitório no número de linfócitos seguido de uma nova descida, e alcançou o menor nível quatro semanas após o parto. No nosso estudo observou-se que o padrão encontrado não se enquadra com a opinião de ambos autores acima, pois as ovelhas em estudo não eram lactantes ou prenhes, porém sugere-se que esta glândula tem organização histológica de lactante.

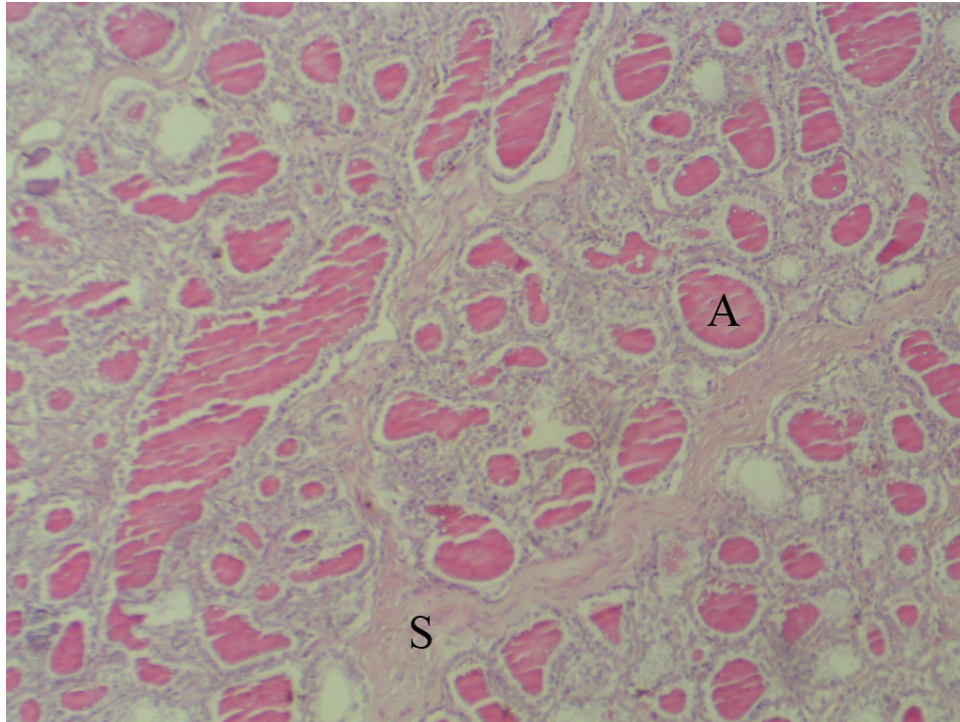


Figura 3. Glândula mamária ativa de ovelhas não lactantes. Alvéolo (A); tecido conjuntivo (S). HE (Obj. 10x).

As características de glândula com fibrose (Figura 4) aparecem em seis glândulas. A fibrose é um processo de substituição de tecido glandular por tecido cicatricial (tecido conjuntivo desorganizado), segundo Langoni (2003), a mastite crônica manifesta-se através de nodulações e fibrose no parênquima glandular, diagnosticado mediante palpação do úbere. A mastite crônica aparece como consequência de processos agudos ocorridos em lactações anteriores, os quais deixam sequelas na forma de fibrose glandular localizada e nodulações distribuídas no parênquima (VILLARROEL, 1999).

No padrão de glândula mamária com fibrose foi observado que os lóbulos glandulares foram substituídos por tecido conjuntivo e perderam a sua morfologia e arquitetura normal e em grande parte os alvéolos foram substituídos por *corpora amyalacea* e, os remanescentes lóbulos e alvéolos são pequenos e com lúmen fechado (Figura 4).

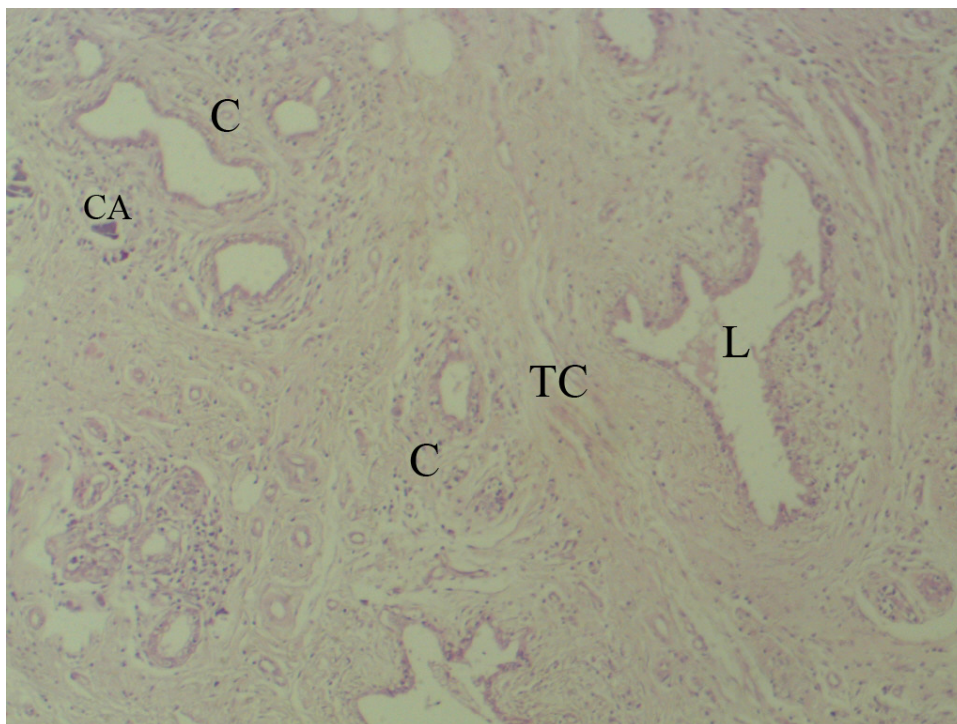


Figura 4. Glândula mamária com fibrose de ovelhas não lactantes. Tecido conjuntivo (TC); tecido conjuntivo de substituição nos lóbulos glandulares (C); ducto interlobular (L). HE (Obj. 10x).

Das 12 ovelhas não lactantes e diagnosticadas clinicamente com mastite crônica com ou sem secreção, os aspectos histológicos de tecido glandular, adiposo, conjuntivo, células de defesa (mononucleares e polimorfonucleares) e *corpora amylacea*, bem como, suas distribuições e organizações entre o parênquima e o estroma, sendo classificados como acentuado, moderado e discreto está demonstrado nas Figuras 5-9.

Na Figura 5, podem-se observar graus variados da presença e distribuição de tecido glandular. Apresentando variações nos tamanhos e organizações dos lóbulos e alvéolos, e no material eosinófilico no lúmen dos alvéolos, correspondendo à secreção glandular.

Na Figura 6 estão demonstradas as imagens semelhantes à observados na Figura 5, porém leva em consideração à quantidade e distribuição do tecido conjuntivo da glândula, o estroma. Observa-se que o estroma se distribui em regiões intralobulares e interlobulares ou preenchendo os espaços, antes ocupados por lóbulos e alvéolos.

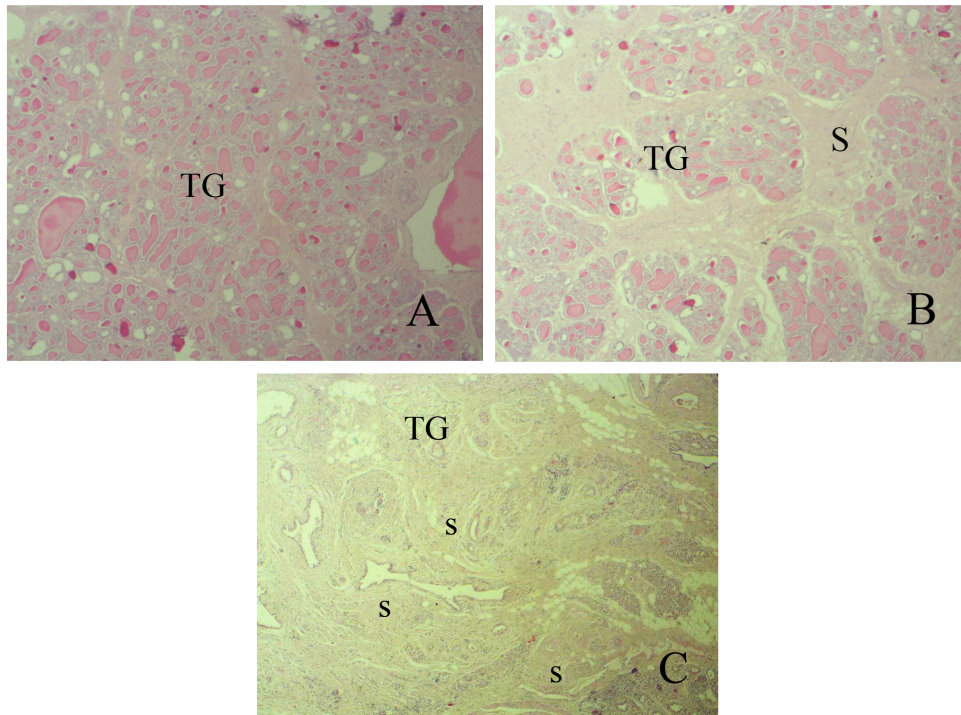


Figura 5. Glândula mamária de ovelhas não lactantes. Graus de tecido glandular (TG). A- Acentuado tecido glandular; B- moderado tecido glandular; C- discreto tecido glandular; Tecido conjuntivo (S). HE (Obj. 4x).

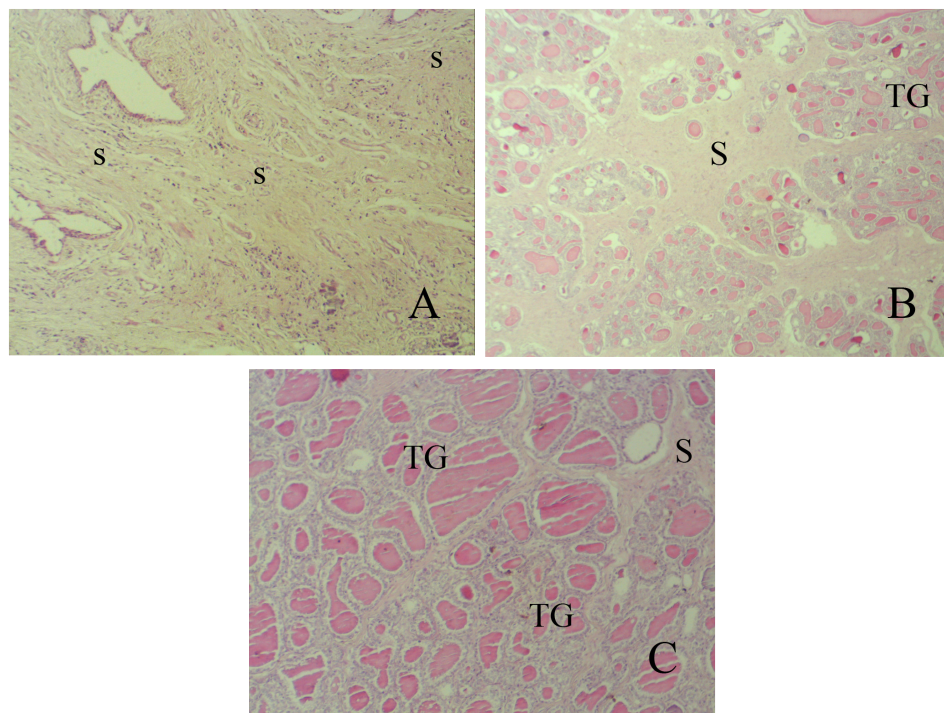


Figura 6. Glândula mamária de ovelhas não lactantes. Graus de tecido conjuntivo (S). A- Acentuado tecido conjuntivo; B- moderado tecido conjuntivo; C- discreto tecido conjuntivo. HE (Obj. 10x).

O tecido adiposo ou grupo de células adiposas associadas ao estroma da glândula aparecem em diferentes graus, aparentemente sem correlação direta à quantidade de tecido conjuntivo (Figura 7).

As estruturas conhecidas como *corpora amylacea* são corpúsculos arredondados caracterizados por material lamelar basofílico (MORALES et al., 2005). Segundo Katika et al.(2012) na glândula mamária a *corpora amylacea* é formada pela caseína, uma proteína presente no leite, rica em fósforo, capaz de ligar íons de cálcio e fundamental para a nutrição de lactentes. São observadas estas estruturas basofílicas no interior do lúmen alveolar, ou por vezes como estruturas isoladas, devido à destruição dos alvéolos, como demonstrado na Figura 8C.

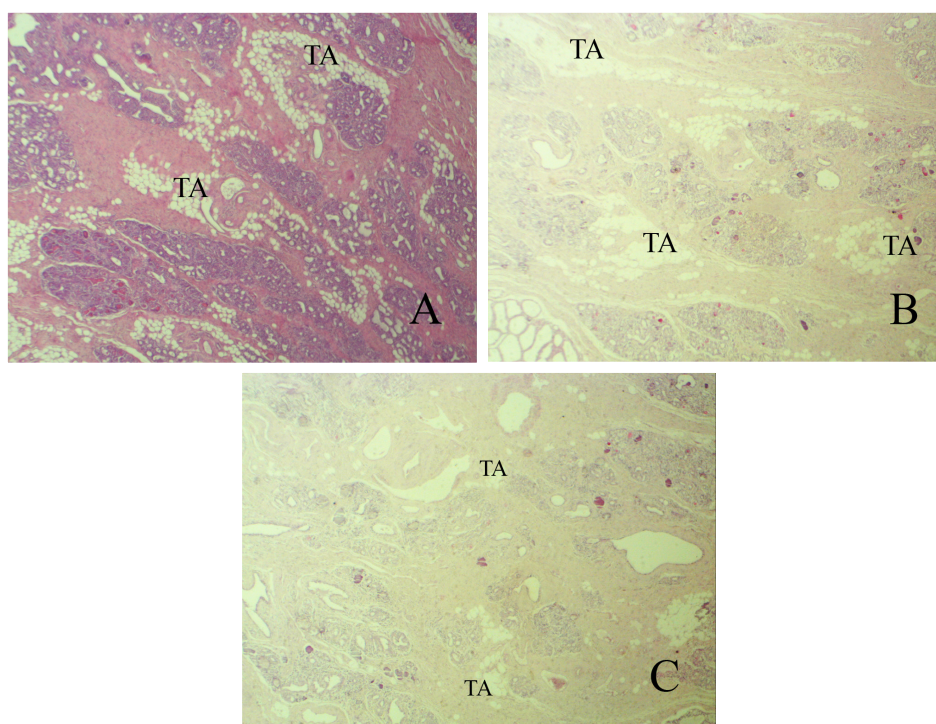


Figura 7. Glândula mamária de ovelhas não lactantes. Graus de tecido adiposo (TA). A- Acentuado tecido adiposo; B- moderado tecido adiposo; C- discreto tecido adiposo. HE (Obj. 4x).

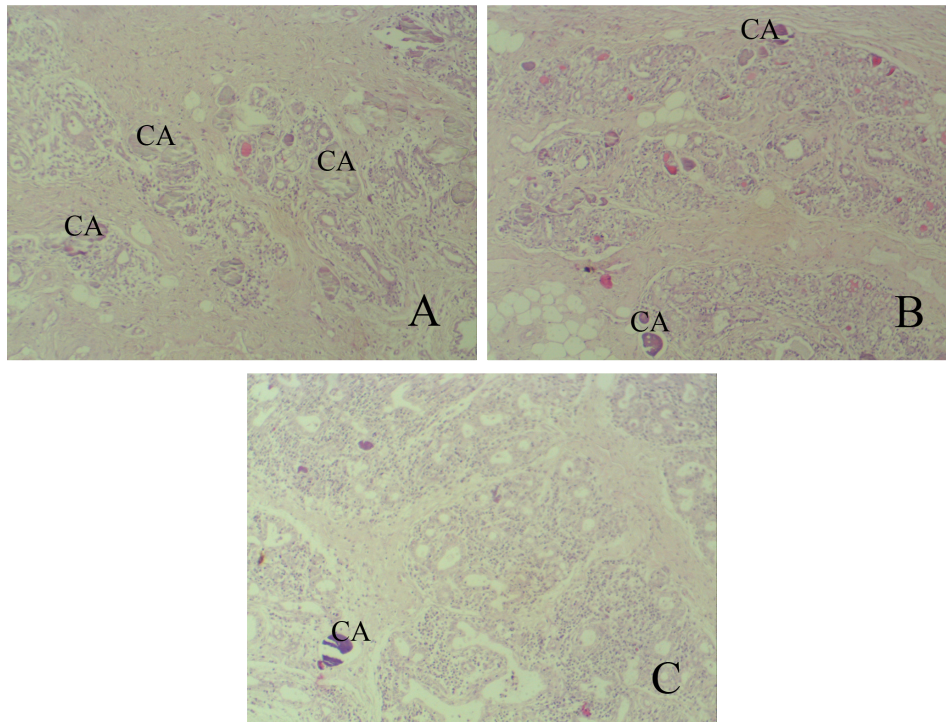


Figura 8. Glândula mamária de ovelhas não lactantes. Graus de *corpora amylacea* (CA). A- Acentuado *corpora amylacea*; B- moderado *corpora amylacea*; C- discreta *corpora amylacea*. HE (Obj. 10x).

Os achados histopatológicos em relação às células de defesa podem trazer informações importantes como indicativos de processos infecciosos agudos e crônicos, polimorfonucleares e mononucleares respectivamente, e há ainda várias variantes envolvidas, como a localização e comprometimento do tecido por células de defesa ocasionando um processo inflamatório ou não. A Figura 9 demonstra algumas dessas variantes.

Dentre as nove glândulas com características de inativa, uma delas apresentou a presença de pequenos granulomas (Figura 9A). Neste fragmento, havia acentuado infiltrado inflamatório localizado na região periductal, e comprometendo grande parte do lóbulo. Neste sugere-se um aspecto de glândula acometida por infiltrado inflamatório crônico, caracterizando uma mastite crônica com granulomas. Segundo Garcia (1991) a inflamação granulomatosa caracteriza-se pela formação de tecido de granulação de reparação. Trata-se de uma reação inflamatória crônica, na qual os granulomas produzidos são fundamentalmente constituídos por uma coleção de macrófagos circundados por tecido conjuntivo, células gigantes e linfócitos.

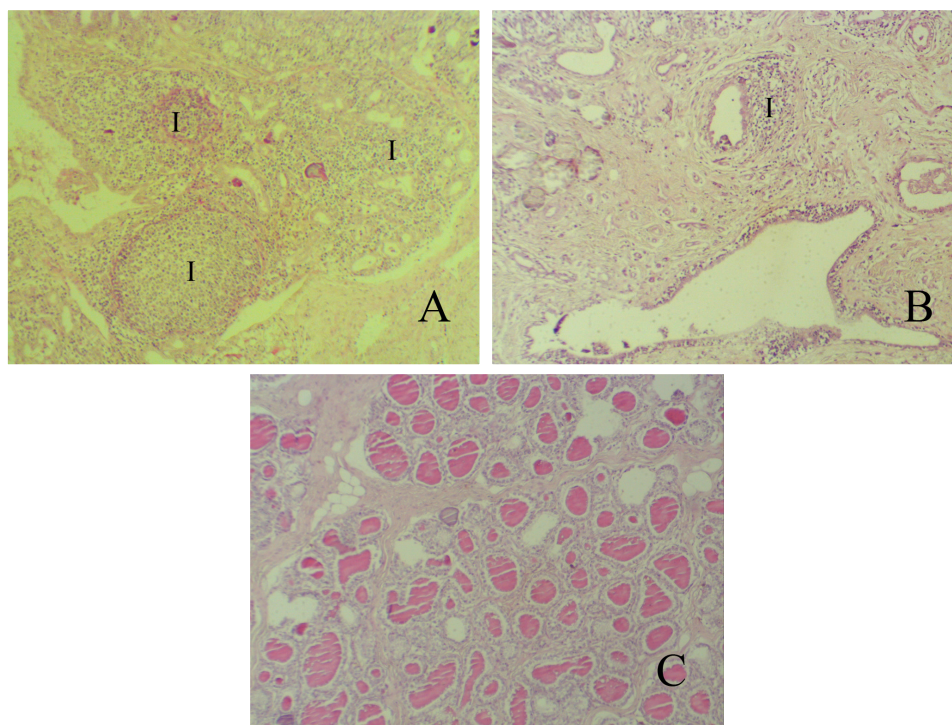


Figura 9. Glândula mamária de ovelhas não lactantes, Graus de presença e distribuição de células de defesa (I). A- Acentuada presença de células de defesa, formando processo inflamatório, granulomas; B- Moderada presença de células de defesa, na região periductal; C- Discreta presença de células de defesa, difuso pelo estroma. HE (Obj. 10x).

5 CONCLUSÃO

Os resultados apresentados sugerem que a avaliação histológica considerando a quantidade de tecido glandular, adiposo, conjuntivo, células de defesa (mononucleares e polimorfonucleares) e *corpora amylacea*, são capazes de determinar o padrão de atividade de cada glândula mamária, como ativa, inativa e fibrose. Pode se perceber que mesmo as ovelhas desse estudo terem recebido um diagnóstico clínico de mastite crônica, o infiltrado inflamatório não foi uma característica marcante para essa avaliação histológica, pois o mesmo estava presente em glândulas inativa e ativas.

Em relação à condição a suspeita clínica de mastite crônica com ou sem secreção láctea nas 12 ovelhas, das 24 glândulas houve nove com aspecto de glândula ativa e nove com aspecto de glândula inativa, caracterizando o padrão de 75% das glândulas mamárias das ovelhas não lactantes Santa Inês, Dorper e mestiças, sugerindo que estas glândulas teriam ainda fases a serem desenvolvidas, semelhante a glândula mamária normal.

Este projeto também demonstra que mais pesquisas precisam ser desenvolvidas nesta linha para melhor elucidar as alterações da glândula mamária de ovelhas deslanadas nativas da raça Santa Inês, Dorper e mestiças. Pesquisas com ovelhas em diferentes estágios da lactação precisam ser confrontados com os dados obtidos aqui neste projeto, para assim nortear uma pesquisa para que os processos patológicos que atingem as glândulas mamárias de ovelhas possam ser revertidos e remediados, assim como ocorre com as afecções mamárias que acometem os bovinos.

6 REFERÊNCIAS

BIRGEL E. H. **Semiologia da Glândula Mamária de Ruminantes**. In: FEITOSA F. L. F.; *Semiologia Veterinária - A arte do diagnóstico*. São Paulo: Editora Roca, 2004, p.353-398.

BLAGITZ M. G. **Avaliação da relação do exame físico da glândula mamária de ovelhas da raça Santa Inês com o perfil citológico e bacteriológico do leite**. 2007. 195p. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

BLAGITZ M. G.; BATISTA C. F.; GOMES V.; SOUZA F. N.; LIBERA A. M. M. P. D. Características físico-químicas e celularidade do leite de ovelhas Santa Inês em diferentes estágios de lactação. **Ciência animal brasileira**, vol.14, n.4, 2013. p. 454-461.

BLAGITZ M. G.; BATISTA C. F.; SOUZA F. N.; BENITES N. R.; MELVILLE P. A.; STRICAGNOLO C. R.; RICCIARDI M.; GOMES V.; AZEDO M. R.; SANCHES B. G. S.; LIBERA A. M. M. P. D. Perfil celular e microbiológico do leite de ovelhas Santa Inês no período lactante e pós-desmame. **Pesq. Vet. Bras.** 2008, 28(9): 417-422,

CADAR M.; MIREŞAN V.; LUJERDEAN A.; RĂDUCU C. Mammary Gland Histological Structure in Relation with Milk Production in Sheep. **Animal Science and Biotechnologies**, 2012, 45 (2).

COSTA N. A.; MENDONÇA C. L.; AFONSO J. A. B.; SOUZA M. I.; CALADO A. L.; PIRES J. R.; COUTINHO L. T.; SIMÃO L. C. V. & CAVALCANTE A. E. L. **Ocorrência de mastite em ovelhas atendidas na Clínica de Bovinos**. XXVIII Congr. Bras. Med. Vet., Salvador, BA, 2001, p. 123 (Resumo).

DUTT K. W.; EBERHART R. J. & WILSON R. A. *In vitro* growth of mastitis pathogens in mammary gland secretions of the dry and peripartum periods. **J. Dairy Sci.** 1986, 69(9): 2408-2415.

FEITOSA F. L. F. **Semiologia Veterinária: a arte do diagnóstico**. 2.ed., São Paulo: Roca, 2008. 754p.

FOSTER R. A.; **Sistema Reprodutor da Fêmea e Glândula Mamária**. In: ZACHARY J. F., MCGAVIN M. D. *Bases da Patologia em Veterinária*. Rio de Janeiro: editora Elsevier, 2ª edição, 2013, p. 1090.

FOWLER P. A.; KNIGHT C. H.; CAMERON G. G.; FOSTER M. A. In-vivo studies of mammary development in the goat using magnetic resonance imaging (MRI). **Journal of Reproduction and Fertility**, 89, 1990, p.367–375.

FRANDSON R. D.; WILKE W. L.; FAILS A. D. **Anatomia e fisiologia das glândulas mamárias**. In: _____. *Anatomia e fisiologia dos animais de fazenda*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005, p. 399-410.

GARCIA B. M.; **Higiene e Inspección de Carnes**. Volume I. Gráficas Celarayn, S.A. León, 1991.

GONZÁLEZ F. H. D. **Introdução à endocrinologia reprodutiva veterinária**. Laboratório de Bioquímica Clínica Animal-UFRGS, Porto Alegre: 2002.

HOLST B. D.; HURLEY W. L.; NELSON D. R. Involution of the bovine mammary gland: Histological and ultrastructural changes. **J. Dairy Sci.** 1987. 70:935-944.

HURLEY W. L. **Mammary gland involution and the dry period**. Lactation Biology. In: Lactation Biology Course. Department of Animal Sciences, University of Illinois. 1999, p.1-14. Disponível em: <<http://www.vet.cmu.ac.th/webmed/branch/web%20department/ck/mastitis/Dry/involution.pdf>>. Acesso em 20/12/2015.

KATICA A.; MLAĆO N.; HAMAMDŽIĆ M.; VARATANOVIĆ N.; ČENGIĆ B. Comparative Description of the Mammary Gland of Dubska Pramenka During The Dry Period and Lactation. **Biotechnology in Animal Husbandry**, 28 (4), 2012, p 723-732.

KNIGHT C. H.; PEAKER M. Development of the mammary gland. **J Reproduct Fertil.** 65(2), 1982, 521-36.

JACOBSON N. L.; MCGILLIARD A. D. Glândula mamária e lactação. In: SWENSON M. J. **Dukes fisiologia dos animais domésticos**. 10. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. P.745-749.

LANGONI H. Controle de afecções as glândulas mamárias: Aspectos etio-epidemiológicos, de diagnóstico, tratamento e profilaxia nas mastites ovinas. In: ENCONTRO DE CAPRINOVINOCULTORES DE CORTE DA BAHIA, 2003, Bahia. **Anais...** Salvador, Bahia, 2003, p.66- 80.

LEE C. S.; LASGELLES A. K. Antibody-Producing Cells in Antigenically Stimulated Mammary Glands and in the Gastrointestinal Tract of Sheep. **Aust. J. exp. Biol. med. Sci.**, 4S, 1970, p. 525-5:15.

MENDONÇA C. L.; AFONSO J. A. B.; COSTA N. A. Mastite em ovelhas. **Vet. Zootec. CRMV-PE**, Recife, 2005, 25:7.

MENZIES, P. I.; RAMANOON S. Z. Mastitis of sheep and goats. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**. v. 17, I.2, 2001, p. 333-355.

MONTEIRO-RIVIERE N. A. **Tegumentar: Glândula mamária**. In: EURELL J. A.; FRAPPIER B. L. **Histologia Veterinária de Dellmann**. Barueri-SP: editora Manole, 6^a edição, 2012, p. 340-342.

MORALES E.; POLO L. A.; PASTOR L. M. Characterization of *corpora amylacea* glycoconjugates in normal and hiperplastic glands of human prostate. **Journal of molecular histology**, v. 36, n.1, 2005, p. 235-242.

NICKERSON S. C. Resistance mechanisms of the bovine udder: implications for mastitis control at the teat end. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 1987, 191:1484-1488.

NUNES J. F.; CIRÍACO A. L. T.; SUASSUNA U. **Produção e reprodução de caprinos e ovinos.** Fortaleza. 2a ed., Editora LCR, 1997, p. 199.

OLIVER S. P.; SORDILLO L. M. Approaches to the manipulation of mammary involution. **J. Dairy Sci.** 1989, 72:1647-1664.

PARAMASIVAN S.; GEETHA R.; USHAKUMARY S.; KUMARAVEL A.; SATHYAMOORTHY O. R.; SIVAGNANAM S. Micromorphological Observations on the Ductular System of Mammary Gland in Sheep During Various Age Groups **Shanlax International Journal of Veterinary Science**, Vol.1, No.3, 2014a.

PARAMASIVAN S.; GEETHA R.; USHAKUMARY S.; KUMARAVEL A.; SATHYAMOORTHY O. R.; SIVAGNANAM S. Histological Observations on the Capsule and Connective Tissue Stroma of Mammary Gland in Madras Red Sheep (*ovisaries*). **Asian Journal of Science and Technology**, Vol. 5, Issue 5, 2014b, p. 292-294.

PUGH D. G. **Clinica de ovinos e caprinos.** São Paulo: Editora Roca, 2005, 513p.

RADOSTITIS O. M.; BLOOD, D. C.; GAY, C. C. **Veterinary medicine.** 8. Ed, London: Bailliere Tindal, 2002, 1773 p.

REJMAN J. J.; HURLEY W. L.; BAHR J. M. Enzyme-linked immunosorbent assay of bovine lactoferrin and 39 - kilodalton protein found in mammary gland secretions during involution. **J. Dairy Sci.** 1989, 72:555-560.

RIBEIRO L. C. **Produção, composição e rendimento em queijos do leite de ovelhas Santa Inês** Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras - UFLA, 2005, p. 64.

SULOCHANA S. **Histological and histochemical studies on the development of mammary glands during pregnancy in sheep**, Ph.D. Thesis, Haryana Agricultural University, Hisar. 1983.

SMITH K. L.; TODHUNTER D. A. The physiology of mammary gland during the dry period and the relationship to infection. **Proc. Annu. Meet.** Natl Mastitis Council, Arlington, VA.1982, 87p.

TATARCZUCH L.; PHILIP C.; LEE C.S. Involution of the sheep mammary gland. **J. Anat.** 190, 1997, p.405-416.

VILLARROELA C. S. **Prevalencia y factores de riesgo de algunas alteraciones crónicas de la glándula mamaria en ovinos de 20 pequeñas explotaciones de la Provincia de Valdivia, Chile.** 1999. 48f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Instituto de Ciências Clínicas Veterinárias, Universidad Austral de Chile.