



Universidade Federal de Pelotas – UFPel  
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel  
Departamento de Zootecnia



# Histopathology of dairy cows' hooves with signs of naturally acquired laminitis

Mestrando: Nicolas Conter Tavares  
Orientador : Charles Ferreira Martins

Capão do Leão - 2016

# Variação da incidência de algumas doenças de produção em vacas leiteiras

Doença	Prevalência (%)	Prevalência (%)
Febre	0,2-8	3
Cetos	,6-1	
<b>Doença</b>	<b>(1,</b>	<b>9</b>
Reten	3,1- 1	
Infecç	(2,2-	
Masti	(2,8-	2



Quais as  
consequências  
destas afecções  
podais?



# Consequências das afecções podais



- Ingestão

- Produção de leite

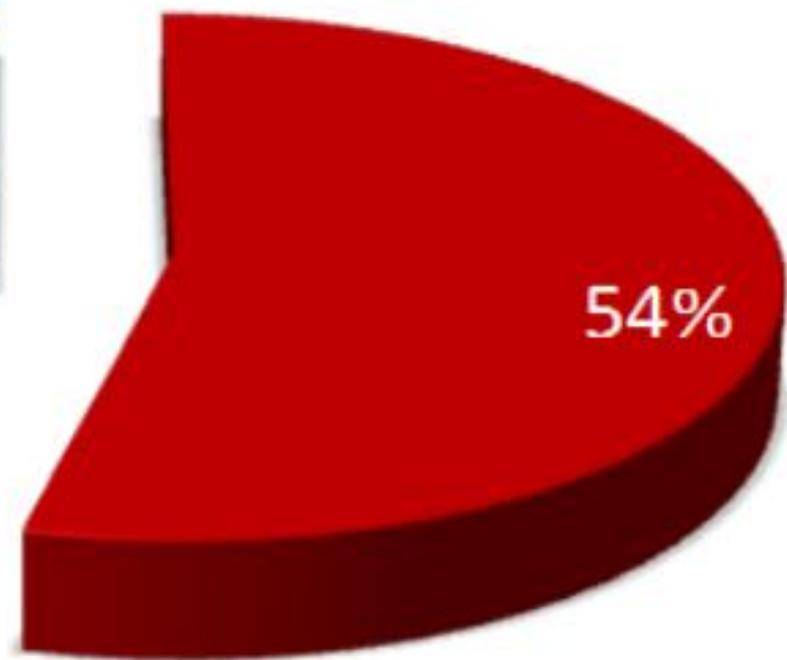
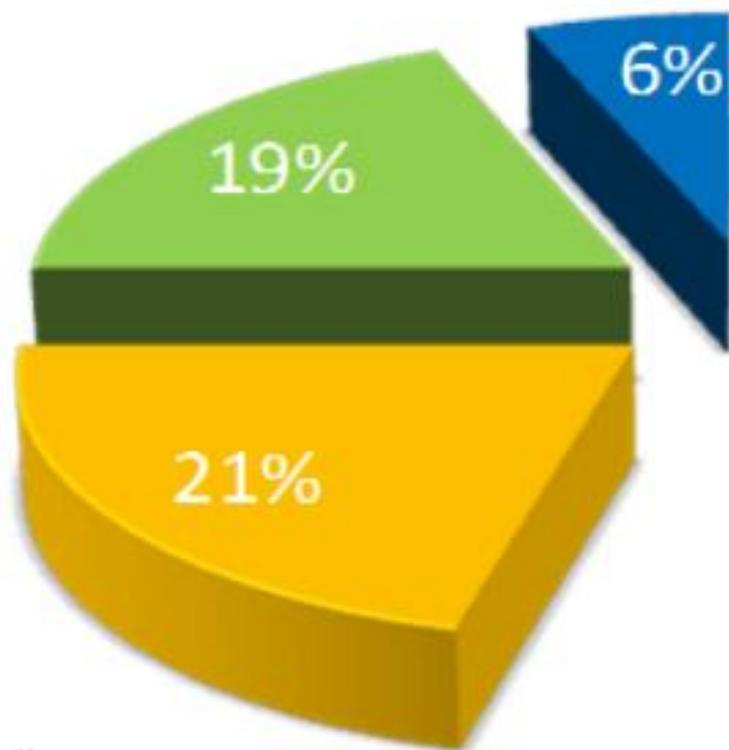
- Peso corporal

- Reprodução

- Sistema imune

- Bem-estar

- Perdas econômicas



- Descarte
- Atraso na concepção
- Perda na produção
- Custo do tratamento

Fonte: Atlas Casco em Bovinos – DIAS e MARQUES JR 2007



Hereditariedade

Superlotação

Higiene

Clima

Idade

Produção

Fatores de risco

Instalações

Traumatismos

Casqueamento

Época do ano

Genética

Fase de Lactação

Alimentação

Umidade



**FI=0,362**



ISI

**PESQUISA  
VETERINÁRIA  
BRASILEIRA**

**Brazilian Journal of  
Veterinary Research**

## Histopathology of dairy cows' hooves with signs of naturally acquired laminitis<sup>1</sup>

Helôisa M.F. Mendes<sup>2</sup>, Fernando P. Casagrande<sup>2</sup>, Ingrid R. Lima<sup>2</sup>, Cairo H. Souza<sup>3</sup>, Lillian D. Gontijo<sup>4</sup>, Geraldo E.S. Alves<sup>5</sup>, Anilton C. Vasconcelos<sup>6</sup> and Rafael R. Faleiros<sup>7\*</sup>

**ABSTRACT-** Mendes H.M.F., Casagrande F.P., Lima I.R., Souza C.H., Gontijo L.D., Alves G.E.S., Vasconcelos A.C. & Faleiros R.R. 2013. **Histopathology of dairy cows' hooves with signs of naturally acquired laminitis.** *Pesquisa Veterinária Brasileira* 33(5):613-619. Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Campus de Pampulha, Belo Horizonte, MG 31270-901, Brazil. E-mail: [faleirosufmg@gmail.com](mailto:faleirosufmg@gmail.com)

The purpose of this study was to investigate histological changes in dairy cows' hooves with or without injuries from naturally acquired laminitis. Cull cows with no clinical signs of hoof abnormalities (G1, n=9) and those with macroscopic lesions associated with laminitis without (G2, n=23) or with lameness (G3, n=7) were used in the study. After slaughter, samples of dermo-epidermal junctions of sole, axial and dorsal regions of the hoof were obtained and histologically processed using HE and PAS staining. Congestion, hemorrhage and inflammatory infiltrate in the dermis of sole, axial and dorsal regions were blindly and semiquantitatively evaluated by the same researcher. Inflammatory infiltrate was evaluated in the dermal laminae of axial and dorsal regions. The morphology of epidermal cells and the presence of irregularities in three regions of the basement membrane (BM) length were examined using PAS staining. Scores of lesions in different regions of the hoof in the same group and in different groups for each region of the hoof were compared using non-parametric analyses. Inflammatory infiltrate in the dermis of all regions of the hoof was detected in all groups with no significant statistical difference. Cows with no clinical signs of hoof abnormalities secondary to laminitis (G1) have inflammation scores and epidermal cell changes similar to those of groups with laminitis injuries, suggesting the existence of a prodromal phase for this disease in bovines. HM had irregularities with a variable intensity along its length, however, with no difference among groups. The pattern of BM irregularities found has not been reported so far and does not resemble the BM collapse described in horses and cattle with induced acute laminitis. It is concluded that even in the absence of macroscopic hoof signs associated to laminitis, dairy cows have histological injuries compatible with inflammation of the dermo-epidermal junction as in affected animals. Basement membrane of cows with or without laminitis associated lesions had irregularities with an irregular distribution along its length which need to be further studied.

**INDEX TERMS:** Laminitis, lameness, hoof, dermo-epidermal junction, cattle.

<sup>1</sup> Received on March 4, 2013.

Accepted for publication on March 26, 2013.

<sup>2</sup> Doctoral candidate, Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias, Escola de Veterinária (EV), Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Av. Antônio Carlos 6627, Cx. Postal 567, Campus Pampulha da UFMG, Belo Horizonte, MG 30123-970, Brazil. E-mail: [heloisamfczo@hotmail.com](mailto:heloisamfczo@hotmail.com), [passoncasagrande@hotmail.com](mailto:passoncasagrande@hotmail.com), [ingridvet@hotmail.com](mailto:ingridvet@hotmail.com)

<sup>3</sup> Doctoral candidate, EV-UFMG, Belo Horizonte, MG. E-mail: [cairo\\_henrique@hotmail.com](mailto:cairo_henrique@hotmail.com)

<sup>4</sup> Veterinarian, Rua Fagundes Varela 1.791, Apto 201, Bairro São José, Divinópolis, MG 35501-203, Brazil. E-mail: [liligneto@gmail.com](mailto:liligneto@gmail.com)

<sup>5</sup> Associate Professor, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Escola de Veterinária (EV), Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Cx. Postal 567, Campus Pampulha da UFMG, Belo Horizonte, MG 30123-970, Brazil. E-mail: [gscufmg@gmail.com](mailto:gscufmg@gmail.com)

<sup>6</sup> Associate Professor, Departamento de Patologia Geral, Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, Av. Antônio Carlos 6627, Belo Horizonte, MG 31270-901. E-mail: [anilton@ich.ufmg.br](mailto:anilton@ich.ufmg.br)

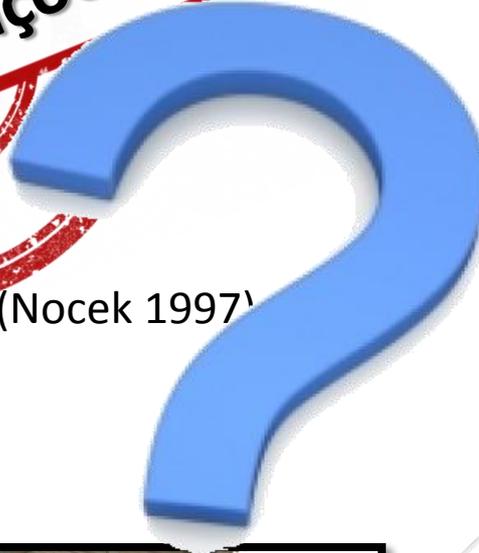
<sup>7</sup> Full Professor, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, EV-UFMG, Avenida Antônio Carlos, 6627, Caixa Postal 567, Belo Horizonte, MG 30123-970, Brazil. Research fellow of CNPq. \*Corresponding author. [faleirosufmg@gmail.com](mailto:faleirosufmg@gmail.com)

# Laminite



62% claudicações

(Nocek 1997)



Até  
1.5 Kg  
leite/dia

(Warnick et al. 2001)



(Flor & Tadich 2008,  
Silveira et al. 2009)



(Ferreira 2003)



- 1
- 2
- 3
- 4
- 5
- 6
- 7
- 8
- 9
- 10
- 11
- 12
- 13
- 14

ACID

Saco dorsal

NEUTRAL

ALKALI

Bófago

Bóculo

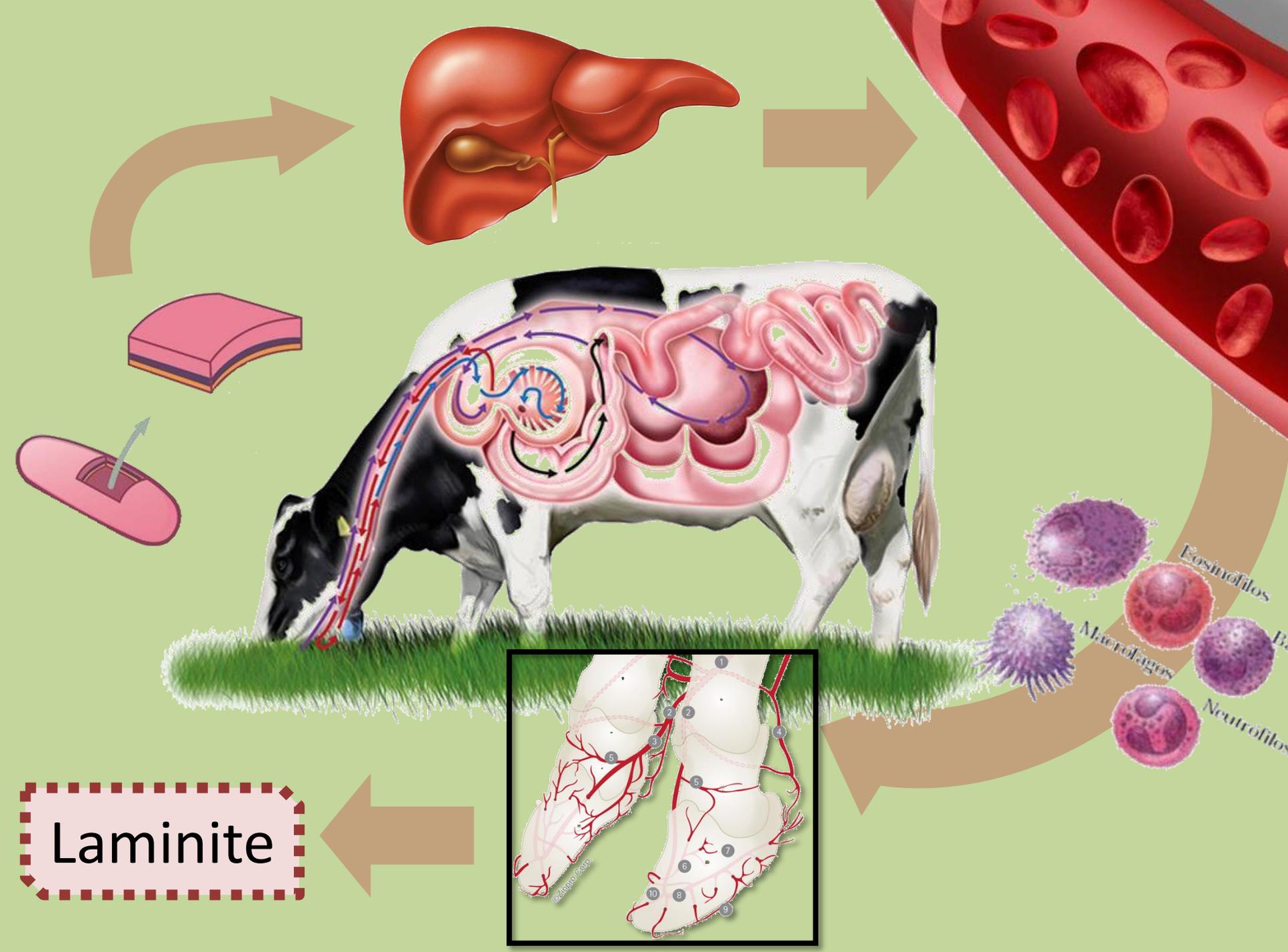
Alimento

Saco cranial

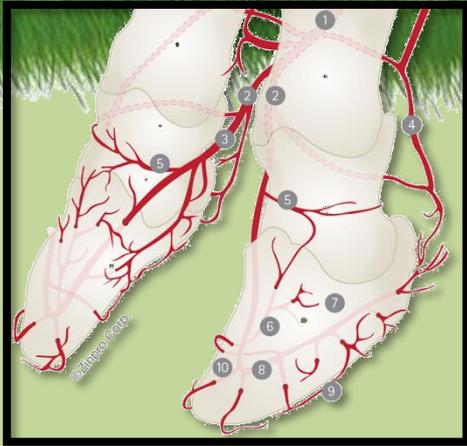
Saco ciego caudodorsal

Saco ciego caudoventral



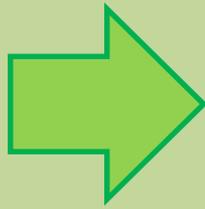


Laminite

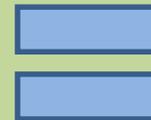
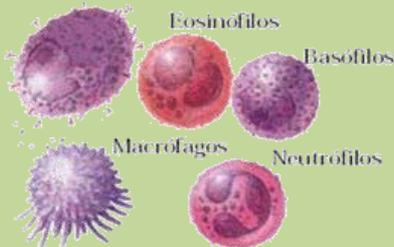
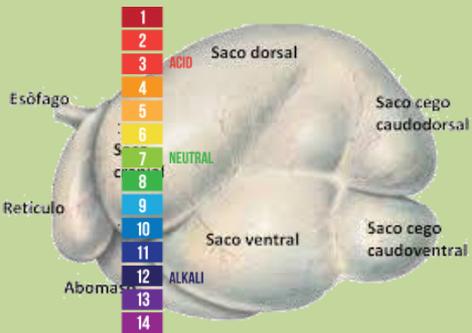
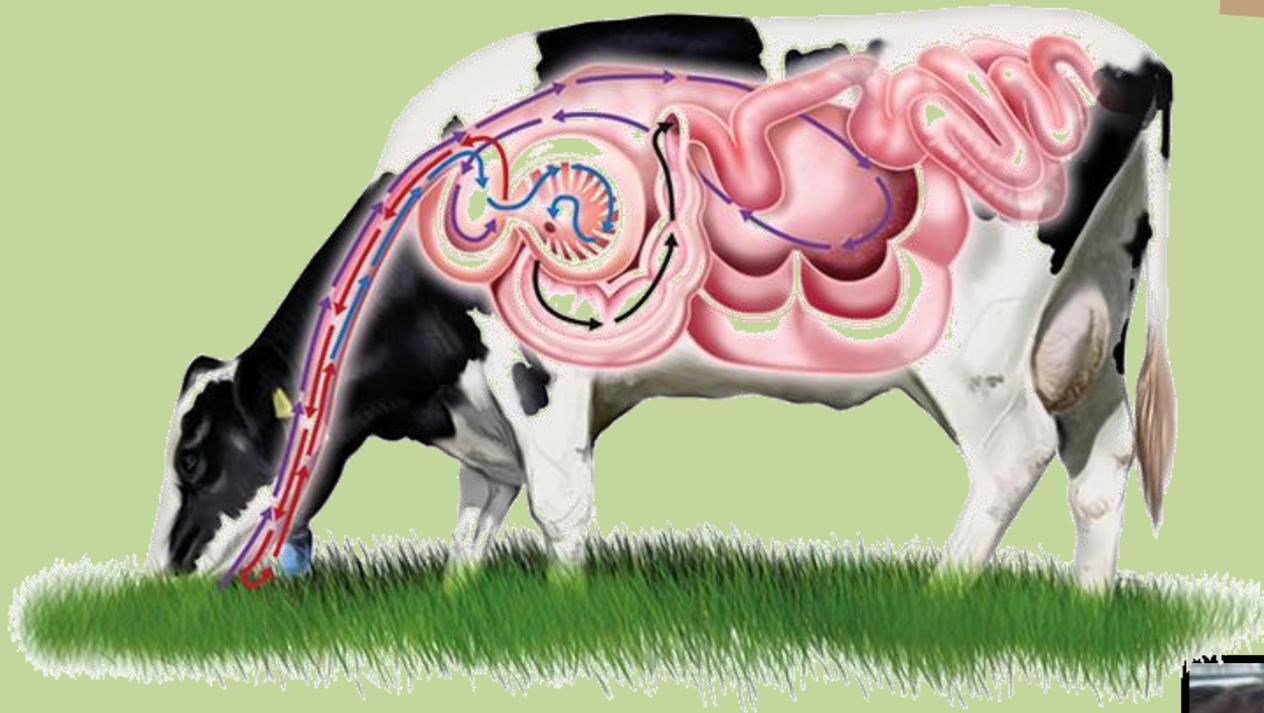
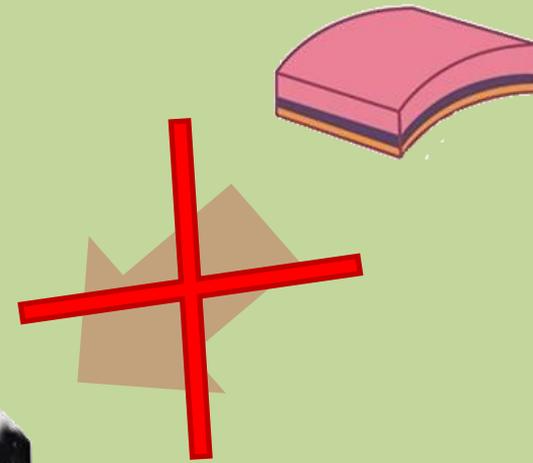


# Condições experimentais

Acidose ruminal

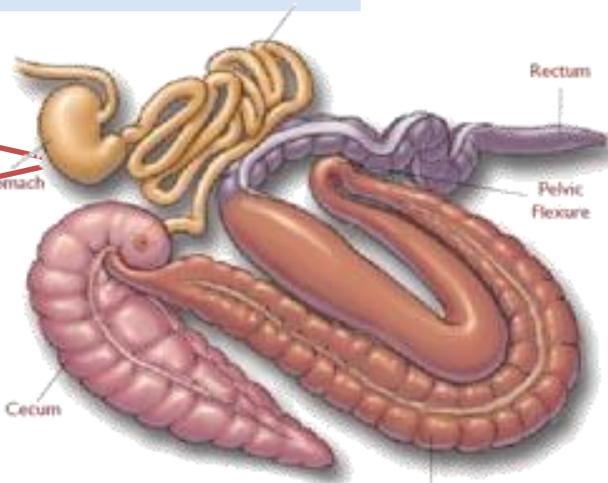


Resposta Inflamatória

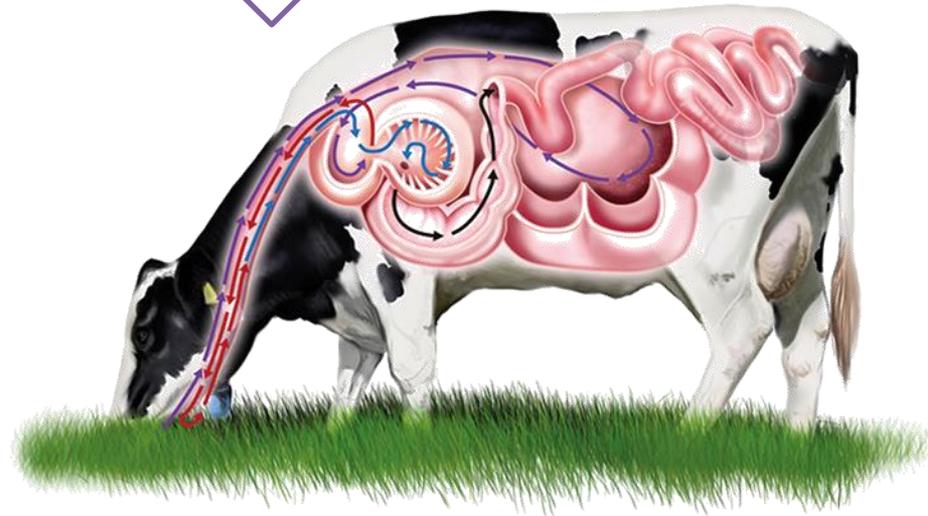




**Síndrome da  
Resposta  
Inflamatória  
Sistêmica  
(SIRS)**



**OLIGOFRUTOSE**



**Alterações  
Histológicas**

**Inflamação  
Alteração de células epidermais  
Alteração da MB**

Quais alterações ocorrem em animais naturalmente afetados em reais condições de manejo?

Animais com laminite naturalmente adquirida tem lesões semelhantes a animais com laminite induzida?

# Proposta

Detectar e comparar danos histológicos na junção derme-epiderme da sola, das regiões dorsal e axial do casco de vacas leiteiras de descarte com e sem sinais clínicos de laminite naturalmente adquirida.



- 39 vacas de descarte
- Mesmo rebanho
- 10 a 12 semanas
- Alimentação
- 83:17

13kg silagem de milho  
10kg cana de açúcar  
4 kg ração comercial  
800g caroço de algodão



# Exame clínico de 15 a 40 dias antes do abate

## Lesões associadas à laminite

01 Hemorragia de sola	07 Alargamento da linha branca	13 Sola macia e amarelada
02 Hemorragia na linha branca	08 Fissuras na linha branca	14 Sola dupla
03 Hemorragia na parede do casco	09 Doença da linha branca	15 Fenda na muralha
04 Hemorragia no talão	10 Abscesso de sola	16 Casco em tesoura
05 Úlceras de sola	11 Abscesso de talão	17 Casco em saca rolha
06 Úlceras de pinça	12 Abscesso de linha branca	18 Linhas de estresse

(NOCEK, 1997; MÜLLING, 2002; FERREIRA, 2003; NICOLETTI, 2004; GREENOUGH, 2007)



### G1

Sem lesões  
Sem claudicação  
N=9

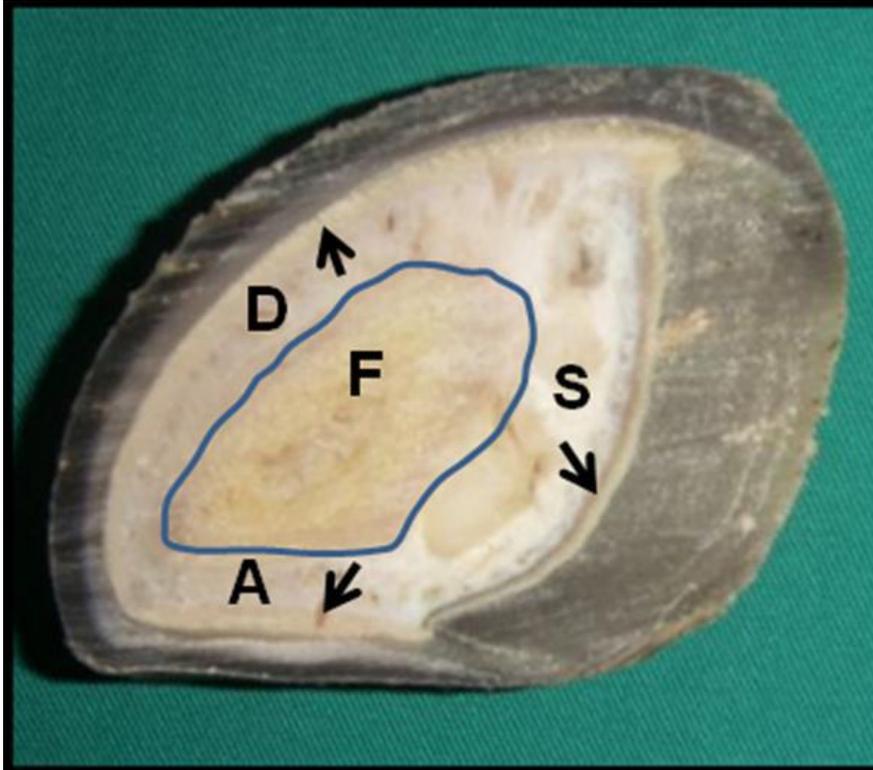
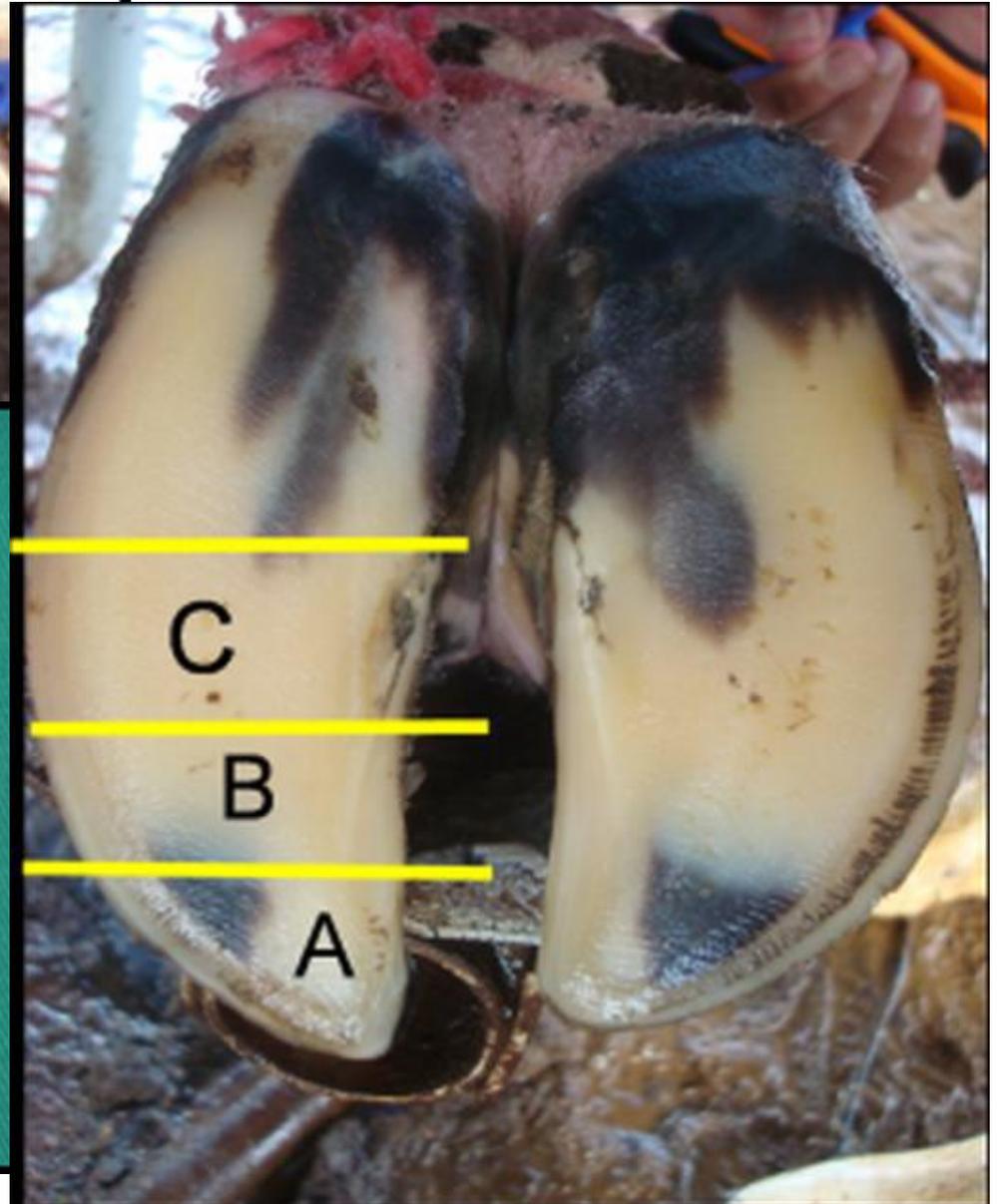
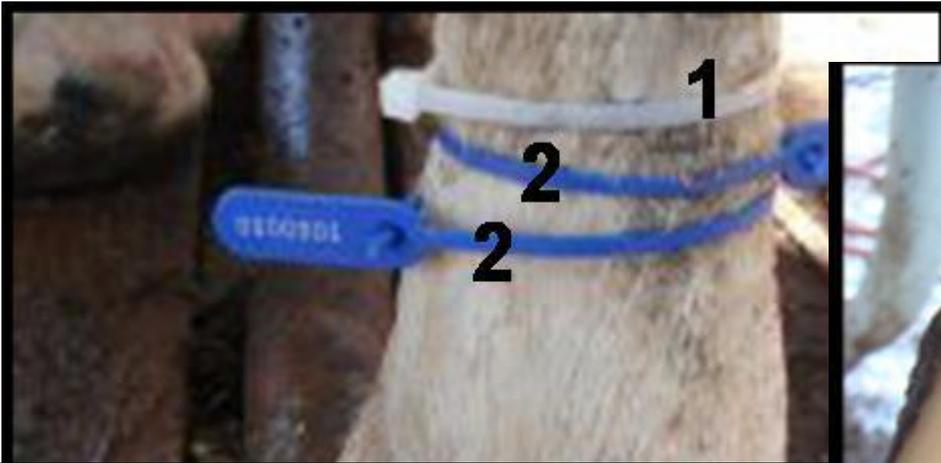
### G2

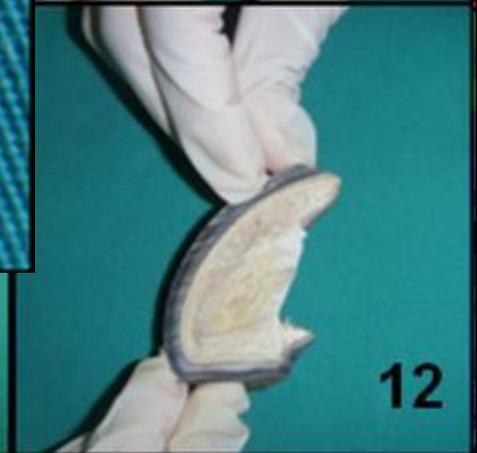
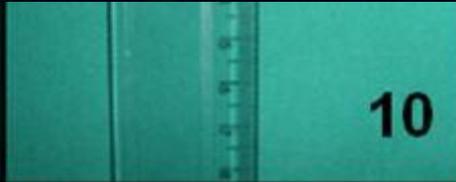
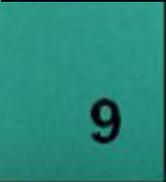
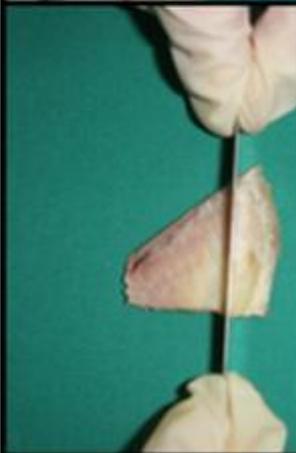
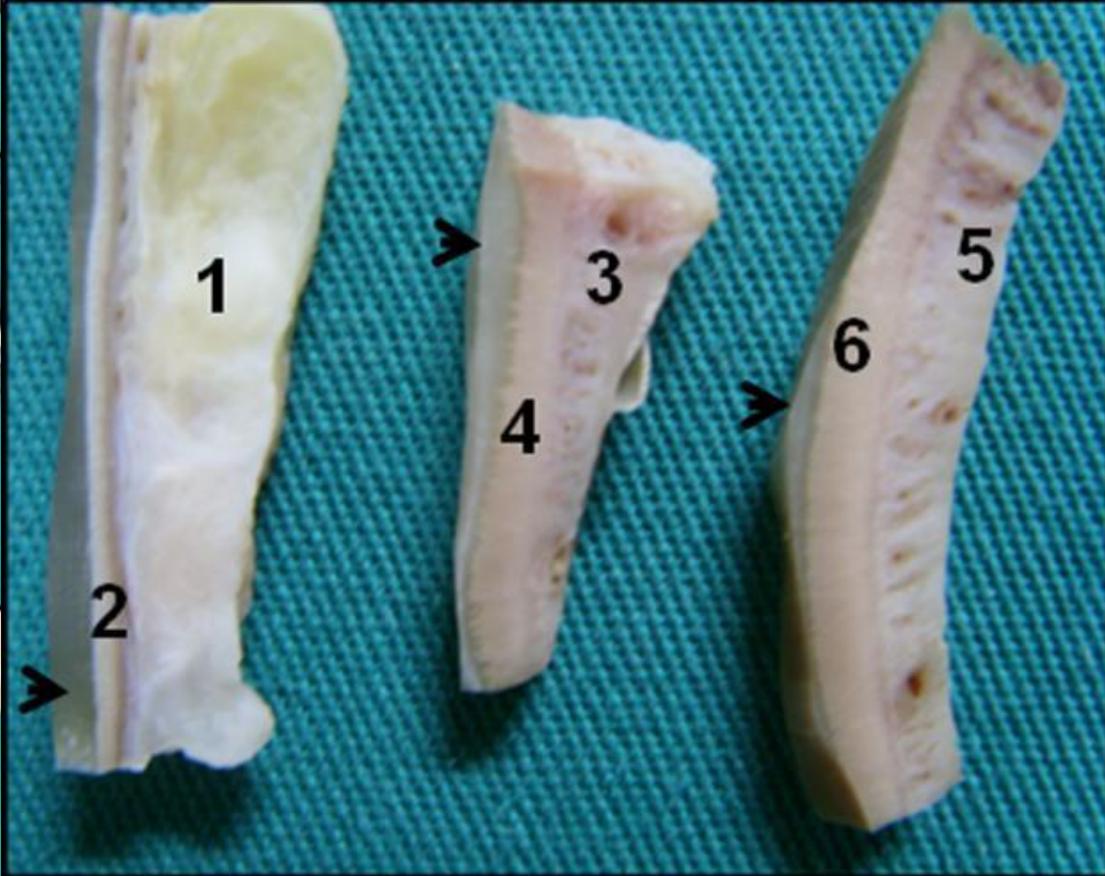
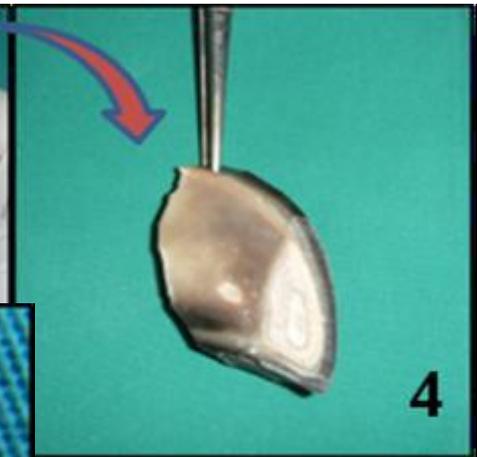
Com lesões  
Sem claudicação  
N=23

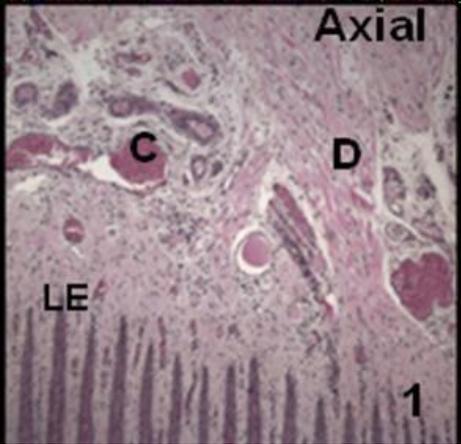
### G3

Com lesões  
Com claudicação  
N=7









# HE

- Avaliação da estrutura celular e tecidual
- Congestão
- Hemorragia
- Infiltrado inflamatório
- Sola e regiões axial e dorsal

## Escore Infiltrado Inflamatório

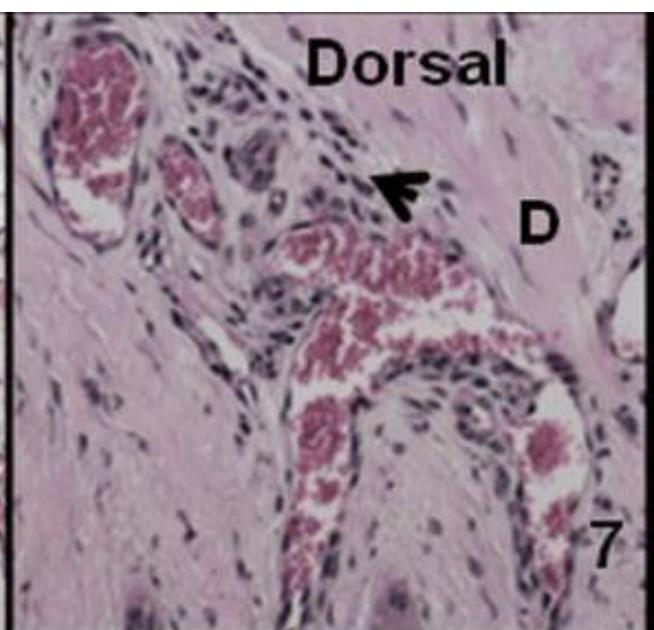
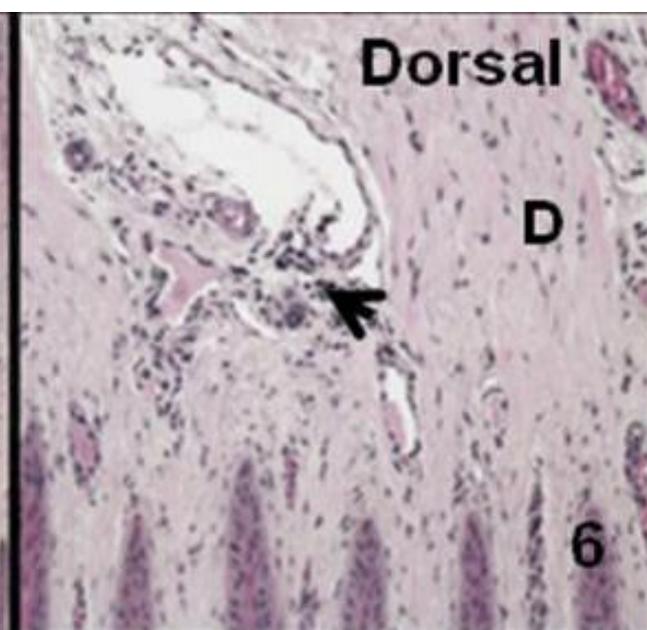
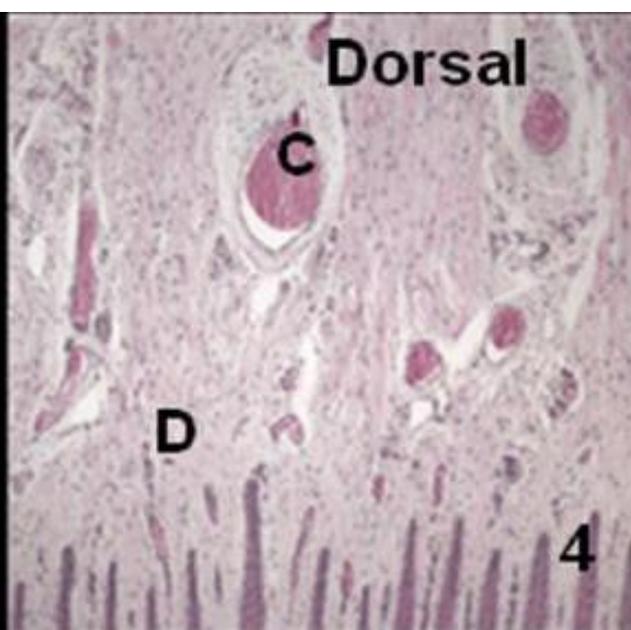
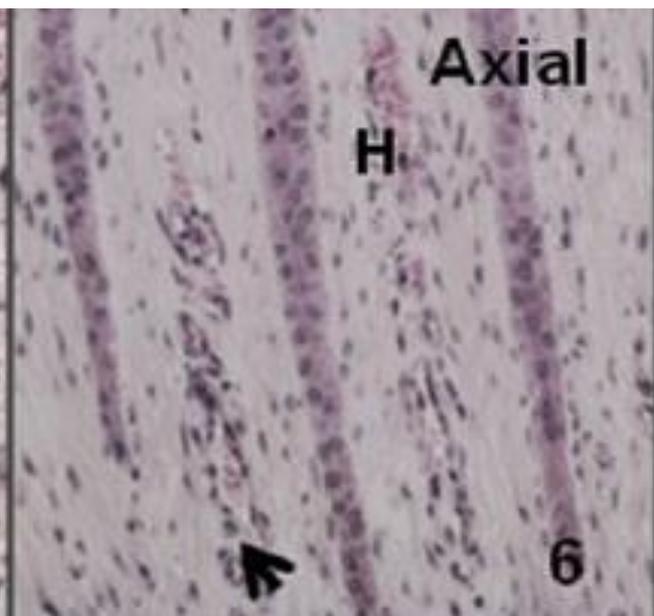
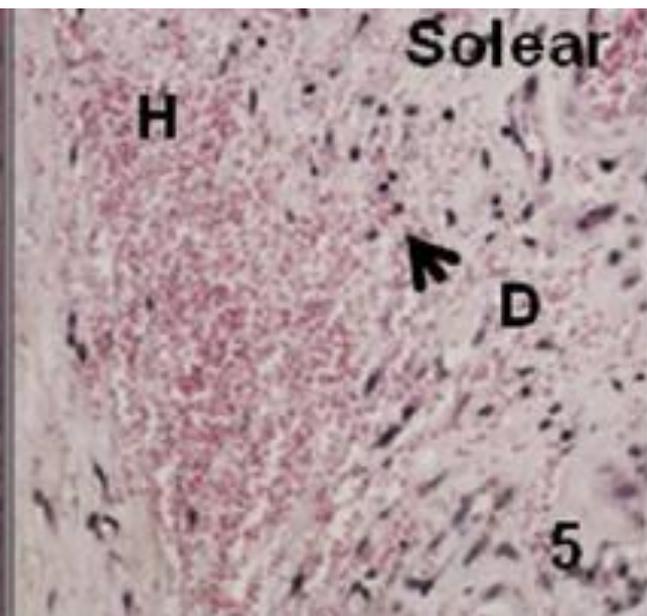
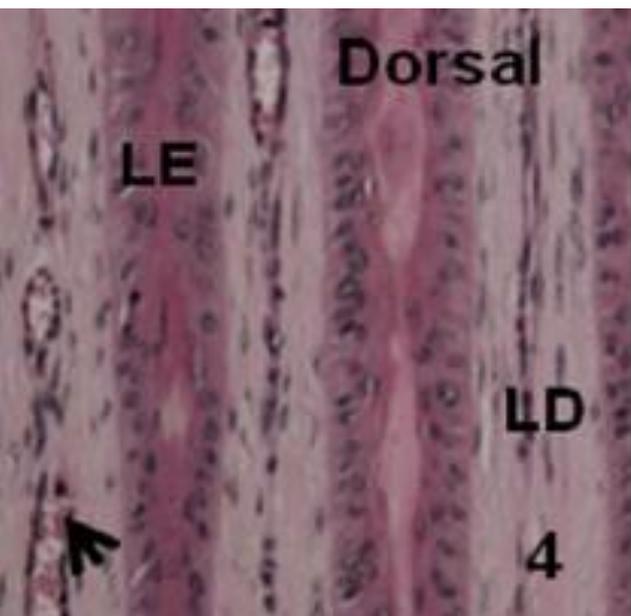
0 – ausente

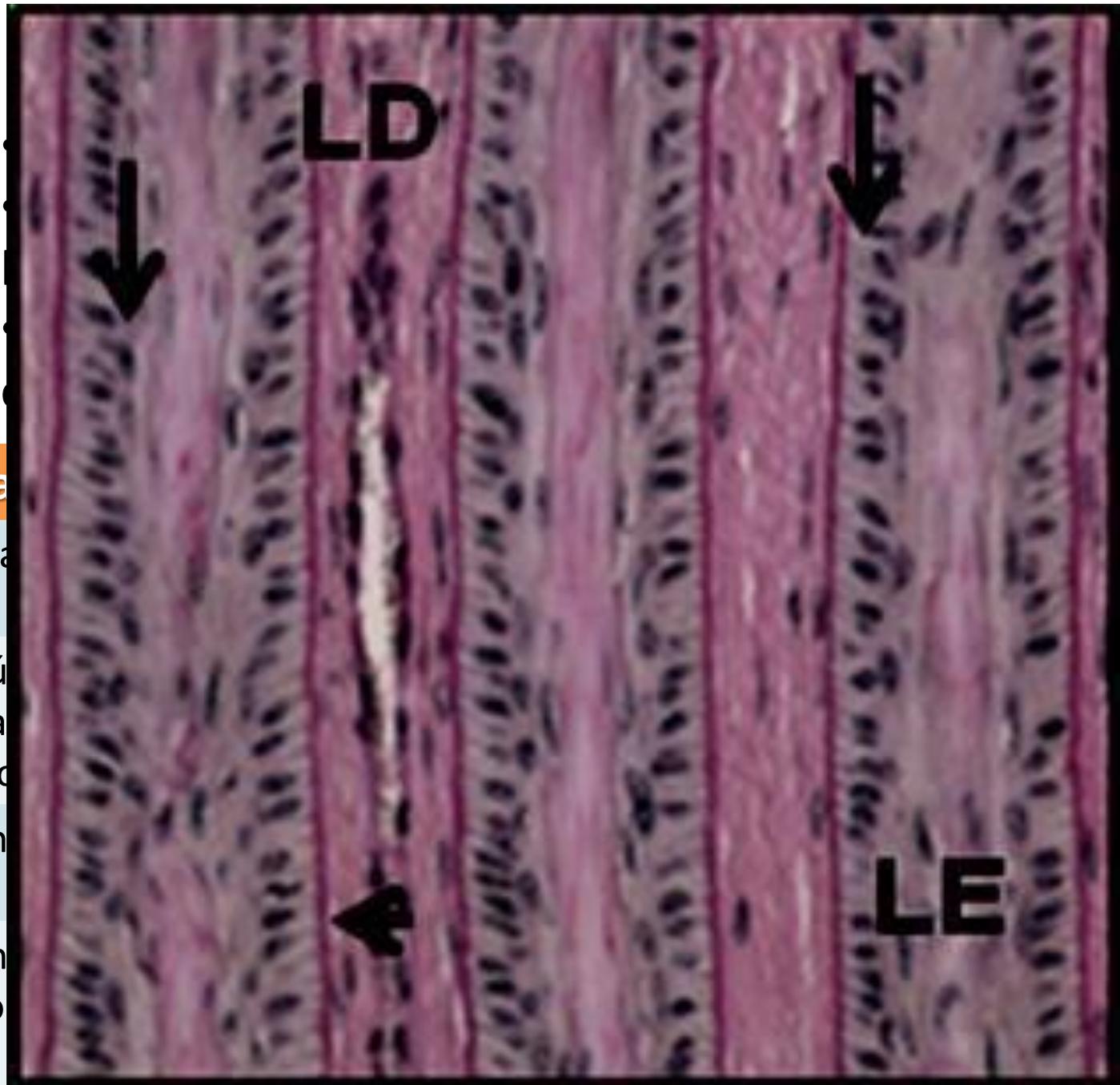
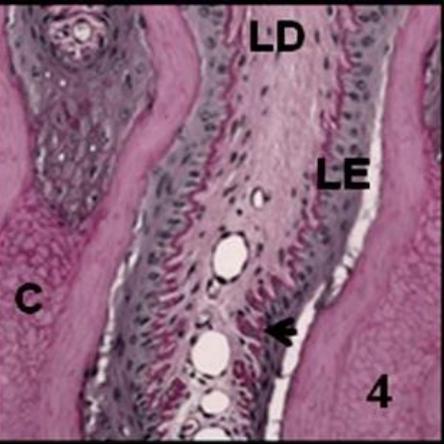
1 – discreto

2 – leve

3 – moderado

4 – marcado





## Escore Célula

0 – Núcleo ovalado na base da MB.

1 – 50% com núcleos arredondados e 50% com núcleos achatados.

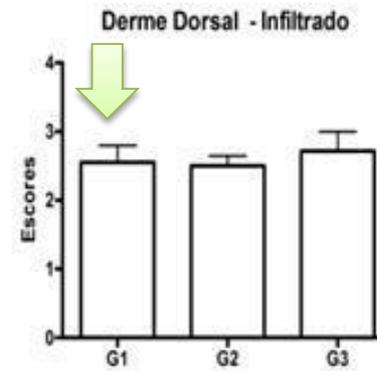
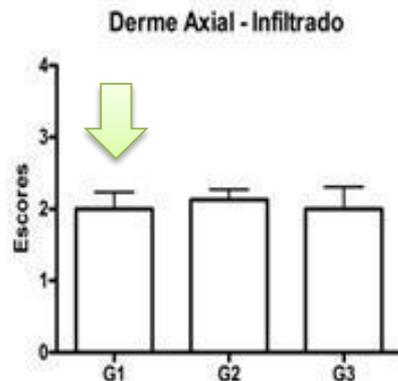
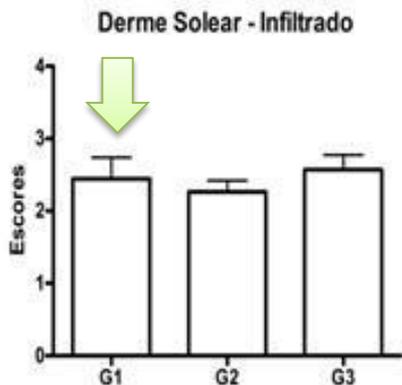
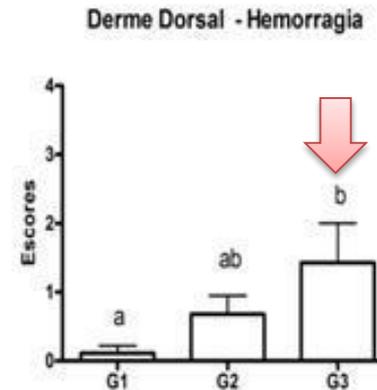
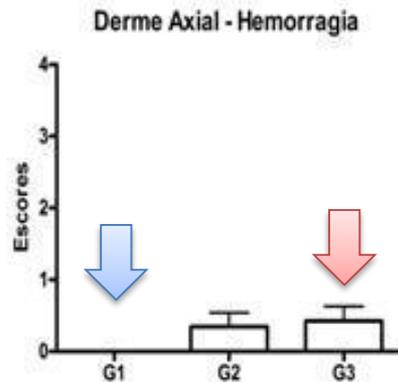
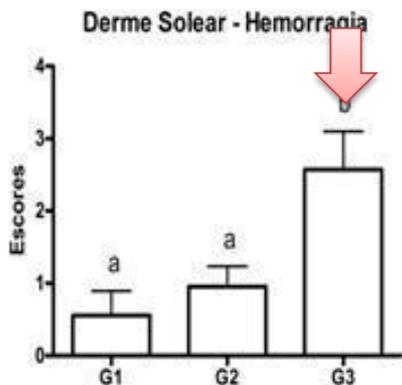
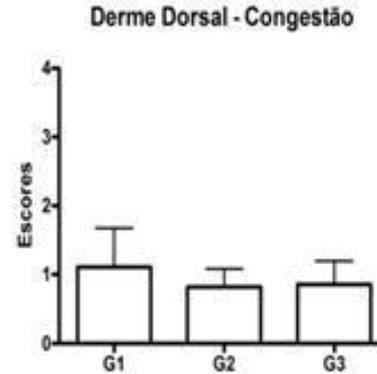
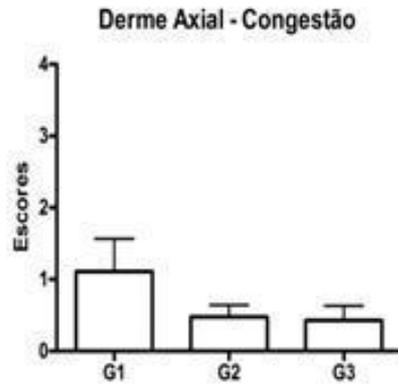
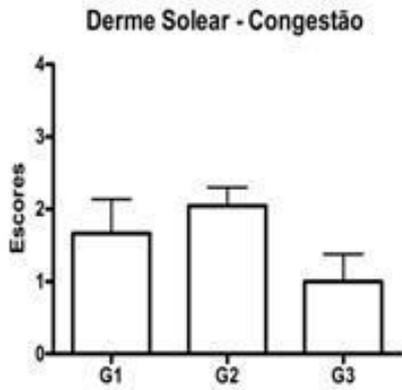
2 – Predominância de núcleos arredondados.

3 – Predominância de núcleos achatados e alguns núcleos .

## Análise estatística:

- Comparação entre os grupos:
  - Teste de Kruskal-Wallis.
- Comparação entre regiões de cada grupo:
  - Teste de Friedmann.
- Ambas análises foram seguidas do teste de Dunn.
- Para todos os testes o nível de significância foi considerado como  $P < 0.05$ .

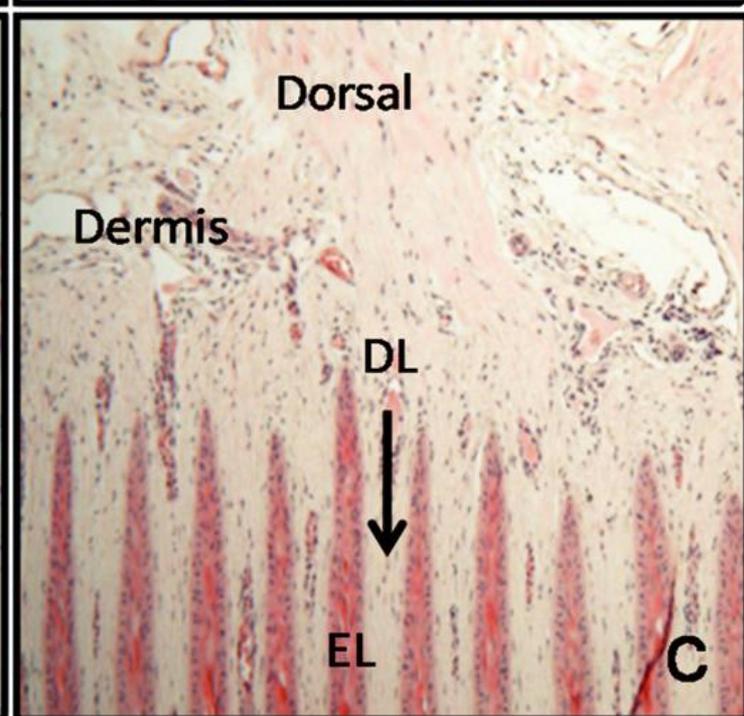
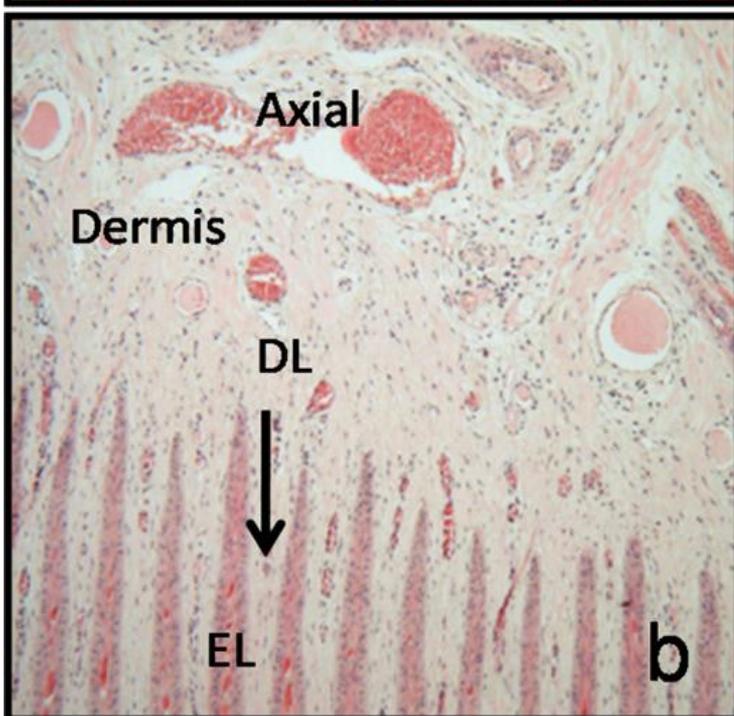
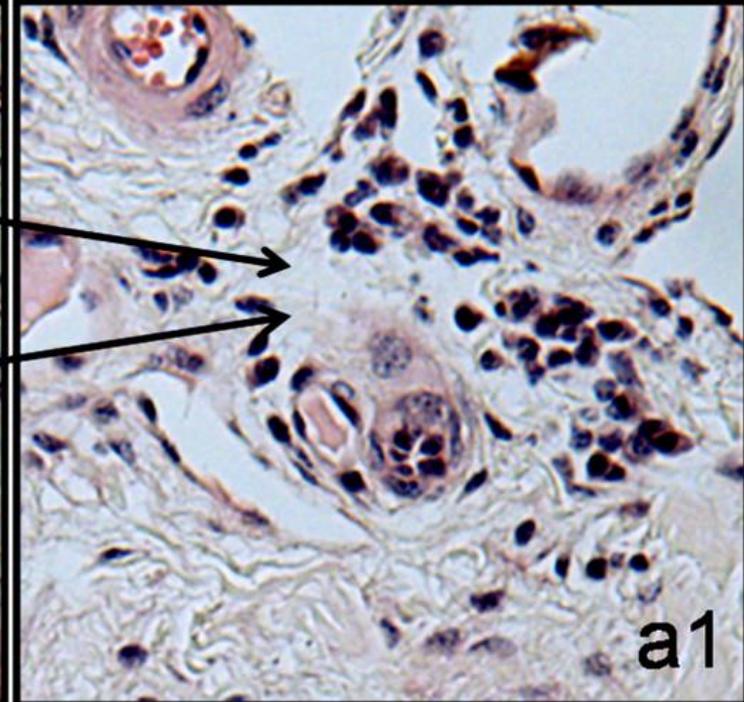
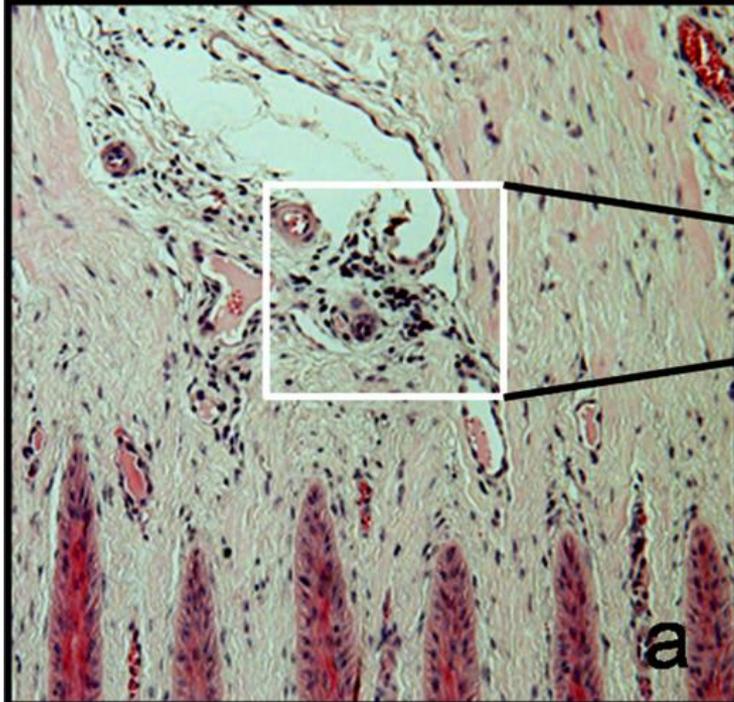
# Comparação entre grupos na mesma região do casco (Derme)



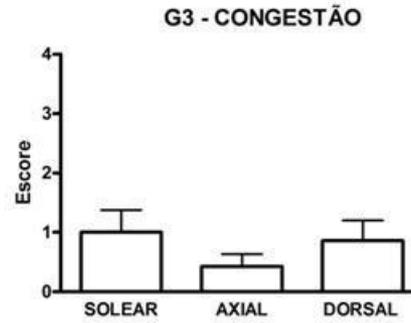
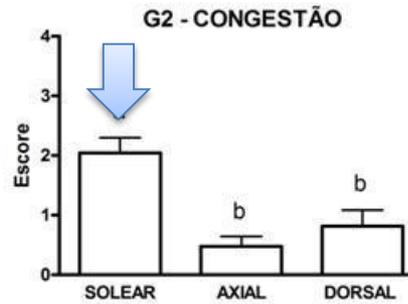
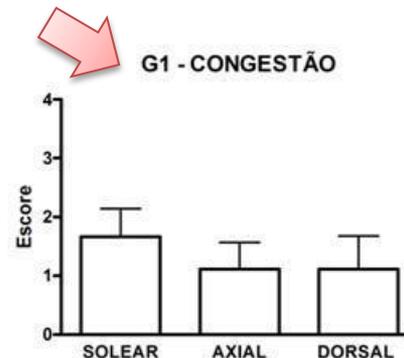
• Hemorragia > G3

• Lesões encontradas em todas as regiões (exceto hemorragia na região axial)

• Infiltrado inflamatório encontrado na derme de todas as regiões, de todos os grupos inclusive G1.

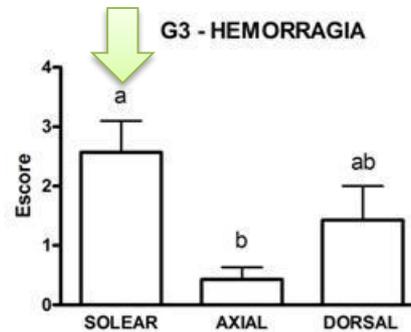
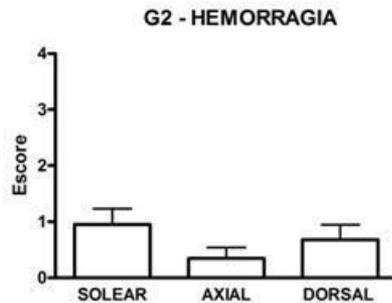
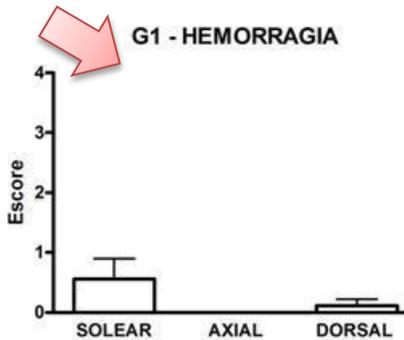


# Comparação entre grupos com relação às diferentes lesões

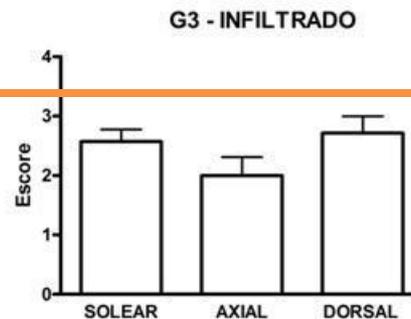
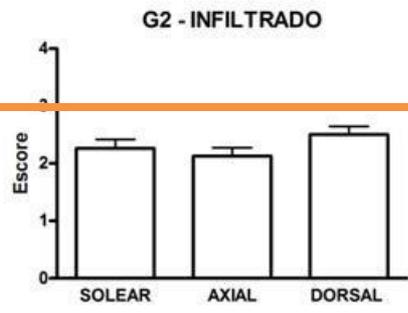
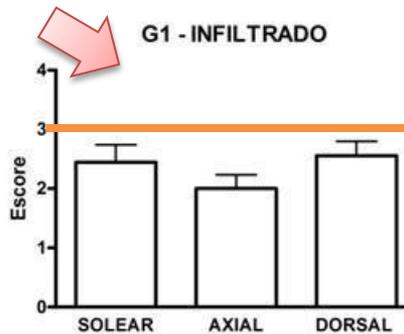


• Não foram constatadas diferenças em G1

• A congestão foi maior na derme solear em G2



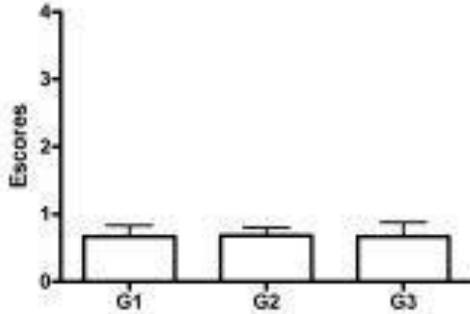
• Em G3 a hemorragia foi maior na derme solear



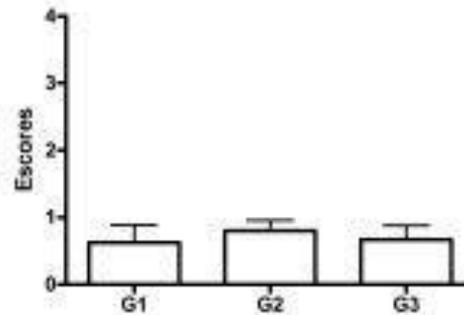
• Não houve diferença estatística em relação ao infiltrado inflamatório

# Irregularidades na membrana basal

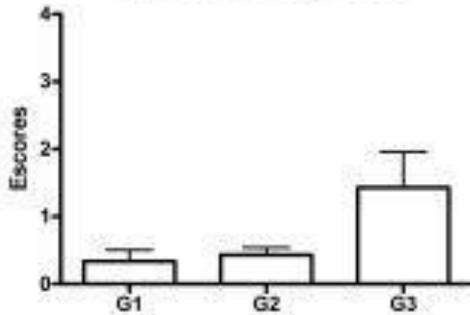
MB Axial - Terço Apical



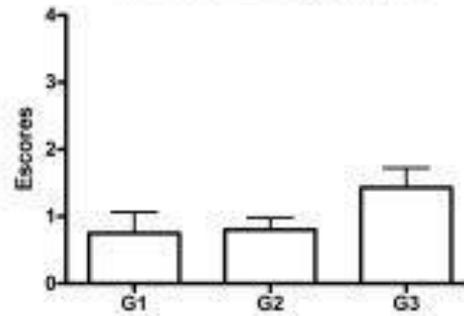
MB Dorsal - Terço Apical



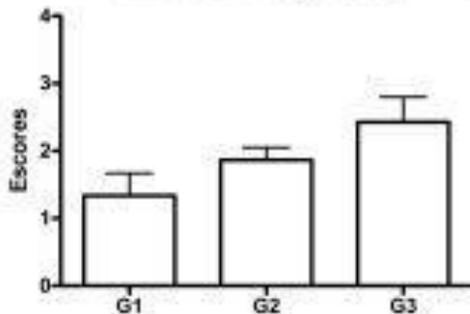
MB Axial - Terço Médio



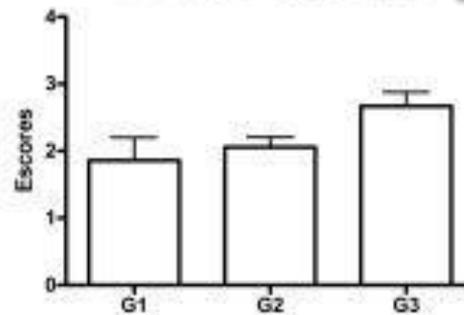
MB Dorsal - Terço Médio



MB Axial - Terço Basal

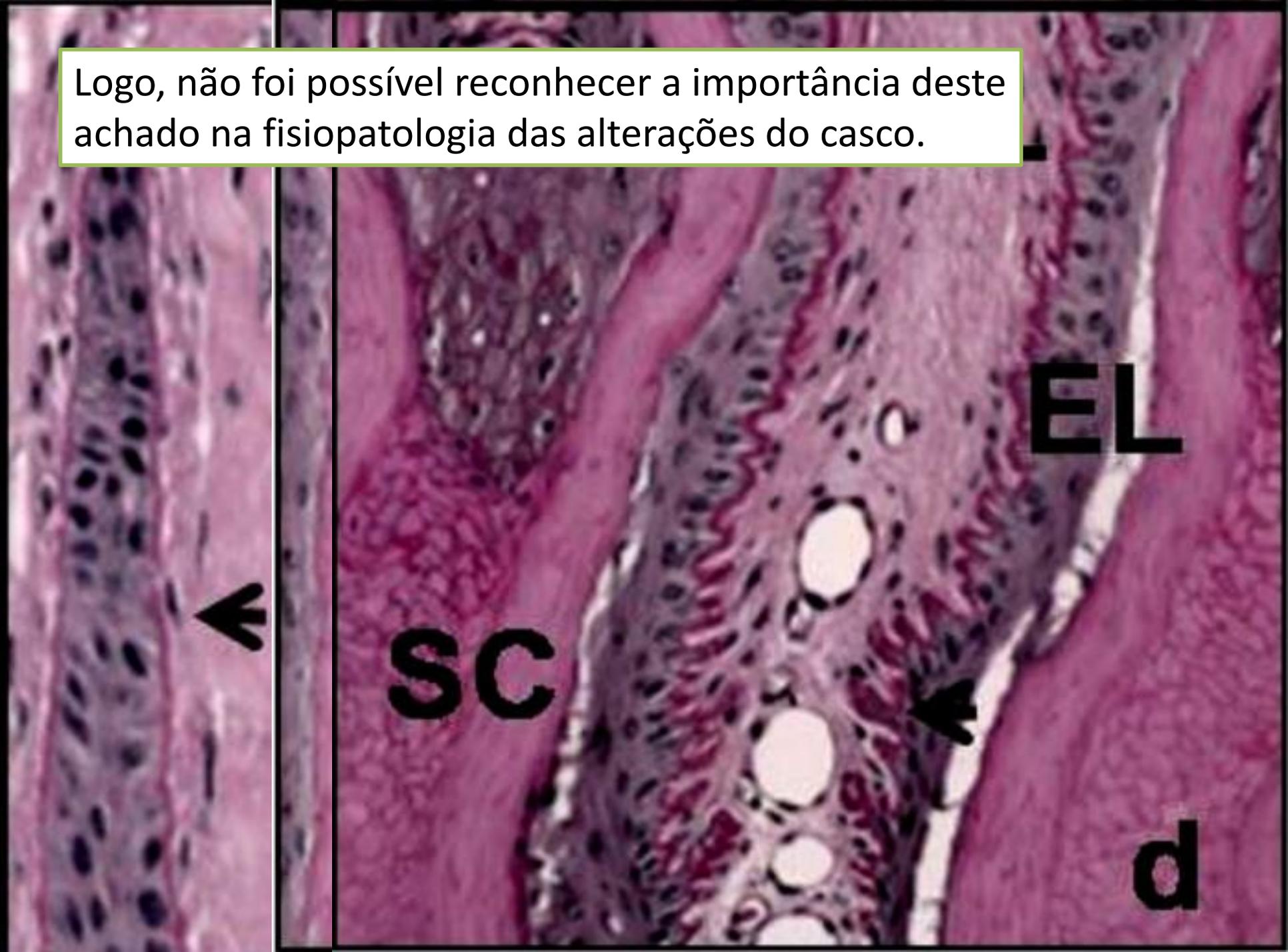


MB Dorsal - Terço Basal



- As irregularidades da MB foram mais pronunciadas no terço basal das duas regiões (axial e dorsal) em todos os grupos estudados.

Logo, não foi possível reconhecer a importância deste achado na fisiopatologia das alterações do casco.



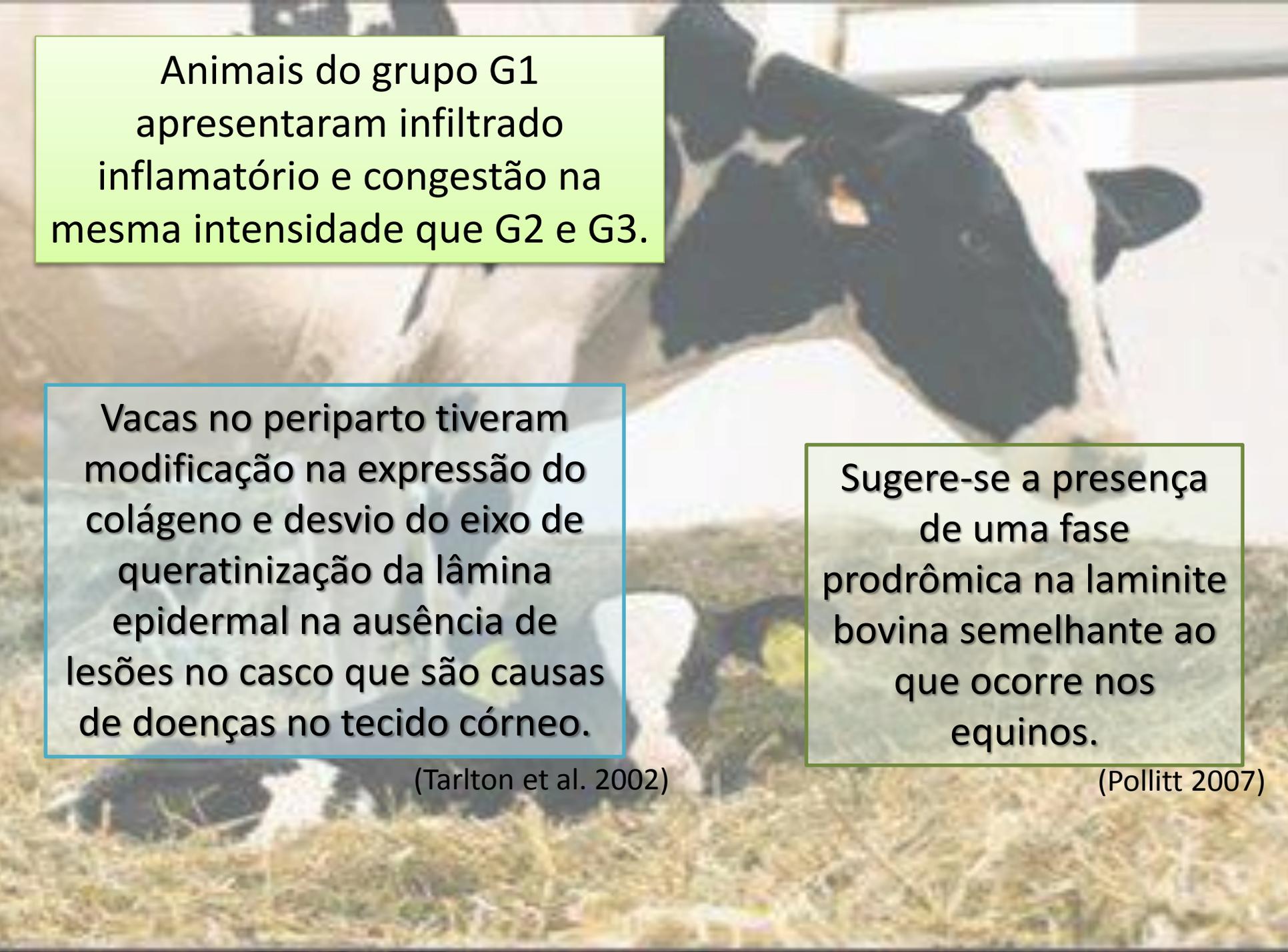
Leucócitos infiltrados foram encontrados na derme de todas as vacas.

- 44% dos animais sadios tiveram leucócitos intravasculares e apenas 2% de leucócitos infiltrados.
- 48% dos animais com laminite induzida tiveram leucócitos intravasculares e 10% de leucócitos infiltrados

(Thoefner et al. 2005)

Animais com laminite induzida não tinham infiltrado leucocitário significativo mas demonstravam dor indicando possivelmente presença de mediadores inflamatórios mesmo na ausência de infiltrado.

(Danscher et al. 2010)



Animais do grupo G1  
apresentaram infiltrado  
inflamatório e congestão na  
mesma intensidade que G2 e G3.

Vacas no periparto tiveram  
modificação na expressão do  
colágeno e desvio do eixo de  
queratinização da lâmina  
epidermal na ausência de  
lesões no casco que são causas  
de doenças no tecido córneo.

(Tarlton et al. 2002)

Sugere-se a presença  
de uma fase  
prodrômica na laminite  
bovina semelhante ao  
que ocorre nos  
equinos.

(Pollitt 2007)

Macrófagos e linfócitos tem sido detectados no tecido laminar de equinos sem laminite.

O aumento de monócitos ocorreu em equinos com laminite induzida.

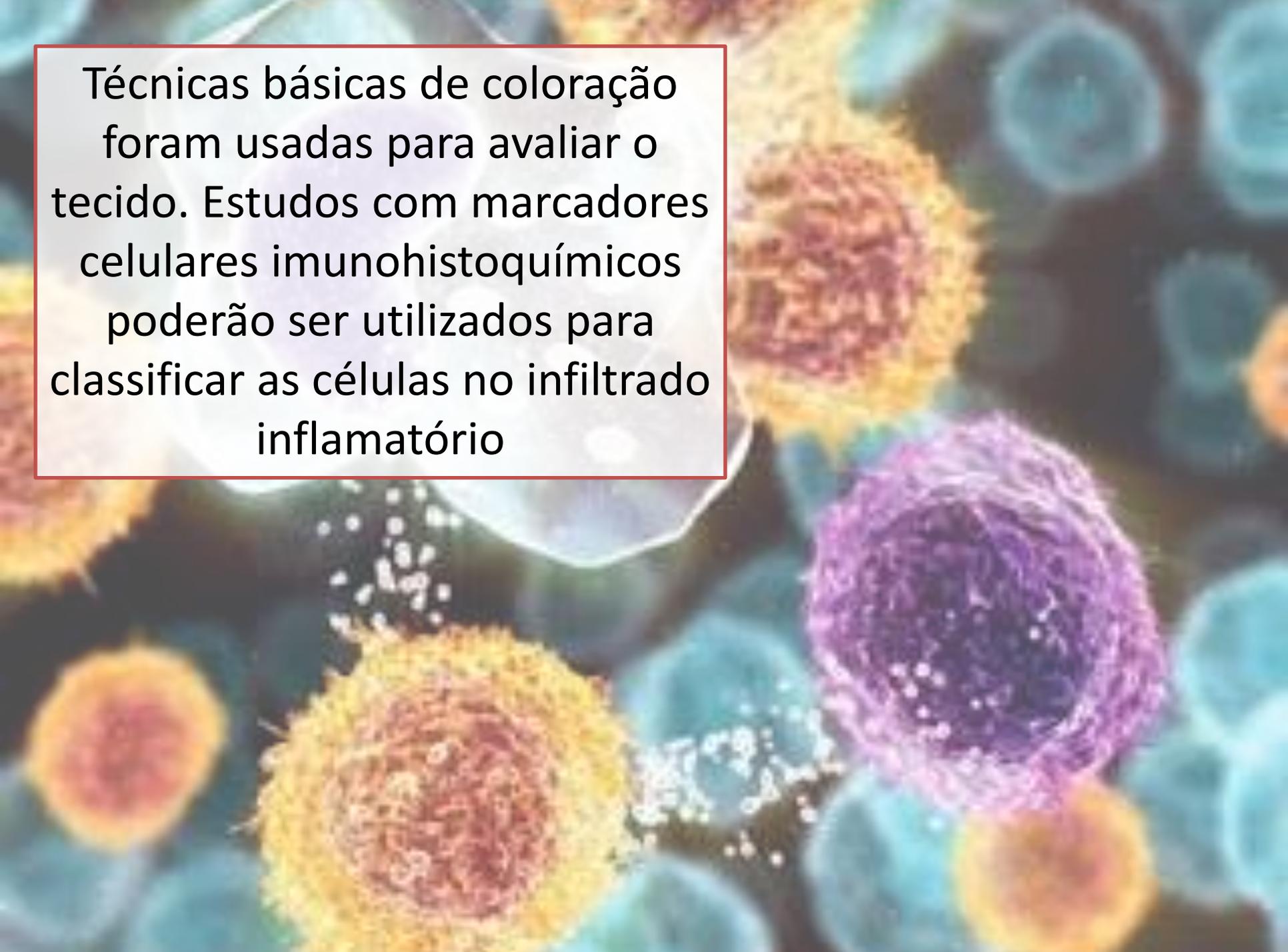
(Faleiros et al. 2011a)

Animais do grupo G1 tiveram infiltrado leucocitário na junção derme-epiderme indicando condição inflamatória mais pronunciada do que outros estudos.

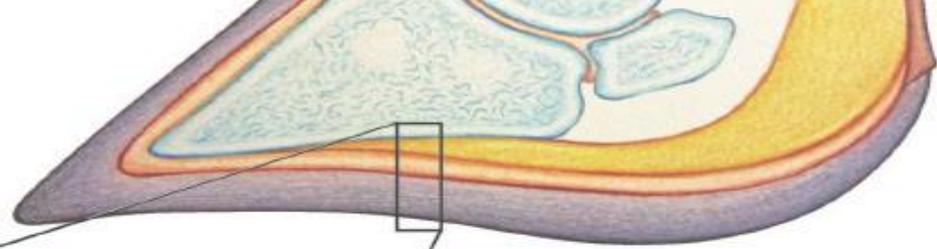
(Nilsson 1963, Thoenner et al. 2005, Mills et al. 2008, Danscher et al. 2010)

Acredita-se que a imunidade celular tem um papel importante na fisiopatologia das lesões associadas a laminite naturalmente adquirida.

Técnicas básicas de coloração foram usadas para avaliar o tecido. Estudos com marcadores celulares imunohistoquímicos poderão ser utilizados para classificar as células no infiltrado inflamatório



# Importância da derme



Quando sujeito à tensão o local mais comum de separação é a derme.

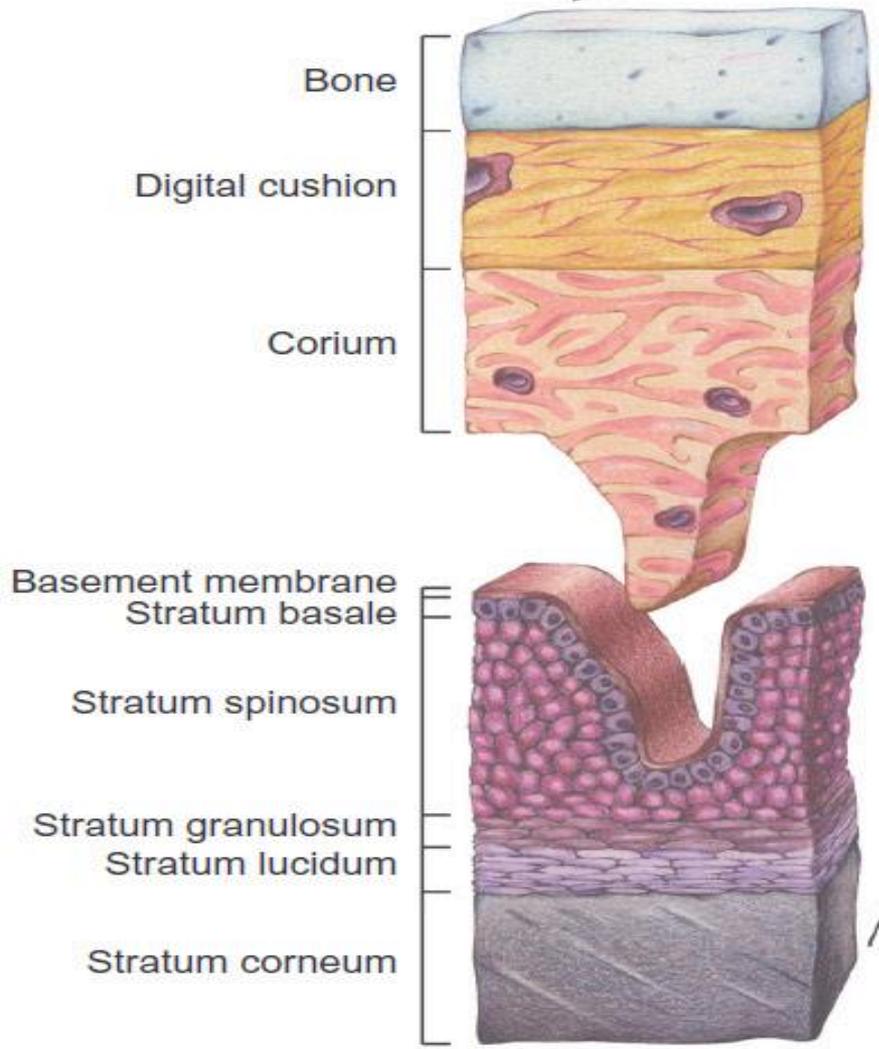
(Danscher et al. 2010)

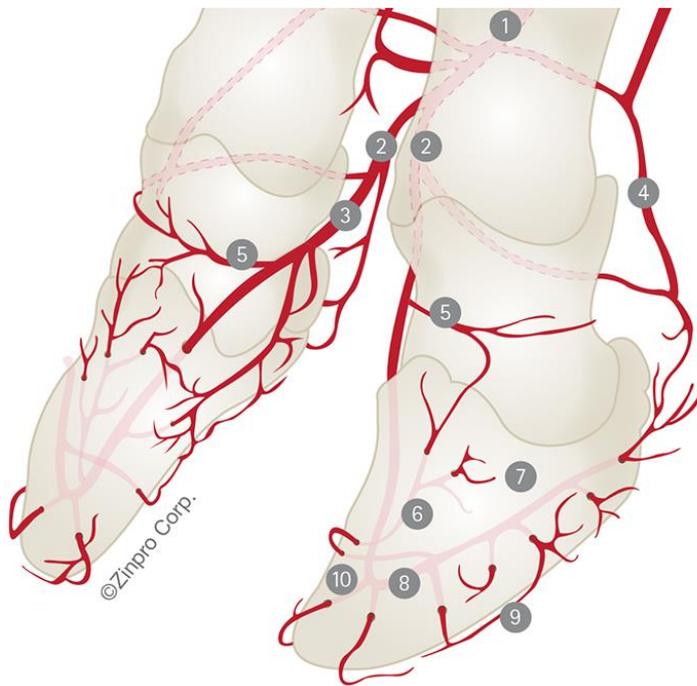
A derme provém os nutrientes necessários ao processo de queratinização.

(Tomlinson et al. 2004)

O crescimento dos queratinócitos no casco depende dos fibroblastos e na sua ausência os queratinócitos não crescem.

(Mills et al. 2009a).

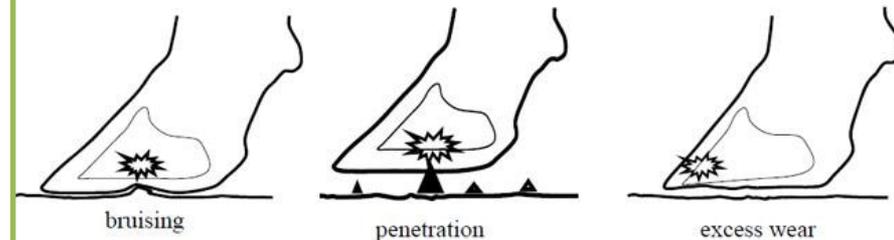
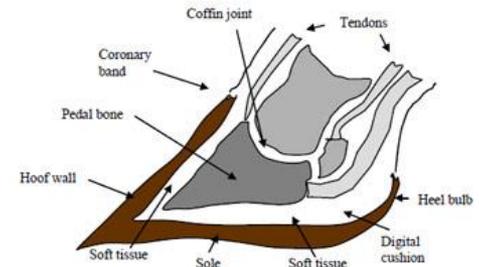




Sem um aporte sanguíneo adequado é gerado um tecido córneo de baixa qualidade aumentando a susceptibilidade do animal a danos químicos, físicos ou biológicos do ambiente.

(Tomlinson et al. 2004).

As lesões dermais observadas nesse estudo podem ter afetado a interação entre os fibroblastos e queratinocitos alterando a homeostase da epiderme do casco resultando em lesões macroscópicas associadas a laminite.



# Conclusão

Vacas leiteiras podem apresentar inflamação dermal e alterações nas células epidermais da sola regiões axial e dorsal mesmo na ausência de sinais macroscópicos de laminite

A MB de vacas com e sem lesões associadas a laminite tiveram irregularidades ao longo do seu comprimento caracterizadas por invaginações seguidas de evaginações que não correspondem as alterações de MB que já foram descritas como laminite até o momento.

Mais estudos são necessários para elucidar o papel dos eventos inflamatórios e das alterações morfológicas da MB na laminite bovina.

DOI: 10.5433/1679-0359.2016v37n3p1423

## **Concentration of minerals in the hoof horny capsule of healthy and lame dairy cows**

### **Concentração de minerais no estojo córneo do casco em vacas leiteiras saudias e com claudicação**

Antonio Amaral Barbosa<sup>1\*</sup>; Gabriela Bueno Luz<sup>2</sup>; Viviane Rohrig Rabassa<sup>3</sup>;  
Marcio Nunes Corrêa<sup>3</sup>; Charles Ferreira Martins<sup>3</sup>;  
Francisco Augusto Burkert Del Pino<sup>4</sup>

# Obrigado!



[nicolasc.tavares@gmail.com](mailto:nicolasc.tavares@gmail.com)