



CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA – UniCEUB
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA EDUCAÇÃO E SAÚDE – FACES

RAFAELA LEMOS FONSECA E VILHENA

**ENDOMETRITE PERSISTENTE PÓS-COBERTURA EM ÉGUAS: REVISÃO DE
LITERATURA**

Brasília – DF

2020

RAFAELA LEMOS FONSECA E VILHENA

ENDOMETRITE PERSISTENTE PÓS-COBERTURA EM ÉGUAS: REVISÃO DE LITERATURA

Trabalho de conclusão de curso apresentado a Faculdade de Ciências da Educação e Saúde do Centro Universitário de Brasília – UniCEUB, na forma de monografia, para obtenção do grau de bacharel em Medicina Veterinária.

Orientador: Prof. Msc. Francisco José Gonçalves de Oliveira.

Brasília – DF

2020

RAFAELA LEMOS FONSECA E VILHENA

ENDOMETRITE PERSISTENTE PÓS-COBERTURA EM ÉGUAS: REVISÃO DE LITERATURA

Trabalho de conclusão de curso apresentado a Faculdade de Ciências da Educação e Saúde do Centro Universitário de Brasília – UniCEUB, na forma de monografia, para obtenção do grau de bacharel em Medicina Veterinária.

Brasília, ___ de _____ de 2020.

Banca Examinadora

Prof. Msc. Francisco José Gonçalves de Oliveira

Orientador

M.V. Esp. Joanna Dennise Ledra Vasconcellos

Prof. Msc. Lucas Edel Donato

RESUMO

O ambiente uterino da égua após a inseminação artificial ou monta passa por diversos processos fisiológicos decorrentes da presença do sêmen no endométrio. Esse processo acarreta em uma endometrite fisiológica e transitória necessária para a eliminação de fluidos e detritos celulares, a fim de restabelecer a homeostase uterina para a chegada do embrião. Em éguas saudáveis, consideradas resistentes, esse processo é debelado em até 48 horas. Éguas suscetíveis à endometrite apresentam ineficiência em seus mecanismos de proteção uterina, falhando em debelar o processo rapidamente. Com isso, a inflamação torna-se de caráter patológico, instalando-se a EPPC (endometrite persistente pós-cobertura), ocasionando um ambiente inóspito para o desenvolvimento embrionário. A presença do sêmen ocasiona a ativação de diversos processos imunológicos e celulares como a contratilidade uterina, o sistema complemento, ação de polimorfonucleares, macrófagos, linfócitos T e B, além da síntese de diversas citocinas pró e anti-inflamatórias como as IL-1, IL-6, IL-8, interferon-gama (IFN- γ), fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α) e as IL-4 e IL-10, respectivamente. O diagnóstico deve ser precoce para que se tenham altas taxas de eficácia na terapêutica, sendo necessário a avaliação do histórico reprodutivo dos animais e acompanhamento por ultrassonografia transretal, além de métodos laboratoriais como a citologia e biópsia endometrial, quando se julgar necessário. O objetivo deste trabalho é a realização de um levantamento bibliográfico sobre os processos fisiológicos envolvidos na defesa uterina e na EPPC, métodos diagnósticos e procedimentos terapêuticos para a resolução da EPPC.

Palavras-chave: Espermatozóides. Endometrite. Inflamação. Égua. Útero.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Órgãos reprodutores, visão dorsal.....	13
Figura 2 – Rima vulvar com fechamento incompleto. Vista caudal.....	14
Figura 3 – Secção de um ovário funcional.....	15
Figura 4 – Correção cirúrgica de pneumovagina pré (A) e pós-operatório (B).....	26
Figura 5 – Presença de líquido intrauterino maior que 2cm.....	27
Figura 6 – Recrutamento de neutrófilos para o local de inflamação.....	38
Figura 7 – Reconhecimento dos PAMPs pelos TLRs e desencadeamento da transcrição gênica de fatores pró-inflamatórios pelo NF-kB.....	43
Figura 8 – Mecanismos de vasorelaxamento induzidos pelos estrogênios através das vias genômica e não-genômica.....	47

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µg – Microgramas

AC – Adenilato ciclase

AIE – Anti-inflamatórios esteroidais

AINES – Anti-inflamatórios não esteroidais

AMPc – Monofosfato cíclico de adenosina

ATP – Adenosina trifosfato

cm – Centímetros

CNA – Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil

COX-1 – Cicloxigenase 1

COX-2 – Cicloxigenase 2

CTM – Células tronco mesenquimais

D – Dias

DNA – Ácido desoxirribonucleico

DNase – Desoxirribonuclease

EDHF – Fator hiperpolarizante derivado do endotélio

eNOS – Óxido nítrico-sintetase endotelial

EP1 – Receptor do tipo 1 de prostaglandina E₂

EP2 – Receptor do tipo 2 de prostaglandina E₂

EP3 – Receptor do tipo 3 de prostaglandina E₂

EP4 – Receptor do tipo 4 de prostaglandina E₂

EPPC – Endometrite persistente pós-cobertura

ER – Receptor de estrogênio

ERO – Espécies reativas de oxigênio

ER α – Receptor de estrogênio subtipo alfa

ER β – Receptor de estrogênio subtipo beta

FSH – Hormônio folículo-estimulante

GM-CSF – Fator estimulante de granulócitos-macrófagos

GMPc – Monofosfato cíclico de 3',5' guanosina

GPER – Receptor de estrogênio acoplado a proteína G

h – Horas

IA – Inseminação artificial

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

ICAM-1 – Molécula de adesão intracelular tipo 1

IFN- γ – Interferon-gama

Ig – Imunoglobulinas

IGF1 – Fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1

IL – Interleucina

IL-1RA – Receptor antagonista da Interleucina tipo 1

iNOS – Óxido nítrico-sintetase

kDa – Quilodalton

Kg – Quilogramas

LTB4 – Leucotrieno B4

MAPK – Proteína quinase ativada por mitógeno

Mg – Miligramas

MHC – Complexo principal de histocompatibilidade

ml – Mililitros

mm - milímetros

mRNA – RNA mensageiro

NETs – Armadilhas extracelulares de neutrófilos

NF- κ B – Fator nuclear kappa B

NK – Natural killer

NKT – Células T Natural killer

ON – Óxido nítrico

PAF – Fator ativador de plaquetas

PAMPs – Padrões moleculares associados a patógenos

PDAF – Fator de angiogênese derivado de plaquetas

PDEGF – Fator de crescimento endotelial derivado de plaquetas

PDGF – Fator de crescimento derivado de plaquetas

PG – Prostaglandina

PGD₂ – Prostaglandina D₂

PGE – Prostaglandina E

PGE₂ – Prostaglandina E₂

PGF₂ α – Prostaglandina F₂ alfa

PGH₂ – Prostaglandina H₂ sintetase 2

PGI – Prostaglandina I

PI3K – Fosfatidilinositol-3-quinase

PIBF – Progesterone-induced blocking factor

PMNs – Polimorfonucleares

PPM – Pesquisa da Pecuária Municipal

PRP – Plasma rico em plaquetas

PRR – Receptores de reconhecimento de padrões

RNS – Espécies reativas de nitrogênio

TGF- β – Fator de transformação de crescimento beta

Th0 – Linfócitos T helper tipo 0

Th1 – Linfócitos T helper tipo 1

TH2 – Linfócitos T helper tipo 2

TLRs – Receptores do tipo Toll

TNF- α – Fator de necrose tumoral alfa

TxA – Tromboxano A

UI – Unidades internacionais

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 Anatomofisiologia reprodutiva das éguas	13
2.1.1 <i>Anatomia</i>	13
2.1.2 <i>Fisiologia reprodutiva das éguas</i>	16
2.2 Endometrites	17
2.2.1 <i>Endometrite persistente pós-cobertura</i>	17
2.2.1.1 <i>Alterações histológicas</i>	18
2.2.1.2 <i>Variáveis seminais que influenciam na resposta inflamatória uterina</i>	19
2.2.1.3 <i>Métodos diagnósticos</i>	22
2.2.1.4 <i>Tratamentos</i>	24
2.2.1.4.1 <i>Correção cirúrgica</i>	25
2.2.1.4.2 <i>Lavagem uterina</i>	26
2.2.1.4.3 <i>Drogas ecbólicas</i>	28
2.2.1.4.4 <i>Antibioticoterapia</i>	30
2.2.1.4.5 <i>Imunomoduladores</i>	30
2.2.1.4.6 <i>Plasma rico em plaquetas e plasma homólogo acrescido de leucócitos</i>	32
2.2.1.4.7 <i>Células tronco</i>	34
2.3 Mecanismos de defesa uterino das éguas	34
2.3.1 <i>Barreiras físicas</i>	34
2.3.2 <i>Limpeza física uterina</i>	35
2.3.3 <i>Inflamação local e mediadores inflamatórios</i>	38

2.3.4 <i>Hormônios</i>	45
3 CONCLUSÃO	50
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51

1 INTRODUÇÃO

Estima-se que o Brasil detém o maior rebanho equino da América Latina e o quarto no ranking mundial (SEGABINAZZI, 2016). De acordo com os dados levantados pela PPM (Pesquisa da Pecuária Municipal) do IBGE (2019), (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística), o Brasil somava um total de 5.850.154 cabeças em 2019. Para mais, a equideocultura movimenta cerca de R\$7,3 bilhões/ano além de gerar a ocupação de aproximadamente 3,2 milhões de empregos diretos e indiretos (CNA, 2004).

Desse modo, a fertilidade destes animais torna-se de extrema importância econômica, assim como a necessidade de profissionais capacitados para lidar com os problemas que possam vir a prejudicar a produtividade do rebanho. A endometrite é a terceira afecção clínica que mais acomete a espécie equina depois da síndrome cólica equina e afecções do trato respiratório (SILVA; BLUME; OLIVEIRA, 2014). Ademais, a endometrite é a principal causa de infertilidade em éguas (SILVA; BLUME; OLIVEIRA, 2014), repercutindo na taxa de concepção e sobrevivência embrionária, além da posterior necessidade de um tratamento, gerando prejuízos econômicos e no bem estar do animal.

A endometrite é um processo inflamatório que ocorre após a entrada de contaminantes no ambiente uterino. Apesar de muitos estudos manterem o foco na endometrite por contaminação bacteriana, o espermatozóide é o principal causador da inflamação pós-cobertura (RECALDE, 2014). Nessas circunstâncias a endometrite é considerada fisiológica e transitória, necessária para a limpeza uterina, tendo em vista que os componentes que formam o sêmen são considerados um corpo estranho. Em éguas sadias este processo é debelado em média entre 24 e 48 horas após o contato do sêmen com o endométrio, sendo estes animais considerados resistentes. Éguas consideradas suscetíveis à endometrite apresentam mecanismos de defesa naturais do útero falhos, iniciando-se o processo da endometrite persistente pós-cobertura (EPPC), resultando em um ambiente uterino inapropriado para o desenvolvimento embrionário.

A endometrite possui inúmeros agentes etiológicos e, por este motivo, o conhecimento clínico e o correto diagnóstico tornam-se imprescindíveis para um tratamento precoce e eficaz. Ademais, tratamentos preventivos diminuem os prejuízos reprodutivos e, conseqüentemente, econômicos ao criador.

O objetivo deste trabalho é realizar uma revisão bibliográfica acerca do processo fisiológico de endometrite pós-cobertura e inseminação em éguas, a EPPC e os mecanismos que participam destes processos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

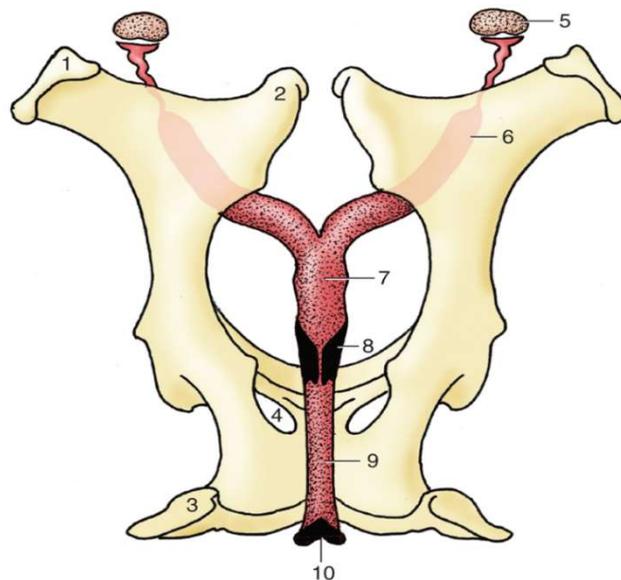
2.1 Anatomofisiologia reprodutiva das éguas

O útero da égua saudável se mantém livre de contaminantes através de mecanismos fisiológicos, imunológicos e barreiras físicas. Quando saudáveis, conseguem eliminar os invasores e manter a inflamação sob controle. Os mecanismos são as barreiras físicas que consistem na vulva, vestíbulo e cérvix (CAMOZZATO, 2010), mecanismos humorais, como as imunoglobulinas e mecanismos celulares, como os neutrófilos, sendo estes, as primeiras células defensivas a atuarem contra os corpos estranhos. Ademais, hormônios e diversas citocinas também atuam na proteção uterina.

2.1.1 Anatomia

De modo geral, o sistema reprodutor da égua é composto por vulva, vagina, cérvix, útero, tubas uterinas e ovários (Figura 1).

Figura 1 - Órgãos reprodutores, visão dorsal.

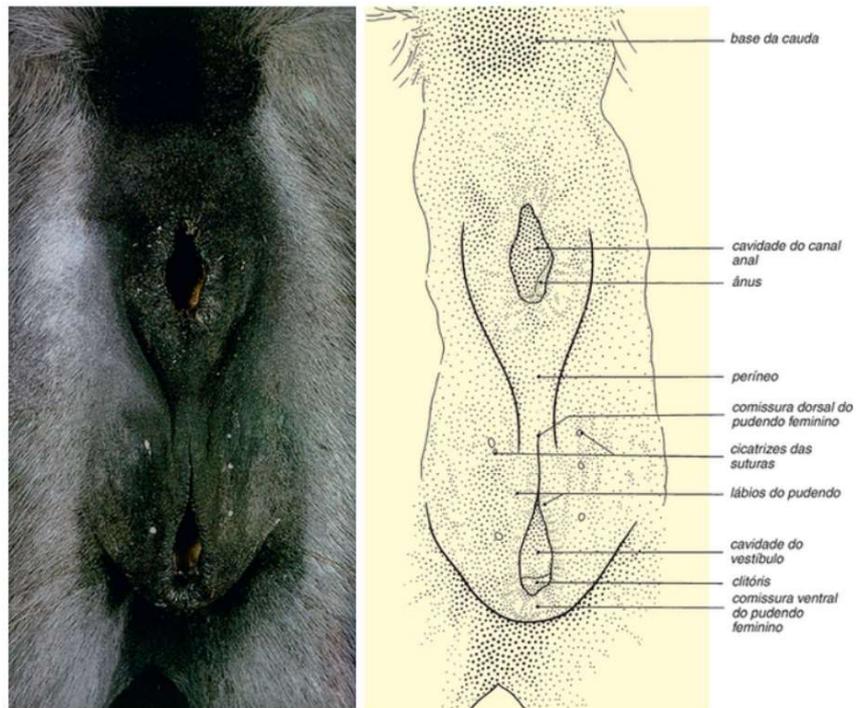


1. Tuberosidade coxal; 2. Tuberosidade sacral; 3. Tuberosidade isquiática; 4. Forame obturatório; 5. Ovário;
6. Corno uterino; 7. Corpo do útero; 8. Cérvix; 9. Vagina;
10. Vulva.

Fonte: Dyce, 2019.

A vulva varia muito conforme o escore corporal do animal e em relação à conformação óssea da égua. O normal é que se apresente com a rima vulvar fechada (DYCE, 2019). Porém, em animais com determinadas características como escore corporal baixo ou que já passaram por lacerações devido à partos ou traumas é possível observar fechamento parcial ou incompleto da rima vulvar, como apresentado na Figura 2, o que resulta na entrada de ar para a vagina, ocasionando uma pneumovagina.

Figura 2 - Rima vulvar com fechamento incompleto. Vista caudal.



Fonte: Done e Ashdown, 2011.

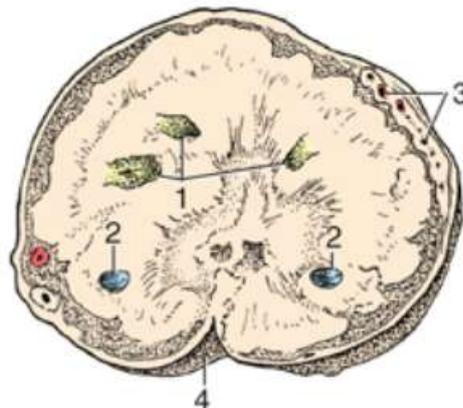
A pneumovagina pode progredir, levando a quadros de infecção no útero. Ademais, quando a vagina se encontra repleta de ar ocorre uma diferença na pressão entre o útero e a vagina, impedindo o fluxo de fluidos contaminados para o exterior, ocasionando, em alguns casos, uma infecção persistente (JIMENEZ FILHO *et al.*, 2015). O vestibulo da vagina compreende-se pela estrutura entre as comissuras labiais da vulva até o óstio externo da uretra.

A vagina se inicia desde a vulva e se prolonga até a cérvix. Fica situada ventralmente ao reto e dorsalmente à bexiga (DYCE, 2019). A cérvix se projeta caudalmente à vagina, caracterizada por dobras em sua mucosa, realizando a ligação entre o útero e a vagina. É relativamente curta tendo, em média, 6 cm.

De acordo com Cruz Júnior (2016), o útero é um órgão oco, muscular, ligado cranialmente às tubas uterinas e caudalmente à cérvix e vagina. Apresenta seu corpo e dois cornos. Situa-se parcialmente no abdome e parcialmente na cavidade pélvica (DYCE, 2019). Dessa forma, o útero consiste em três camadas sendo: a serosa, constituída por tecido conjuntivo; o miométrio, uma camada muscular que apresenta o extrato externo fino de fibras longitudinais, uma camada de tecido conjuntivo e uma camada interna de fibras circulares (CRUZ JÚNIOR, 2016); e, por fim, o endométrio, sendo a camada glandular do útero.

Os ovários das éguas se encontram, em geral, na parte dorsal do abdome, próximo às asas do ílio, onde são suspensos pelo mesovário (DYCE, 2019). Possuem uma particularidade em relação às demais espécies domésticas, sendo esta a fossa ovulatória, onde ocorre a ovulação de folículos maduros (Figura 3).

Figura 3 - Secção de um ovário funcional.



1. Corpo lúteo; 2. Folículos; 3. Vasos sanguíneos; 4. Fossa ovulatória.

Fonte: Dyce, 2019.

Segundo Dyce (2019), a tuba uterina é suspensa pela mesossalpinge e possui aproximadamente 20 cm estendida porém, anatomicamente, são repletas de sinuosidades. O istmo possui em média 10 cm de comprimento e se liga ao corno uterino. Na junção uterotubárica ocorre a distinção dos óvulos fertilizados dos não fertilizados, permitindo a entrada somente daqueles que foram fertilizados. Acredita-se que a Prostaglandina E₂ participa no processo de distinção de embriões viáveis dos óvulos que não foram fertilizados através de sua secreção realizada pelo embrião viável provocando contrações locais e relaxamento do músculo liso, auxiliando na passagem até o útero (CANAL, 2015).

2.1.2 Fisiologia reprodutiva das éguas

Sabe-se que as fêmeas da espécie equina são poliéstricas anuais ou estacionais, sendo em sua grande maioria estacionais em função da latitude, exibindo atividade ovariana durante a primavera e o verão. Anormalidades no ciclo estral podem estar associadas com mudanças nutricionais, climáticas e sazonais (CRUZ JÚNIOR, 2016). Nos meses de inverno a atividade ovariana se torna extremamente reduzida, sendo considerado esses meses como anestro sazonal (ROMANO; MUCCILO; SILVA, 1998). Ao fim do anestro sazonal e antes do início da estação reprodutiva, as éguas apresentam um período de transição, também conhecido como anestro transicional. Essa fase é o intermédio entre a saída do anestro sazonal e início da atividade ovariana. Éguas nessa fase apresentam pouca ou nenhuma atividade folicular, ovários de tamanho pequeno e útero não responsivo aos estímulos de estrógeno. Em geral, as éguas em transição apresentam folículos entre 15 e 25 mm de diâmetro e ausência de corpo lúteo (ARISTIZÁBAL *et al.*, 2017).

As éguas entram na puberdade aproximadamente com dezoito meses de vida, variando entre o décimo e o vigésimo quarto mês (CRUZ JÚNIOR, 2016). O ciclo estral da égua possui em média 21 dias, podendo apresentar variações entre 19 e 25 dias. É dividido em fase folicular e fase luteal, abrangendo, respectivamente, o proestro e estro e o metaestro e diestro.

Segundo Pimentel *et al* (2014), o proestro dura, em média, de 2 a 6 dias. É a fase caracterizada pela maturação de folículos sob a influência do hormônio folículo-estimulante (FSH). Através da maturação, os folículos iniciam a secreção de estrógeno, estimulando o declínio dos níveis de progesterona através do mecanismo de feedback que ocorre entre ambos.

Entende-se por estro o período onde há presença de folículos pré-ovulatórios de aproximadamente 35 mm de diâmetro e aumento de estrógeno 17 β -estradiol, secretado pelos folículos pré-ovulatórios (ARISTIZÁBAL *et al.*, 2017), o que caracteriza a receptividade ao garanhão e aceitação da monta. Possui uma duração de 5 dias, variando entre 4 e 8 dias dependendo da raça. A ovulação ocorre aproximadamente 24 à 48 horas antes do final do cio. Apesar de algumas éguas não demonstrarem sinais de cio evidentes, apresentam atividade ovariana ocorrendo a ovulação normalmente, sendo denominado “cio silencioso”. Ademais, nesse período ocorre exposição do clitóris e ato de micção na presença do garanhão, a vulva se encontra edemaciada, avermelhada, úmida e brilhante, podendo apresentar uma camada de muco translúcido (CRUZ JÚNIOR, 2016). O útero apresenta aumento da vascularização,

consequentemente extravasando líquido dos vasos para a área intersticial, resultando no edema endometrial (ARISTIZÁBAL *et al.*, 2017).

O metaestro é a fase pós-ovulatória onde ocorre declínio dos níveis de estrógeno, contrabalanceando com os níveis de progesterona que se elevam nesse período. Após a ovulação, forma-se o corpo lúteo que, caso ocorra fecundação e desenvolvimento embrionário, se mantém, ou caso não haja fecundação, atrofia (PIMENTEL *et al.*, 2014).

Segundo Pimentel *et al* (2014), o diestro é o período de predomínio da progesterona, que é regularmente secretada pelo corpo lúteo. Ademais, esta fase é caracterizada pela rejeição ao ganhão e cérvix fechada, além da diminuição da vascularização uterina decorrente do estímulo de progesterona. Quando ocorre fecundação e desenvolvimento embrionário, o diestro se prolonga. Caso não ocorra a fertilização do oócito, ocorre a luteólise, marcando o final do período (CRUZ JÚNIOR, 2016).

2.2 Endometrites

A endometrite é uma inflamação que pode apresentar caráter agudo, crônico e/ou degenerativo do endométrio (TAKAKURA, 2020). Segundo Recalde (2014), é considerada uma enfermidade multifatorial de acordo com sua etiologia e fisiopatologia. Pode ser adquirida através de bactérias, fungos, vírus (FIORATTI, 2010), por doenças sexualmente transmissíveis e persistente induzida por cobertura ou inseminação através do sêmen (RECALDE, 2014). Ademais, pode se apresentar nas formas ativa ou subclínica, sendo necessário uma avaliação e diagnóstico precisos para a resolução do problema.

2.2.1 Endometrite persistente pós-cobertura

A endometrite pós-cobertura é a inflamação dos tecidos endometriais de caráter não infeccioso considerado fisiológico e transitório. Essa inflamação acontece em decorrência do contato do sêmen com endométrio após a monta natural ou inseminação artificial onde estes são introduzidos diretamente na luz uterina. O intuito dessa inflamação é eliminar o excesso de espermatozóides, espermatozóides defeituosos e mortos (FIALA, 2004), e outros agentes agressivos ao ambiente uterino como o plasma seminal, contaminantes e diluentes utilizados

no caso da inseminação artificial, a fim de estabelecer um ambiente uterino sadio para o recebimento do embrião (CELEGHINI *et al.*, 2017). Segundo Fioratti (2010), o uso de diluentes contendo antibiótico no uso da inseminação artificial reduziu consideravelmente o número de éguas contaminadas.

Éguas que apresentam todos os mecanismos de proteção uterina em pleno funcionamento, são capazes de debelar o processo inflamatório transitório entre 24 à 48 horas, sendo denominadas éguas resistentes à EPPC (MACEDO, 2002). Quando os animais apresentam deficiência nos mecanismos de defesa e falham em debelar este processo em até 96 horas após a inoculação, são consideradas suscetíveis (CRUZ JÚNIOR, 2016) e instala-se a EPPC, tornando o quadro patológico. Sendo assim, entende-se por EPPC o processo inflamatório persistente que se mantém ativo no útero por mais de 48 horas, alterando negativamente o ambiente uterino, impedindo o desenvolvimento embrionário. Em um estudo onde foram realizados exames citopatológicos, microbiológicos e histopatológicos, nove de dezessete éguas que tiveram perda embrionária apresentaram somente inflamação aguda ou crônica do endométrio, duas apresentaram fibrose periglandular e seis animais apresentaram ambas as alterações. Com estes achados, concluíram que processos inflamatórios no endométrio seriam a principal causa de perda embrionária em equinos (PAPA *et al.*, 1998, apud TAKAKURA, 2020).

2.2.1.1 Alterações histológicas

De modo geral, a classe de éguas suscetíveis possuem alguns componentes que contribuem em sua predisposição a esta enfermidade. As alterações degenerativas vasculares do endométrio contribuem para um atraso na limpeza do útero. Processos degenerativos como a elastose, fibrose e calcificação são observados em exames histopatológicos do endométrio de éguas que apresentam acúmulo anormal de líquido intrauterino. As angioses causam infertilidade indiretamente através da diminuição da perfusão do endométrio e distúrbios causados ao mecanismo de drenagem uterina, decorrentes da diminuição da função das veias e vasos linfáticos locais (linfangiectasia endometrial). Em decorrência dessas alterações, ocorre uma persistência do edema no endométrio, formando lacunas linfáticas (SILVA; BLUME; OLIVEIRA, 2014).

2.2.1.2 Variáveis seminais que influenciam na resposta inflamatória uterina

Novos estudos vem sendo realizados acerca dos fatores que influenciam a duração e intensidade da resposta inflamatória resultante da presença do sêmen no lúmen uterino. Dentre os fatores estudados destacam-se o plasma seminal, o espermatozóide, diluentes e até mesmo técnicas utilizadas na inseminação.

Estudos sugerem que a presença dos espermatozóides no útero ativam complementos presentes nas secreções uterinas. O papel quimiotático dos espermatozóides decorrente da ativação dos complementos sugere que a inflamação ocasionada pela monta ou inseminação é essencial para a limpeza de excesso de células e detritos no útero (CARMONA, 2011). De acordo com Katila (2001), os espermatozóides mortos, danificados ou imóveis são removidos através de fagocitose. O IgG encontrado na porção da cabeça do espermatozóide causaria a quimiotaxia de neutrófilos para sua destruição.

A concentração espermática e o volume inseminado também atuam na intensidade da reação inflamatória (FIALA, 2004). No estudo realizado para análise da influência da concentração espermática no transporte espermático e intensidade da resposta inflamatória, foi constatado que concentrações espermáticas maiores causariam uma resposta inflamatória mais intensa, porém, com resolução mais rápida. Já no transporte espermático, não houve influência da concentração espermática sobre o processo (FIALA *et al.*, 2006). Segundo Watson *et al* (2001), as concentrações espermáticas maiores causam uma resposta mais intensa provavelmente pelo fato de que quando o sêmen é mais diluído, grande parte do fluido e espermatozóides são rapidamente eliminados através da cérvix e, quando utilizados volumes menores, os espermatozóides ficariam em contato direto com o endométrio por mais tempo, levando a um influxo superior de neutrófilos para o útero.

Segundo Carmona (2011), o tipo de sêmen também afeta a intensidade da reação inflamatória no útero, dependendo se é congelado, fresco, diluído, entre outros. Na resposta ao sêmen congelado, os PMNs conseguem reconhecer mais facilmente os espermatozóides devido a danos na porção da cabeça ou motilidade reduzida, limitando a função dos PMNs, agilizando a resposta inflamatória. O sêmen congelado proporciona uma resposta inflamatória mais intensa e um aumento no influxo de PMNs quando comparada às outras técnicas, devido ao fato da concentração de espermatozóides nessa técnica ser maior em relação às outras ou pela falta de plasma seminal, que é reduzido no preparo para o congelamento (KATILA, 2001). Esses fatores

auxiliariam na agilidade da resposta inflamatória uma vez que, quando há presença de plasma seminal, este causa um atraso na resposta devido à supressão do influxo de PMNs a fim de proteger os espermatozóides de serem fagocitados (KATILA, 2001). Ademais, até mesmo inseminados com número de espermatozóides iguais, os inseminados menos volumosos apresentam reação inflamatória mais exacerbada. De acordo com Carmona (2011), o pico da resposta inflamatória ocorre por volta de 6 a 12 horas após a monta ou inseminação. Logo, sêmen com maiores concentrações de espermatozóides causariam uma resposta inflamatória mais intensa e rápida, obtendo uma duração reduzida, sendo detectados às 48 horas apenas vestígios da inflamação. Ejaculados menos concentrados causariam uma resposta inflamatória menos intensa e mais tardia, levando aos achados de aumento de PMNs detectados tardiamente. Com esses expostos, conclui-se que a resposta inflamatória ao sêmen congelado tende a ser mais exacerbada quando comparada com a resposta adquirida após o uso de sêmen fresco. Porém, Troedsson *et al* (2001), constatou que o sêmen congelado por si só não induziria uma maior resposta inflamatória quando comparado ao sêmen fresco. Com isso, pode-se concluir que outros fatores encontrados na técnica do uso de sêmen congelado associados também são responsáveis pela resposta inflamatória exacerbada encontrada nesse método de inseminação, como a concentração de espermatozóides e a ausência de plasma seminal.

Os espermatozóides se ligam exclusivamente pela porção da cabeça aos neutrófilos, o que resulta em redes de agregados celulares que podem interferir no transporte espermático até o oviduto (ALGHAMDI; FOSTER; TROEDSSON, 2004). Segundo Troedsson (2006), estudos recentes sugerem que essa ligação pode ser mediada pela extrusão de ácido desoxirribonucleico (DNA) dos PMNs formando armadilhas extracelulares de neutrófilos (NETs) que capturam e mantêm os espermatozóides presos associado à ligação tradicional “receptor-ligante”. Entretanto, o plasma seminal apresenta atividade de redução da ligação entre os espermatozóides e os neutrófilos (ALGHAMDI; FOSTER; TROEDSSON, 2004). Segundo Alghamdi *et al* (2009), esse aprisionamento de espermatozóides pelas NETs são baseados em DNA e, portanto, a enzima desoxirribonuclease (DNase) seminal teria atuação na liberação de células espermáticas dessas redes de aprisionamento. Este processo se inicia com a ativação dos neutrófilos ocasionada pelos espermatozóides, liberando seu DNA que, por sua vez, aprisiona as células espermáticas dificultando sua motilidade e, conseqüentemente, dificultando seu transporte até o oviduto. A DNase presente no plasma seminal digere o DNA extrudado, libertando os espermatozóides das armadilhas, permitindo que mais espermatozóides cheguem ao local de fertilização (ALGHAMDI; FOSTER, 2005). A redução da mobilidade dos

espermatozoides incubados em secreções uterinas com presença de PMNs, sugere que poucos ou nenhum espermatozoide chega ao oviduto quando há a presença dessas células inflamatórias (ALGHAMDI; FOSTER; TROEDSSON, 2004). Esses achados sustentam a importância da atividade imunossupressora desempenhada pelo plasma seminal. Ademais, as proteínas seminais com atividade supressora de PMNs não prejudicam a atividade de defesa dos neutrófilos contra bactérias, demonstrando alta seletividade por parte das proteínas do plasma seminal, suprimindo apenas os neutrófilos ativados pela presença dos espermatozoides, mas não os ativados por bactérias (ALGHAMDI; FOSTER, 2005). Segundo Troedsson *et al* (2001), uma fração do plasma seminal com maior efeito supressor sobre a quimiotaxia dos PMNs apresenta moléculas de baixo peso molecular, entre 50-100 quilodaltons (kDa).

Os diluentes também podem responder de diferentes formas à intensidade da inflamação uterina. Em um estudo realizado por Palm *et al* (2006) com o objetivo de comparar a diferença entre as respostas inflamatórias geradas pela infusão de soro fisiológico, plasma seminal e diluidores à base de leite e gema de ovo. Os resultados obtidos foram que o diluidor de gema de ovo resultou em um menor influxo de PMNs quando comparado aos outros diluentes. Os níveis de PMNs encontrados com o uso deste diluente foram próximos aos encontrados nas éguas controle saudáveis. Acredita-se que o ovo possa ter determinados componentes que modulem a resposta imunológica no endométrio. Ainda são necessários mais estudos acerca do diluente que cause uma menor resposta inflamatória no útero de éguas após inseminações. De acordo com os expostos que o momento e a intensidade da resposta inflamatória dependeriam do estímulo induzido, sendo a resposta ao diluidor mais duradoura e tardia que o plasma seminal. (CARMONA, 2011). Esses achados contestam os achados por Katila (2001) onde os fatores presentes no plasma seminal causariam um atraso na resposta inflamatória devido a sua supressão imunológica e a inseminação com sêmen congelado que se encontra com níveis extremamente reduzidos de plasma seminal atuariam em uma resposta mais intensa e rápida. Conclui-se então que são necessários novos estudos acerca da resposta inflamatória com plasma seminal e diluentes.

Segundo Watson *et al* (2001), a inseminação artificial após a ovulação poderia predispor a indução de um acúmulo de líquido inflamatório quando comparada à técnica realizada antes da ovulação. Esse fato deve-se em especial, em decorrência do aumento da progesterona poucas horas após a ovulação, ocorrendo a redução dos mecanismos de defesa do útero.

2.2.1.3 Métodos diagnósticos

Sabe-se que a endometrite é a afecção reprodutiva que mais leva à perdas embrionárias na espécie equina. Ademais, o reconhecimento de éguas que apresentam essa enfermidade é complexo, tendo em vista a variedade de sinais clínicos demonstrados por esse grupo. Assim sendo, a melhor forma de tratamento é realizado através de um diagnóstico precoce, sendo importante reconhecer éguas suscetíveis antes da cobertura ou inseminação.

A identificação de animais suscetíveis pode ser feita pelo acompanhamento através de citologia e histopatologia do endométrio, bacteriologia, eletromiografia e cintilografia (para observação da atividade contrátil do miométrio) (MALSCHITZKY *et al.*, 2007a). Porém, esses métodos não são viáveis economicamente e por falta de praticidade quando aplicados à rebanhos comerciais.

O histórico reprodutivo do animal é um dos critérios de extrema importância para selecionar prováveis éguas suscetíveis à EPPC. Éguas que apresentam em seu histórico falhas reprodutivas ou endometrites infecciosas crônicas possuem maiores chances de apresentarem endometrite persistente pós-cobertura.

Segundo Macedo (2002), deve-se realizar uma avaliação da conformação vulvar e perineal, além da detalhada análise em relação à cérvix do animal, que deve se apresentar relaxada no estro e tensa no diestro. Ademais, também é importante que não haja presença de líquido intrauterino na avaliação ultrassonográfica transretal, além de apresentar citologia e cultura uterina sem exacerbação neutrofílica ou crescimento significativo de patógenos.

Dessa maneira, quando há suspeita de suscetibilidade à EPPC, deve-se monitorar através da ultrassonografia transretal se há presença de líquido intrauterino após a cobertura, de 6 a 12 horas. Em éguas resistentes pode-se observar a presença de fluidos até um pouco mais de 6 horas, porém, não passando de 12 horas (MACEDO, 2002). A presença de fluido intrauterino 48 a 96 horas após a cobertura torna-se um dos critérios utilizados para confirmar o diagnóstico de éguas suscetíveis à esta enfermidade. Éguas que apresentam este acúmulo de líquido apresentam baixas taxas de prenhez quando comparadas à éguas resistentes à enfermidade. Porém, o diagnóstico realizado neste ponto dificulta o tratamento e sua eficácia, aumentando os custos da terapêutica (MALSCHITZKY *et al.*, 2007a).

Embora ainda não exista uma correlação direta entre a ecogenicidade dos fluidos persistentes e a severidade desta alteração, a ecogenicidade do líquido intrauterino é diretamente relacionado às concentrações de células inflamatórias e resíduos no útero (RECALDE, 2014).

Quando os animais apresentam fluido intrauterino antes da cobertura, principalmente quando se demonstra exacerbado, acima de 2 centímetros, tornam-se possíveis pacientes suscetíveis. Apesar da origem não inflamatória do líquido, este parâmetro é um indicativo de que a égua apresente falhas na capacidade de eliminação dos fluidos, seja por falha da drenagem uterina ou contratilidade miometrial (MALSCHITZKY *et al.*, 2007a). Em um experimento realizado por Malschitzky *et al* (2003), constatou-se que éguas que apresentavam líquido intrauterino antes da cobertura e não eram tratadas, possuíam maiores perdas embrionárias comparado à éguas que não apresentavam este parâmetro pré-cobertura.

Desta forma, o acompanhamento ultrassonográfico para identificação de líquido antes da cobertura pode ser utilizado para selecionar os animais que devem ser examinados e possivelmente tratados após a cobertura (MALSCHITZKY *et al.*, 2007a).

A citologia endometrial pode ser realizado através do swab endometrial, escova ginecológica ou lavado uterino de baixo volume. Dentre as diferentes técnicas utilizadas de lavado, podemos citar o lavado uterino de baixo volume seguido de sedimentação, lavado uterino de baixo volume seguido de centrifugação e lavado uterino de baixo volume seguido de centrifugação e cito centrifugação. A citologia por swab ou escova ginecológica é realizada por haste e mandril metálicos estéreis ou dispositivo plástico descartável (FACTOR; CRUZ; ORLANDI, 2019).

Os métodos de avaliação laboratorial consistem na contagem do número de neutrófilos por campo examinado ou por número de campos examinados por lâmina, a relação entre neutrófilos e células endometriais ou percentual de neutrófilos em relação ao total de células contadas. Existe uma divergência entre os autores em se determinar qual a metodologia mais precisa (RECALDE, 2014). Segundo Silva, Blume e Oliveira (2014), para diagnóstico de EPPC, foi realizado a contagem do número de PMNs em 10 campos microscópicos (400x) e categorizado o grau inflamatório em ausente (0 a 2 PMNs por campo), inflamação moderada (3 a 5 PMNs por campo) ou inflamação severa (>5 PMNs por campo).

Ademais, segundo Factor, Cruz e Orlandi (2019), diversos autores apontam que a escova ginecológica seria o melhor método para avaliar a presença de PMNs no epitélio uterino. De

acordo com Cocchia *et al* (2012, apud FACTOR; CRUZ; ORLANDI, 2019), um estudo realizado comparando os resultados de citologia por meio da escova ginecológica, swab uterino e lavado uterino de baixo volume, os resultados apresentaram lâminas com maior número de células obtidos pela técnica da escova. Além disso, mesmo que a amostra seja realizada em um único ponto do endométrio, o resultado representa de forma eficaz a condição uterina total (FACTOR; CRUZ; ORLANDI, 2019). Para mais, a coleta e análise da amostra devem ser realizadas por um médico veterinário, evitando contaminações desnecessárias e tomando todos os cuidados em relação à antissepsia a fim de não comprometer os resultados obtidos (RECALDE, 2014).

Sendo assim, a citologia se demonstra um método prático e eficaz, de baixo custo e rápido resultado em relação à presença ou não de endometrites, acelerando a conduta terapêutica quando necessária (FACTOR; CRUZ; ORLANDI, 2019). Ainda não foi elucidado em que momento devem ser coletadas as amostras de citologia endometrial. Com isso, são necessários novos estudos que demonstrem a quantidade de neutrófilos pela citologia em diferentes momentos antes e após a cobertura para comparação do crescimento e declínio de PMNs.

Éguas suscetíveis submetidas à biópsia uterina apresentam infiltrado mononuclear no endométrio, auxiliando na determinação de animais suscetíveis à infecções (RECALDE, 2014). Através da biópsia uterina pode-se avaliar a integridade estrutural do endométrio como mudanças fibróticas e dilatação de glândulas endometriais e vasos linfáticos (RUA *et al.*, 2016). Em um estudo comparativo, avaliou-se os procedimentos de citologia endometrial e biópsia endometrial, observando que o procedimento de biópsia é mais sensível e específico para diagnosticar endometrites (NIELSEN, 2005, apud RECALDE, 2014).

2.2.1.4 Tratamentos

No caso da EPPC, o agente causador da inflamação endometrial é o espermatozóide, produtos seminais e contaminantes advindos do ambiente externo no momento da cobertura e/ou inseminação. Porém, o que causa a debilitação uterina em eliminar os produtos e subprodutos inflamatórios podem ser vários, dentre eles a diminuição da contratilidade miometrial, idade avançada associada a alterações conformacionais, entre outros. Assim sendo,

os tratamentos visam diminuir ou solucionar por completo os problemas que resultam nas falhas da defesa uterina.

De acordo com o quadro do paciente e a predisponibilidade associada à causa, diversos tratamentos podem ser adotados como, por exemplo, correção cirúrgica, drogas ecbólicas, antibioticoterapia, lavagem uterina, plasma rico em plaquetas, anti-inflamatórios, imunomoduladores entre outros métodos que atualmente vem sendo melhor estudados como o uso de células tronco no combate à EPPC e outras endometrites.

Quando os tratamentos são de caráter de suporte e não preventivo como no caso de lavagens, infusões e uso de medicamentos ecbólicos após a cobertura ou inseminação, é recomendado que sejam realizados 6 horas após o procedimento, pois, segundo Ferris, Frisbie e McCue (2014), este seria o período mais crítico do processo inflamatório em éguas suscetíveis à EPPC.

Ademais, conforme Takakura (2020), exercícios físicos promovem melhora na circulação sanguínea e linfática do trato reprodutivo além de fortalecer a musculatura e melhorar a conformação perineal, favorecendo as barreiras físicas. A suplementação na dieta com ômega 3 também influencia positivamente na produção de citocinas, reduzindo a resposta inflamatória após a inseminação (BRENDENMUEHL *et al.*, 2014, apud TAKAKURA, 2020).

2.2.1.4.1 Correção cirúrgica

A correção cirúrgica é adotada quando a causa primária de contaminação uterina é advinda de uma alteração conformacional do períneo (Figura 4). Ademais, as vulvoplastias dificultam recidivas e aumentam a taxa de prenhez em animais tratados (TAKAKURA, 2020). O procedimento cirúrgico previne contaminações e consequentes infecções bacterianas promovendo a proteção do trato reprodutivo, evitando pneumovagina e contaminação por fezes (RUA *et al.*, 2016). Deve-se atentar aos casos onde houver necessidade de realizar novamente a vulvoplastia decorrente de novas lacerações provenientes de partição ou toque intravaginal. Ademais, segundo Malschitzky *et al* (2007b), correções acerca de defeitos perineais apresentam melhores resultados de prenhez quando realizados antes do início do cio em que ocorrerá a manipulação do animal em comparação ao procedimento quando realizado após a ovulação.

Figura 4- Correção cirúrgica de penumovagina pré (A) e pós-operatório (B).



Fonte: Souza, Narducci e Villa Filho, 2017.

2.2.1.4.2 Lavagem uterina

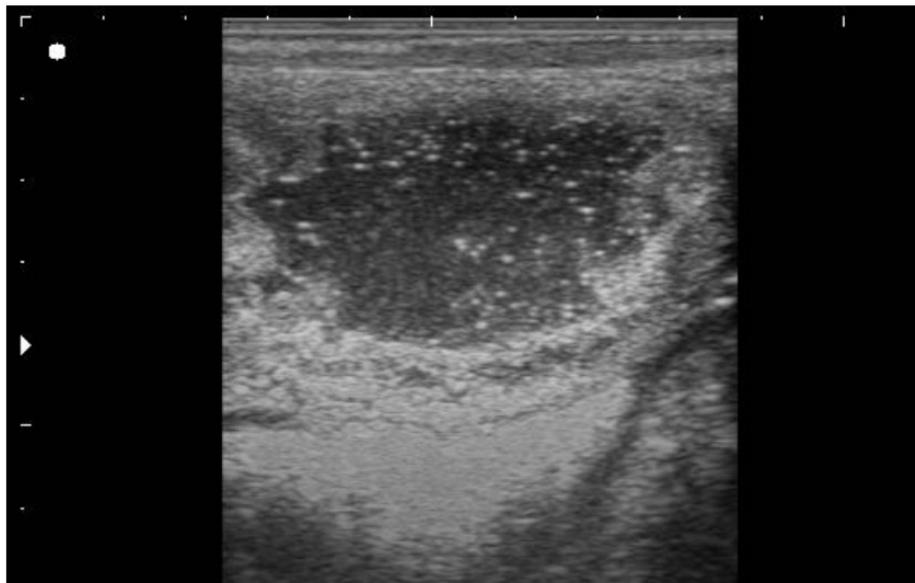
A lavagem uterina é um método utilizado para auxiliar a limpeza física do útero, diminuindo o número de espermatozóides e produtos seminais do lúmen uterino e, conseqüentemente, minimizando o processo inflamatório. A lavagem pode ser feita após 4 horas do procedimento de inseminação ou cobertura (SILVA; BLUME; OLIVEIRA, 2014). Todavia, recomenda-se a lavagem entre 6 e 12 horas após os procedimentos (MACEDO, 2002). Os espermatozóides levam em torno de 4 horas para finalizar o processo de migração até o oviduto. Sendo assim, o procedimento deve ser realizado após esse período para evitar interferências no transporte dos espermatozóides (SILVA; BLUME; OLIVEIRA, 2014). Ademais, segundo Malschitzky *et al* (2007a), os lavados não devem ultrapassar o período de 12 horas, pois este período corresponde com o pico inflamatório induzido pelo espermatozóide, não apresentando bons resultados quando passado este período.

Recomenda-se o uso de soluções tamponadas ou ringer com lactato e utilização de 2 litros por lavagem, sendo suficiente para causar uma boa distensão da parede uterina, ocorrendo contato da solução com toda a superfície mucosa (MALSCHITZKY *et al.*, 2007a) e repetindo o procedimento de lavagem até que o fluido saia com aspecto límpido (MACEDO, 2002). Porém, deve-se atentar às diferenças anatômicas de cada égua, utilizando o volume compatível e proporcional com a capacidade uterina de cada indivíduo (SILVA; BLUME; OLIVEIRA,

2014). A lavagem também pode ser realizada previamente à inseminação ou cobertura quando o paciente apresentar acúmulo de líquido intrauterino (Figura 5), em especial, animais que apresentam endometrite crônica ou já passaram por seguintes inseminações ou coberturas no mesmo ciclo, apresentando resultados benéficos, evitando a queda da qualidade espermática e aumento das taxas de prenhez (FRISO, 2016). Por fim, deve-se certificar que o fluido infundido foi eliminado, realizando uma ultrassonografia transretal para observação de líquidos remanescentes. Também pode-se administrar ocitocina ou fármacos estimulantes de contratilidade miometrial para auxiliar na remoção de fluidos restantes (SILVA, BLUME e OLIVEIRA (2014).

Em um estudo realizado por Takakura (2020), onde se realizou a lavagem uterina de éguas com solução fisiológica ozonizada, foi constatado uma maior eficiência em diminuir o processo inflamatório uterino quando comparado à éguas que foram tratadas apenas com solução fisiológica. Ademais, os resultados de histológico deram negativo após o tratamento, demonstrando que 61% dos animais tratados com solução fisiológica ozonizada foram curados e apenas 30% dos animais tratados com solução fisiológica sem ozônio apresentaram cura. Além disso, foi evidenciado que 6 éguas com histórico de falha reprodutiva engravidaram após o tratamento com ozônio. Conclui-se então que a utilização de apenas uma lavagem uterina com solução fisiológica ozonizada causa a redução significativa na presença de PMNs no endométrio, sendo viável sua utilização na rotina de doadoras de embrião suscetíveis à endometrite persistente pós-cobertura (TAKAKURA, 2020).

Figura 5 - Presença de líquido intrauterino maior que 2cm.



Fonte: Segabinazzi, 2016.

2.2.1.4.3 Drogas ecbólicas

As drogas ecbólicas são medicamentos que atuam estimulando a contratilidade uterina, auxiliando na limpeza física do útero, removendo fluidos e detritos remanescentes.

A ocitocina é uma das drogas ecbólicas mais utilizadas no ramo da reprodução. Induz contrações uterinas além de se ligar aos receptores miometriais promovendo liberação de PGF2 α . As doses de ocitocina no dia da ovulação e dia seguinte à ovulação não afetam o processo de formação do CL, não havendo alterações nas concentrações de progesterona ou na taxa de prenhez (SILVA; BLUME; OLIVEIRA, 2014). Os receptores de ocitocina uterinos e do oviduto se apresentam em maior número durante o período de estro e no fim do diestro (FIORATTI, 2010). Assim sendo, após a ovulação seu efeito diminui devido às alterações nos receptores decorrentes das fases do ciclo estral (SILVA; BLUME; OLIVEIRA, 2014). Segundo Macedo (2002), a ocupação dos receptores miometriais de ocitocina estimulam de forma direta a contração das células miometriais, decorrente do influxo de cálcio nas células.

As doses mais utilizadas variam entre 10 e 25 UI, podendo ser administrada por via intravenosa ou intramuscular (TAKAKURA, 2020). Não obstante, alguns estudos demonstraram uma maior eficácia da limpeza física uterina quando realizada a administração de doses menores como 2,5 a 5 UI. Quando doses mais altas eram aplicadas o efeito observado era de uma única contração de longa duração, não se mostrando eficiente na drenagem de fluidos remanescentes (MALSCHITZKY *et al.*, 2007a). Em contrapartida, a administração endovenosa de 20 UI de 4 a 8 horas após a cobertura, com ou sem lavagem uterina associada, têm demonstrado resultados eficientes na limpeza uterina, ocorrendo um aumento nas taxas de prenhez (MACEDO, 2002). Com isso, faz-se necessário mais estudos que comprovem a dosagem mais eficiente deste fármaco sobre a limpeza física uterina.

Ademais, a administração de ocitocina não deve ultrapassar a dose recomendada, visto que, quando administrada em altas quantidades pode gerar contrações tetânicas, resultando no acúmulo de fluido intrauterino (SILVA; BLUME; OLIVEIRA, 2014). Em algumas éguas, seu efeito pode ser insatisfatório devido a presença de poucos de receptores, útero muito baixo, cérvix fechada ou fibrosada, dificultando a eliminação dos fluidos remanescentes (SILVA; BLUME; OLIVEIRA, 2014). Segundo Friso (2016), a ocitocina deve ser utilizada em até 48 horas após a ovulação, visto que após este período ocorre o fechamento da cérvix, diminuindo a drenagem dos fluidos para o exterior. Aplicações realizadas no momento da cobertura também

se demonstraram prejudiciais ao transporte espermático (MALSCHITZKY et al., 2007a). A limpeza completa uterina geralmente ocorre 24 horas após o tratamento com ocitocina (SILVA; BLUME; OLIVEIRA, 2014).

Em contrapartida aos achados do uso parenteral de ocitocina, alguns estudos demonstram que uma dose de 30 UI de ocitocina utilizado em tratamento intrauterino apresenta ação ecbólica maior quando comparado ao seu uso por endovenoso ou intramuscular, aumentando o número de contrações nos cornos uterinos (FIORATTI, 2010).

Ademais, a adição de ocitocina ao sêmen favorece a limpeza e transporte espermático através das contrações induzidas pelo fármaco onde possui um maior efeito no útero inflamado de éguas suscetíveis, não apresentando alterações nas características espermáticas (FIORATTI, 2010). Esse aumento do efeito sob o útero inflamado é possivelmente decorrente da maior sensibilidade do miométrio à ação da ocitocina pelo aumento das secreções das glândulas endometriais (CAMOZZATO, 2010).

A $PGF2\alpha$ também pode ser utilizada para aumentar as contrações miometriais, onde o cloprostenol (análogo da $PGF2\alpha$) é o mais utilizado na rotina reprodutiva. O cloprostenol induz contrações miometriais mais longas quando comparado à ocitocina (SEGABINAZZI, 2016), além de sua atividade não ser alterada pelo *status* reprodutivo do animal (FIORATTI, 2010). A dose de 10 mg de análogo da $PGF2\alpha$ (ou propriamente de $PGF2\alpha$) resulta em 5 horas de atividade mioelétrica. Em contrapartida, 20 UI de ocitocina causariam somente 1 hora de atividade (MACEDO, 2002). Segundo Malschitzky *et al* (2007a), a administração de prostaglandina resultaria nos mesmos efeitos obtidos em doses mais altas de ocitocina.

Todavia, devido a ação luteolítica desse fármaco, não é indicada a sua administração após a ovulação, demonstrando efeitos negativos na função luteal precoce e na gestação quando administrado no dia 0, 1 e 2 após a ovulação (FRISO, 2016). Ademais, sua administração ocasionou a redução dos níveis de progesterona circulante entre o terceiro e quinto dia após a ovulação, resultando em uma queda nas taxas de prenhez (MALSCHITZKY *et al.*, 2007a).

A $PGF2\alpha$ quando adicionada ao sêmen diluído na dose de 125 $\mu\text{g/ml}$ têm-se demonstrado eficiente, não ocasiona alterações nas características espermáticas e demonstra efeitos benéficos à fertilidade da égua, promovendo a contração miometrial, eliminando produtos inflamatórios e auxiliando no transporte dos espermatozóides até o oviduto (FIORATTI, 2010).

2.2.1.4.4 Antibioticoterapia

Quando o diagnóstico é tardio, pode ser que já haja a infecção e aderência de bactérias no útero. Com isso, a infusão uterina de antibióticos torna-se eficiente no tratamento. Segundo Camozzato (2010), dentre os antibióticos que podem ser utilizados e suas respectivas indicações destacam-se o sulfato de amicacina (2 g, indicado para gram-positivo), sulfato de gentamicina (1-2 g, indicado para gram-negativo), sulfato de neomicina (3-4 g, indicado para *Escherichia Coli*), penicilina (5 milhões UI, indicado para *Streptococcus zooepidemicus*), Polimixina B (1 milhão UI, indicado para pseudomonas) e ceftiofur (1 g, de amplo espectro). A escolha do antibiótico deve levar em consideração o agente causador (bactérias gram-negativas ou gram-positivas, fungos, etc). Além de já produzir um efeito de distensão na parede uterina aumentando as contrações, também dilui a secreção uterina, facilitando a evacuação da mesma. O tratamento com infusão de antibiótico pode ser associado com lavagens uterinas ou ocitocina (MALSCHITZKY *et al.*, 2007a). Em contrapartida, um estudo demonstrou que a lavagem uterina com salina e PGF2 α promoveria a eliminação bacteriana do útero da mesma forma que os tratamentos realizados com penicilina. Com isso, sugere-se que não haja necessidade do uso de antibióticos, uma vez que apenas a remoção física dos agentes inflamatórios do útero foi o suficiente para resolver o problema de infecção bacteriana (MACEDO, 2002). Conclui-se então, que seja realizado a avaliação da necessidade de antibioticoterapia em cada caso, individualmente.

2.2.1.4.5 Imunomoduladores

Os imunomoduladores podem ser utilizados para reduzir as respostas neutrofílicas e a linfangiectasia em éguas suscetíveis à EPPC (TAKAKURA, 2020). Dell'Aqua *et al* (2006, apud TAKAKURA, 2020), produziram um estudo onde administraram 0,1 mg/kg de acetato de 9-alfa-prednisolona, de 12 em 12 horas, começando 2 dias antes da ovulação e aplicando novamente 1 dia após a ovulação (SILVA; BLUME; OLIVEIRA, 2014), e constataram um aumento nas taxas de prenhez de éguas suscetíveis. Éguas tratadas apresentaram redução do volume de fluido uterino e aspecto mais límpido. Segundo Malschitzky *et al* (2007a), esses achados são decorrentes de uma provável redução da expressão gênica de citocinas como a IL-1 β , TNF- α , IL-4, IL-3, IL-5 e IL-8 causadas pelos corticóides, diminuindo a inflamação. Também houve a diminuição de óxido nítrico e enzimas responsáveis pela síntese de

substâncias inflamatórias, além de diminuir a atividade de moléculas de adesão, reduzindo a migração dos leucócitos para o tecido inflamado (MALSCHITZKY *et al.*, 2007a). Ademais, a administração de 50 mg de dexametasona intramuscular antes da cobertura ou inseminação também apresentou resultados benéficos em relação às taxas de prenhez. Além disso, também promove a redução da expressão de interleucinas pró-inflamatórias como a IL-1 β , IL-6 e IL-8 e aumento de citocinas anti-inflamatórias como a IL-10 e a IL-1RA (SEGABINAZZI, 2016). Entretanto, os anti-inflamatórios esteroidais (AIEs) devem ser utilizados com cautela uma vez que podem apresentar efeitos colaterais como imunossupressão e laminite (FIORATTI, 2010).

Em um estudo realizado por Fioratti (2010), comparando a utilização de dexametasona local (2 mg adicionado ao sêmen diluído) e sistêmico (40 mg por via endovenosa) demonstrou que o uso local não reduziu as concentrações de PMNs e o líquido intrauterino acumulado quando comparadas ao grupo controle (não tratadas com dexametasona). Em contrapartida, éguas tratadas com dexametasona sistêmica demonstraram uma redução neutrofílica quase duas vezes menor em comparação ao grupo controle. Ademais, éguas tratadas sistemicamente apresentaram uma redução significativa do acúmulo de fluidos no útero e aumento das taxas de recuperação embrionária. Concluiu-se também que as diferenças encontradas entre o tratamento local e o sistêmico seria em decorrência do ajuste de dosagem necessário para não comprometer os espermatozóides no tratamento local, podendo a dose ter sido insuficiente para causar a resposta desejada.

O Firocoxib é um anti-inflamatório não esteroidal (AINEs), inibidor altamente seletivo para COX-2, demonstrando pouco efeito sobre a cicloxigenase 1 (COX-1). A dosagem recomendada para o tratamento em cavalos é de 0,09 mg/kg intravenoso a cada 24 horas durante 5 dias ou 0,1 mg/kg por via oral a cada 24 horas durante 14 dias. Ademais, este fármaco sofre metabolismo hepático e excreção renal (FRISO, 2016). Em um estudo realizado por Friso (2016) para avaliar o efeito do firocoxib sobre o controle da reposta inflamatória em éguas suscetíveis à EPPC, houve uma diminuição no número de PMNs e na marcação de COX-2 nas 24 horas após a IA, constatando que houve uma diminuição da resposta inflamatória no útero dos animais. Segundo Friso *et al* (2019, apud TAKAKURA, 2020), o Firocoxib, administrado por via oral na dose de 0,2 mg/kg no dia da indução da ovulação se mostra eficaz em controlar o processo inflamatório uterino sem interferir na ovulação e na drenagem uterina. Conclui-se então que o firocoxib pode ser uma alternativa viável para o tratamento de éguas suscetíveis à EPPC.

Esses achados são contrários aos achados do uso de outros AINEs como fenilbutazona e flunixin meglumine onde foi observado um atraso na limpeza uterina e aumento da reação inflamatória em éguas suscetíveis à EPPC. Os AINEs atuam diretamente na cascata do ácido araquidônico, inibindo a produção de $\text{PGF}2\alpha$, prostaglandina importante na estimulação das contrações miométriais. Ademais, também concluiu-se que o uso desses fármacos próximo da ovulação podem ocasionar folículos hemorrágicos anovulatórios, pela inibição de prostaglandinas importantes para o desencadeamento da ovulação (SEGABINAZZI, 2016).

A lactoferrina é uma glicoproteína regulada pelo estrogênio (FRISO, 2016). Quando administrada através de infusão uterina no momento da cobertura ou inseminação causa a redução da expressão de mRNA do $\text{TNF-}\alpha$, 6 horas após a inseminação ou cobertura, quando comparada à infusão somente de ringer lactato. A mesma modulação de resposta ocorreu quando a infusão foi realizada 6 horas após a cobertura ou inseminação, sendo avaliado o estado do endométrio e não sendo observados danos teciduais decorrentes de inflamação (TAKAKURA, 2020). Ademais, a lactoferrina utilizada junto ao sêmen também reduz a expressão de citocinas pró-inflamatórias como a IL-1 e IL-8 após a inseminação artificial (IA) ou cobertura (SEGABINAZZI, 2016).

2.2.1.4.6 Plasma rico em plaquetas e plasma homólogo acrescido de leucócitos

O plasma rico em plaquetas é originário do sangue total, sendo um volume de plasma que contém uma alta concentração de plaquetas (SEGABINAZZI, 2016), sendo de três a cinco vezes mais rico em plaquetas do que os níveis fisiológicos (REGHINI, 2013). É amplamente utilizado na medicina humana e veterinária por sua atividade imunomoduladora (através da biossíntese de lipoxina A4) e eficiência na reparação tecidual ocasionada por seus fatores de crescimento e atividades mitogênica, quimiotática, neovascular e anti-inflamatória (SEGABINAZZI, 2016). Seu efeito terapêutico ocorre em especial devido à degranulação dos grânulos- α encontrados nas plaquetas. Dentre seus fatores de crescimento, possui fator de transformação de crescimento beta ($\text{TGF-}\beta$), fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento endotelial derivado de plaquetas (PDEGF), fator plaquetário-4, fator de angiogênese derivado de plaquetas (PDAF) e fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1) (VENDRUSCOLO *et al.*, 2014). Segundo Segabinazzi (2016), também atuam na liberação de fibrinogênio, fator de crescimento endotelial, fator de crescimento fibroblástico, fator de crescimento epidermal, fator de crescimento hepatocitário,

tromboplastina plaquetária, entre outros. A liberação desses fatores ocorre especialmente na primeira hora, porém, continua ativo durante o período de vida das plaquetas sendo de aproximadamente 7 dias (VENDRUSCOLO *et al.*, 2014).

Em um estudo realizado por Reghini (2013) para avaliar a interferência do plasma rico em plaquetas (PRP) na resposta inflamatória de éguas suscetíveis e resistentes à EPPC foi constatado que houve uma diminuição do líquido intrauterino em animais suscetíveis após o tratamento, comparado à quantidade de líquido que animais não tratados apresentavam. Porém, não houve eliminação completa dos líquidos, sendo constatada apenas uma diminuição dos mesmos. Além disso, tanto éguas resistentes quanto éguas suscetíveis tratadas tiveram um declínio no número de neutrófilos observados pela citologia, onde, em éguas suscetíveis, o número chegou a níveis aceitáveis para o momento de 24 horas após o procedimento de inseminação ou monta.

Esses achados corroboram com os expostos por Metcalf, Scoggin e Troedsson (2012), onde éguas tratadas com infusão intrauterina de PRP apresentavam uma significativa redução da expressão de mRNA para citocinas como a IL-1 β , IL-6, IL-8 e óxido nítrico-sintetase (iNOS), quando comparado à éguas não submetidas ao tratamento. Conclui-se que a utilização de PRP reduz a expressão de citocinas pró-inflamatórias e de óxido nítrico sintetase em éguas suscetíveis à EPPC, levando à uma diminuição de neutrófilos, líquido intrauterino e, conseqüentemente, redução da reação inflamatória.

O uso de plasma homólogo acrescido de leucócitos também apresenta resultados positivos no tratamento à EPPC. Em um estudo realizado por Neves *et al* (2005), a infusão intrauterina de plasma homólogo diminui o tempo que o útero leva para eliminar o conteúdo inflamatório, além de demonstrar aumento na taxa de prenhez quando comparado ao grupo não tratado. Entretanto, o tratamento com plasma homólogo acrescido de leucócitos frescos demonstra uma eficácia maior em relação à quimiotaxia e opsonização neutrofilica. Os autores concluem que a ação do plasma com leucócitos demonstra efeito sinérgico em suas ações, o plasma fornecendo fatores de opsonização como complementos e imunoglobulinas no lúmen uterino e o sangue fresco com leucócitos promove uma fagocitose eficiente. Ainda assim, são necessários mais estudos acerca da preparação e uso de plasma homólogo acrescido de leucócitos.

2.2.1.4.7 Células tronco

As células tronco possuem alta capacidade de autorrenovação e diferenciação em diversas linhagens celulares. Possuem alto potencial terapêutico devido sua atividade regulatória de sítios inflamatórios, promovendo a regeneração tecidual e prevenindo o crescimento de tecidos cicatríciais (FLACH, 2014). Também possuem ação imunomodulatória uma vez que atuam no aumento da secreção de citocinas antiinflamatórias e diminuição de citocinas pró-inflamatórias.

As células tronco mesenquimais são células tronco adultas que podem ser coletadas da medula óssea, rica em células tronco mesenquimais (CTMs) e tecido adiposo (RUA *et al.*, 2016). A origem das células tronco mesenquimais é o mesoderma, de onde se originam tecidos conectivos como tecidos ósseos, cartilagosos, adiposos, sistema vascular e hematopoiético. Ademais, apresentam seletividade ao migrarem para áreas lesionadas, inflamadas ou tumorais. Quando se instala nesses locais, atua como reparadora tecidual além de auxiliar na formação do estroma associado à lesão (FLACH, 2014).

Um estudo foi realizado por Ferris, Frisbie e McCue (2014), para avaliar a hipótese dos autores de que a infusão intrauterina de dexametasona, soro condicionado autólogo e células tronco mesenquimais (tratamentos individuais) auxiliariam na diminuição dos achados clínicos através da diminuição de fatores pró-inflamatórios como a IL-1 e o TNF- α . O tratamento com células tronco mesenquimais foi eficaz em reduzir o número de neutrófilos presentes no útero 6 horas após a monta em mais de 50%. A hipótese é de que esse declínio seja resultado do aumento de IL-1RA, que atua nos receptores que IL-1, impedindo a secreção de citocinas pró-inflamatórias. Os autores concluíram então que o uso de CTM para o tratamento de EPPC é eficaz em reduzir a resposta inflamatória de éguas suscetíveis.

2.3 Mecanismos de defesa uterino das éguas

2.3.1 Barreiras físicas

A vulva, a cérvix e a prega vestibulo-vaginal atuam como barreiras físicas contra contaminantes (CRUZ JÚNIOR, 2016). Quando anatomicamente íntegras, impedem a entrada de fezes, urina e ar para dentro da vagina e útero. Defeitos na conformação perineal ocasionam

a falha na eficácia destas barreiras. Alterações na conformação podem ser resultado de idade, escore corporal, traumas (por exemplo, lacerações no parto), entre outros.

Quando ocorre a cópula ou a inseminação estas barreiras são rompidas. Devido as peculiaridades anatômicas da espécie equina, a ejaculação do garanhão ocorre de forma intrauterina. Do mesmo modo, a inseminação ultrapassa as barreiras físicas, sendo o ejaculado depositado no interior do lúmen uterino, ou em alguns casos, intracornual.

2.3.2 Limpeza física uterina

A limpeza física do útero se dá pelas contrações miométriais, sendo de extrema importância para a eliminação de agentes nocivos ao ambiente uterino. Estas contrações ocorrem também durante e após a cópula, auxiliando na passagem dos espermatozoides até o local de fertilização. Ademais, Nikolakopoulos *et al* (2000, apud FIORATTI, 2010), relatam que estímulos da vagina, cérvix, útero e cópula resultariam num aumento da concentração plasmática de ocitocina, gerando um aumento da contratilidade miométrial. Os autores concluem também que esse aumento de ocitocina não interfere nos valores plasmáticos de prostaglandina F2 alfa (PGF2 α).

Segundo Fioratti (2010), as contrações ocorrem pela atividade de despolarização e repolarização da membrana plasmática das células pertencentes à musculatura lisa uterina. Elas também auxiliam na drenagem dos produtos prejudiciais através da compressão dos vasos linfáticos, impulsionando-os para os linfonodos regionais.

Em éguas resistentes onde a contração sucede corretamente, o início da contração se dá na região do miométrio do corno uterino, onde ocorre um pulso contrátil que vai em direção à cervix. Éguas suscetíveis demonstram essa região do pulso inicial no corpo uterino, resultando em uma alteração no padrão de propagação contrátil, ocorrendo simultâneas, ou seja, em diversas partes do útero ao mesmo tempo, ou invertidas, sentido cervix para os cornos uterinos. Essa disfunção acarreta uma drenagem ineficiente dos fluidos remanescentes no lúmen uterino. Para mais, éguas resistentes apresentam contrações uterinas em maior número, duração e intensidade quando comparadas às suscetíveis (FIORATTI, 2010).

Quando a atividade contrátil do miométrio encontra-se afetada, os demais mecanismos, como a drenagem linfática, tornam-se os principais responsáveis pela eliminação de infecções

e subprodutos inflamatórios (CARMONA, 2011). A falha no mecanismo contrátil uterino resulta num maior tempo necessário para debelar as invasões ao útero, além do risco de aderências bacterianas no endométrio. Durante o diestro, período do ciclo estral onde a cérvix se encontra fechada, há a possibilidade de que os vasos linfáticos se tornem os principais responsáveis pela reabsorção de fluidos e partículas remanescentes no lúmen uterino (CAMOZZATO, 2010). Em um estudo realizado por Nikolakopoulos e Watson (1999, apud CARMONA, 2011), foi constatado que a inibição da atividade miometrial em éguas resistentes resultou na presença de fluido intra-uterino 48 horas após a inoculação bacteriana, levando essas éguas a um quadro de suscetibilidade à endometrite, corroborando com a possibilidade atestada por Camozzato (2010).

O estro representa o período onde recorrentemente éguas adquirem endometrite (CRUZ JÚNIOR, 2016). Isso se deve ao fato deste período ser caracterizado pela cérvix aberta e período de cobertura das fêmeas, o que resulta em uma endometrite pós-cobertura ou inseminação. Durante esse período, ocorrem contrações miometriais de aproximadamente 5 minutos alternando com períodos de repouso (CAMOZZATO, 2010), aumentando sua intensidade em resposta à agentes nocivos.

Em éguas resistentes onde a atividade miometrial e demais mecanismos se encontram eficazes, a cérvix aberta no período de estro facilita a drenagem de fluidos, células remanescentes e subprodutos inflamatórios, sendo resolvido em até 48 horas (SEGABINAZZI, 2016). Para a limpeza eficaz, mesmo através da atividade miometrial, é necessário o relaxamento e abertura adequados da cérvix, sendo esta característica importante em quadros de persistência de fluidos e infecções remanescentes. (CARMONA, 2011). Éguas virgens que apresentam abertura insuficiente ou fechamento precoce da cérvix também podem desenvolver EPPC devido a sua incapacidade de eliminar a maior parte dos fluidos pela cérvix. Este quadro é conhecido como “síndrome da égua virgem e velha”. Este quadro tende a não se repetir após a primeira parição (MALSCHITZKY *et al.*, 2007a).

Alguns fatores influenciam diretamente na atividade miometrial, podendo comprometer a eficiência deste mecanismo. De acordo com Carmona (2011), má formações na região perineal, fibrose de cérvix, idade e múltiplas partições influenciam na drenagem de fluidos remanescentes. Éguas em idade avançada e/ou múltíparas apresentam falhas na atividade contrátil por conta da posição relativa do útero, que se encontra mais baixo pela flacidez e relaxamento que ocorre durante os anos e após muitas partições. Como resultado, o útero se estende para baixo do bordo pélvico, dificultando a eliminação dos fluidos no lúmen uterino,

expelindo mais lentamente comparado à éguas novas, nulíparas ou primíparas. Segundo Fioratti (2010), prenhez contínuas também seriam responsáveis por uma hipertrofia do miométrio que resultaria na mudança da região do pulso contrátil inicial e, conseqüentemente, comprometendo a drenagem de fluidos para o exterior.

Segundo Carmona (2011), éguas senis suscetíveis à endometrites apresentam tônus muscular ativo menor em comparação à éguas resistentes em resposta à agonistas do tônus muscular, sugerindo que haja um defeito intrínseco do miométrio. Ademais, conclui que essa resposta não possui relação com receptores de ocitocina ou prostaglandina $F2\alpha$. Éguas suscetíveis e resistentes demonstram uma composição semelhante de íons de cálcio, sugerindo que essas alterações ocorram nos mecanismos das fibras musculares relacionadas aos canais de cálcio e sua regulação (CARMONA, 2011).

Outras possíveis causas que resultariam na fragilidade do miométrio de éguas suscetíveis e senis compreendem a diminuição da produção de $PGF2\alpha$, influenciando no equilíbrio entre a estimulação de ocitocina e da prostaglandina. Ademais, Carmona (2011) sugere que lesões neurológicas ou estruturais de colágeno e elastina secundárias à tensão mecânica sofrida pelo útero mais flácido, também resultam na debilidade da atividade contrátil. De acordo com Reitzenstein *et al* (2002, apud FIORATTI, 2010), em um estudo *in vitro* realizado, pôde-se observar que éguas suscetíveis apresentavam disfunção na atividade contrátil miometrial que poderia ser explicada por um possível defeito na sinalização neuronal, corroborando com os expostos por Carmona (2011).

O cio do potro também se encontra como característica que predispõe a égua à acúmulo de líquido intrauterino. Isso ocorre devido à presença de volume aumentado e posicionamento abaixo do nível do assoalho pélvico, devido ao processo de involução uterina. A contratilidade uterina também se encontra reduzida, dificultando a eliminação de líquidos e detritos celulares. Essas características são solucionadas próximo de 23 dias, quando a involução uterina se torna completa. Com isso, o cio do potro pode ser considerado uma suscetibilidade transitória à EPPC (MALSCHITZKY *et al.*, 2007a).

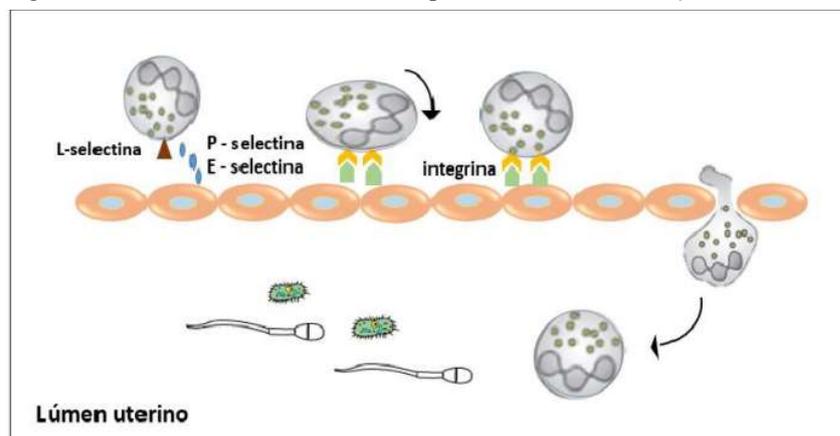
Além desses fatores, alterações vasculares degenerativas na parede uterina também foram descritas em éguas suscetíveis, não sendo elucidado até que ponto estas alterações influenciam na atividade miometrial (CARMONA, 2011). Pode-se concluir que ainda são necessários mais estudos acerca das causas que diminuem a contratilidade do miométrio.

2.3.3 Inflamação local e mediadores inflamatórios

A inflamação local se caracteriza por um processo inflamatório agudo que ocorre rapidamente após uma agressão. Apresenta os 5 sinais clássicos de inflamação tecidual, sendo eles calor, rubor, tumor, dor e perda da função. Os sinais clínicos da inflamação ocorrem inicialmente pela produção de cicloxigenase 2 (COX-2) e liberação de eicosanóides resultantes do ácido araquidônico livre (FRISO, 2016).

Após a agressão aos tecidos, inicia-se uma constrição das arteríolas e dilatação das vênulas do local afetado, aumentando o fluxo de sangue para a região lesada. Como consequência da dilatação das vênulas, ocorre um aumento da permeabilidade vascular que permite o extravasamento de exsudato para o tecido agredido, resultando em um edema local (FIORATTI, 2010). Através de substâncias quimiotáticas, células de defesa se aderem ao endotélio vascular e migram para o tecido lesionado. As células do endotélio iniciam a expressão de P-selectina resultante da agressão inflamatória, se ligando à L-selectina presente na superfície dos neutrófilos, ocorrendo uma diminuição da sua velocidade na corrente sanguínea, passando a rolar sobre a superfície do endotélio vascular. Logo após, os neutrófilos iniciam a expressão de integrinas que se ligam à moléculas de adesão das células do endotélio até a parada completa e aderência à parede dos vasos, ocorrendo por fim, a migração para o local inflamado, como demonstrado na Figura 6 (SEGABINAZZI, 2016). As integrinas mais importantes expressas pelos leucócitos são a LAF-1 e a VLA-4, que se ligam à glicoproteínas de membrana como a molécula de adesão intracelular tipo 1 (ICAM-1) (FRISO, 2016). Neutrófilos e eosinófilos são as primeiras células de defesa a chegar ao tecido afetado devido à maior mobilidade dessas células na corrente sanguínea (FIORATTI, 2010).

Figura 6 - Recrutamento de neutrófilos para o local de inflamação.



Fonte: Friso, 2016.

Segundo Carmona (2011), os neutrófilos produzem espécies reativas de nitrogênio (RNS), sendo a mais comum o óxido nítrico (ON) e suas respectivas formas oxidadas, nitrito e nitrato. Ademais, pode ser produzido por macrófagos, células epiteliais e endoteliais. Dentre os RNS, o ON demonstrou ser o mais eficiente atuando na lise de bactérias no interior de neutrófilos (CARMONA, 2011). O ON também atua como mensageiro intra e intercelular, controlando diversos processos como o tônus vascular, neurotransmissão, síntese de hormônios, diferenciação celular, expressão gênica, ativação de células imunológicas e na fisiologia ovariana. Além disso, pode ser encontrado no fluido uterino após cobertura ou inseminação, causando repolarização das fibras, resultando em vasodilatação e relaxamento do endométrio. Éguas resistentes à EPPC apresentam menor concentração de ON quando comparadas à éguas suscetíveis (FIORATTI, 2010). Esse fator ocorre possivelmente pelo fato de éguas suscetíveis apresentarem maiores concentrações de componentes pró-inflamatórios e menores de fatores anti-inflamatórios, ocasionando uma resposta inflamatória aguda exacerbada originando uma maior concentração de ON.

Ademais, os lisossomos presentes nos neutrófilos possuem peroxidases e enzimas hidrolíticas como a ribonuclease, desoxirribonuclease, fosfolipase A, lisozimas, proteases e enzimas dependentes de O₂. Também possuem proteinases como as collagenases, elastases e gelatinases que atuam na reparação tecidual do endométrio lesionado (CARMONA, 2011).

A resposta imune inata é a defesa inicial do organismo contra agentes invasores prejudiciais à saúde. É composta pelas barreiras físicas, células fagocíticas, células dendríticas, células NK, macrófagos, neutrófilos e proteínas séricas como citocinas e proteínas do sistema complemento. Se caracteriza pelo rápido tempo de resposta à agressores além de estimular a resposta imune adaptativa. Sua ativação ocorre em resposta aos produtos gerados por microrganismos e células lesionadas, sendo a resposta igual e constante independente das inúmeras vezes que o organismo seja exposto àquele agressor (FRISO, 2016).

O sistema complemento é ativado em resposta à agressões ao ambiente uterino, atuando principalmente os componentes C3 e C5 que agem juntamente das imunoglobulinas locais (MALSCHITZKY, 2007a). Desempenham diversos papéis, dentre eles a ampliação da permeabilidade vascular, ação quimiotática e opsonizante, ativação de lipases de membrana e lise de microrganismos (FIORATTI, 2010). Através de um estudo realizado *in vitro*, foram observados que os espermatozoides ativavam o complemento existente nas secreções uterinas, acarretando na clivagem do fator C5 em C5a e C5b, resultando na quimiotaxia mediada pelo componente C5a, com consequente aumento da migração de polimorfonucleares (PMNs) para

o útero. Enquanto isso, o C3b atua na opsonização de bactérias e espermatozóides, auxiliando na fagocitose e posterior eliminação de subprodutos inflamatórios do lúmen uterino (CARMONA, 2011).

Kenney e Khaleel (1975, apud CAMOZZATO, 2010) foram pioneiros nos estudos de imunoglobulinas uterinas. Neste estudo foram isolados IgG_a, IgG_b, IgG_c, IgT, IgA e IgM (MACEDO, 2002). Concentrações destas imunoglobulinas foram observadas em maior quantidade nas secreções uterinas em comparação ao plasma de éguas saudáveis, constatando que a produção destas ocorre no endométrio (CAMOZZATO, 2010). Achados imunohistoquímicos realizados no endométrio, propõem que as concentrações de imunoglobulinas livres e o número de células com Igs não se alteram durante as fases do ciclo estral, mantendo uma constância durante todo o período (CARMONA, 2011).

A maior parte das imunoglobulinas secretadas localmente no trato reprodutivo das éguas são a IgG e a IgA (SEGABINAZZI, 2016), produzidas pelos linfócitos B. Essas imunoglobulinas atuam em conjunto com o componente C3b do sistema complemento, auxiliando os neutrófilos na fagocitose de microrganismos agressores ao ambiente uterino (FRISO, 2016), atuando como opsoninas (SEGABINAZZI, 2016).

De acordo com Friso (2016), em estudos realizados, as concentrações de imunoglobulinas não diferem entre éguas resistentes e suscetíveis à enfermidade. Já em outro estudo realizado por Waelchi *et al* (1987, apud FLACH, 2014), éguas suscetíveis demonstravam maiores concentrações de anticorpos. Esses achados indicam que a deficiência nos valores de imunoglobulinas não contribuem para o aumento da suscetibilidade à endometrite.

Fioratti (2010) propõe que, apesar da importância da atuação dos fatores humorais sobre a defesa uterina, o fator mais importante seria a resposta celular. Segundo Silva, Blume e Oliveira (2014), a suscetibilidade à EPPC não estaria relacionada a uma deficiência de imunoglobulinas, e sim por outros motivos como atividade miométrial, drenagem linfática e dilatação cervical. Conclui-se que a eficiência da resposta uterina depende de diversos fatores integrados e não apenas do sistema imune humoral (LOPES, 2013).

Logo, a imunidade inata estimula o início da resposta imune adaptativa. Diferentemente da resposta inata, esta aumenta sua capacidade defensiva a cada nova exposição ao agente agressor. Isso ocorre pela produção de células de memória que resultam em respostas mais

rápidas a cada nova exposição ao invasor. É constituída por linfócitos B, linfócitos T e anticorpos e caracterizada por sua especificidade em diferenciar determinadas substâncias e microrganismos. Ambas as respostas imunes são reguladas através da liberação de citocinas como o fator de necrose tumoral (TNF) e as interleucinas (FRISO, 2016).

Após a exposição à bactérias ou sêmen decorrente de cobertura ou inseminação, inicia-se um rápido influxo de neutrófilos para o lúmen uterino. De acordo com Katila (1995, apud SEGABINAZZI, 2016), os neutrófilos já se encontram nos tecidos uterinos 30 minutos após o contato do sêmen com o endométrio, apresentando um pico inflamatório entre 6 e 12 horas após este contato e concluído em até 48 horas em éguas sadias.

A COX-2 também atua como fator pró-inflamatório através da modulação da cascata do ácido araquidônico. Este ácido graxo essencial é resultado da ação das enzimas fosfolipases sobre os fosfolípidos liberados pelos tecidos lesionados (SEGABINAZZI, 2016). O ácido araquidônico livre é convertido em prostaglandina G₂ e depois convertida em prostaglandina H₂, catalizadas pela enzima cicloxigenase. Por fim, a prostaglandina H₂ (PGH₂) sintetiza a prostaglandina D₂ (PGD₂), a prostaglandina E₂ (PGE₂), a PGF₂ α , a prostaglandina I(PGI) e tromboxanos A (TxA).

A PGD₂ possui um papel importante durante respostas alérgicas, atuando como mediador inflamatório, promovendo a ativação e quimiotaxia de eosinófilos e síntese de leucotrieno C₄ (SANTOS, 2011). Ainda, pode atuar como mediador anti-inflamatório, inibindo a produção de IL-12 por células dendríticas, de IFN- γ por células T e a supressão das funções de células NK. Esta prostaglandina também atua na produção de citocinas do padrão Th₂, participando do recrutamento de eosinófilos, basófilos e linfócitos Th₂. Também atua na mobilização de cálcio intracelular, exercendo um papel regulatório nos processos de ativação e recrutamento celular. Também atua na indução da liberação de IL-4, IL-5 e diminuição de IFN- γ (PEREIRA, 2013).

A PGE₂, por sua vez, atua como inibidor da função imunitária uterina, suprimindo a ação de PMNs sob o útero (CARMONA, 2011), o que a torna extremamente importante para a gestação na espécie equina. Segundo Pereira (2013), em um estudo realizado em camundongos a fim de estudar os efeitos antagônicos da PGD₂ e da PGE₂, demonstrou-se que a PGE₂ inibe a produção de IFN- γ pelos leucócitos e linfócitos T helper, aumenta a liberação de IL-5 por estas células, não alterando a produção de IL-4 pelas mesmas. Ademais, inibe a produção de IL-1 e TNF- α por macrófagos, IL-2 por linfócitos e IL-12 por células apresentadoras de

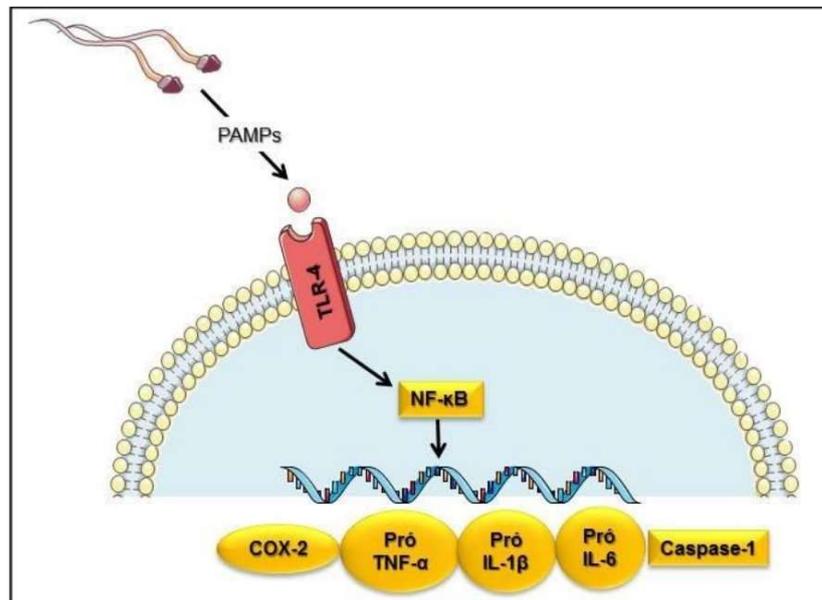
antígenos estimuladas por lipopolissacarídeos. Além disso, suprime a atividade bactericida das células NK, inibe a diferenciação de células Th0 para Th1 e inibe a expressão de receptores de IL-12. Para mais, estudos realizados para análise da atividade da PGE2 sobre endometrites bacterianas demonstraram que esta é produzida localmente e inibe a resposta uterina, favorecendo a infecção (PEREIRA, 2013). No desenvolvimento embrionário, sabe-se que existe uma correlação positiva entre o diâmetro e a produção de PGE2 pelo embrião com 9 a 15 dias de idade. Ademais, a PGE2 é um potente estimulante da contratilidade e tônus uterino na espécie equina (NASCIMENTO, 2011). Acredita-se que a PGE2 atue no reconhecimento materno, impedindo que o útero reconheça o embrião como invasor e tente descartá-lo. Segundo Canal (2015), próximo de cinco dias, o embrião começa a secretar grandes quantidades de PGE2 que, por sua vez, provoca contrações locais e relaxamento da musculatura lisa da parede do oviduto, auxiliando a passagem do embrião para o útero. Em acordo com Nascimento (2011) onde, a PGE2 auxiliaria no deslocamento embrionário desde 5,5 a 6 dias, até a cessação de movimento, próximo aos 18 dias. Ademais, acredita-se que a PGE2 também atue no bloqueio da luteólise pois auxilia na mobilidade embrionária, característica essencial para o bloqueio da regressão do corpo lúteo e proveniente manutenção da gestação. Além disso, em um estudo realizado por Merkl *et al* (2010, apud NASCIMENTO, 2011) observando a variação da expressão gênica de amostras endometriais em éguas gestantes e não gestantes 12 dias após a ovulação, foram encontrados receptores para PGE2, o EP4, 2,2 vezes maior em amostras gestacionais quando comparadas às amostras de éguas não gestantes. Esses achados corroboram com o estudo de Peres (2008), onde a autora constata a presença de subtipos de receptores de PGE2 (EP1, EP2, EP3 e EP4) nas células epiteliais de revestimento do lúmen tubárico e uterino e células musculares, sugerindo que o transporte embrionário e a comunicação entre o embrião e a tuba envolveriam a ação da PGE e seus respectivos receptores. Esses achados favorecem as hipóteses da atuação da PGE2 no reconhecimento materno embrionário através da supressão imunitária, contratilidade da musculatura tubárica e uterina e auxílio na mobilidade embrionária.

A PGF2- α é uma prostaglandina produzida pelas células do endométrio. Dentre suas atividades podemos citar as alterações na permeabilidade vascular, promoção da contratilidade uterina e luteólise. Como consequência da lise do corpo lúteo ativo, ocorre um declínio de progesterona circulante reduzindo seu efeito imunossupressor sobre o útero. Estudos realizados por Hoedemaker *et al* (1992, apud CARMONA, 2011) acerca do assunto, demonstraram que a PGF2 α atua como agente quimiotático e promove a fagocitose pelos neutrófilos e eosinófilos.

O aumento da $\text{PGF2}\alpha$ uterina é provavelmente responsável pelo aumento da atividade da fosfolipase A2 uterina e da COX-2, que resultam na produção de ácido araquidônico, convertendo-os em $\text{PGF2}\alpha$ e outros produtos como o leucotrieno B_4 (LTB_4). O Leucotrieno B_4 promove a quimiotaxia, migração e citotoxicidade intermediada por células independentemente dos anticorpos (CARMONA, 2011).

Inicialmente, as citocinas são sintetizadas como pró-moléculas e posteriormente são ativadas pela enzima caspase-1 (Figura 7), presente no útero de éguas e sintetizada através do estímulo do fator nuclear kappa B (NF- κ B) (SEGABINAZZI, 2016). As citocinas são polipeptídeos produzidos principalmente por linfócitos T. Estas substâncias atuam como mediadores e reguladores inflamatórios e imunológicos em resposta à agentes agressores e antígenos (MENDONÇA, 2016). Dentre as citocinas pró-inflamatórias de maior importância temos as IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-17A, IFN- γ e TNF- α . Estas promovem a ativação e fagocitose de macrófagos, aumento da atividade imunitária mediada por células e estimulam a síntese de proteínas de fase aguda.

Figura 7 -Reconhecimento dos PAMPs pelos TLRs e desencadeamento da transcrição gênica de fatores pró-inflamatórios pelo NF- κ B.



Fonte: Segabinazzi, 2016.

Em contrapartida, as citocinas de ação anti-inflamatória como a IL-4, IL-10 e IL-13 atuam na regulação e na amplificação da resposta imunológica humoral pela estimulação da diferenciação de linfócitos B e subprodutos como os anticorpos (MENDONÇA, 2016). Além disso, atuam no bloqueio ou supressão da intensidade da cascata inflamatória (FRISO, 2016).

De acordo com Segabinazzi (2016), a IL-1, IL-6 e IL-10 em uma fase mais avançada do processo inflamatório, atuam como inibidores da resposta inflamatória.

O fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) é um potente mediador associado à inflamações sistêmicas e respostas citotóxicas. É associado à reações de fase aguda e produzido tanto por células de defesa mononucleares como polimorfonucleares. Sua síntese é promovida por IFN- γ , IL-1, IL-2, GM-CSF (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor), substância P (neuromodulador), bradicinina, imunocomplexos, inibidores de ciclooxigenase e fator ativador de plaquetas (PAF). Em contrapartida, a IL-6, PGE2 e antagonistas do PAF atuam como inibidores da síntese de TNF- α . Atua principalmente fazendo citólise e citoestase e, por isso, possui ação deletéria quando produzido de forma exacerbada. Assim como a IL-1, também pode induzir a febre através da produção de PGE2 pelo hipotálamo, alterações endoteliais reduzindo atividade coagulante, aumento da atividade quimiotática de células de defesa além de impulsionar o metabolismo oxidativo de células fagocíticas (MENDONÇA, 2016). Segundo Carmona (2011), o TNF- α também atua como mediador na expressão de genes de fatores de crescimento e de citocinas, além da expressão de fatores, receptores, mediadores inflamatórios e estimulador imunitário, auxiliando no desenvolvimento de resistências à infecções. Ademais, pode induzir o aumento da produção de PGF2 α pelo endométrio.

O IFN- γ é produzido por células NK, células T natural killers (NKT) através da resposta imune inata. Quando desenvolve a resposta antígeno-específica passa a ser produzida por células T efectoras, linfócitos T helper tipo 1 e linfócitos T citotóxicos. Nos linfócitos, é produzida quando estimulados pela presença de constituintes antigênicos. Atua contra infecções causadas por bactérias, vírus e protozoários. O interferon de classe II atua na ativação de macrófagos e indução da expressão de MHC de classe II. Ademais, impulsiona e modula a resposta imune inibindo a proliferação de células produtoras de interleucinas com ação anti-inflamatória como a IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13, inibindo conseqüentemente a resposta mediada por anticorpos.

Em relação ao perfil de resposta dos linfócitos T helper, ambos se encontravam ativados, porém, o padrão de resposta de linfócitos T helper do tipo 1 foi predominante em relação à resposta do tipo 2 (Th2) no útero de animais afetados pela endometrite, sugerindo que o padrão Th0 possa estar atuando sobre o útero de éguas acometidas. As células Th0 são células efectoras parcialmente diferenciadas que expressam citocinas de ambos os padrões (Th1 e Th2), sendo ativadas após o reconhecimento de antígenos em órgãos linfóides secundários (MENDONÇA, 2016).

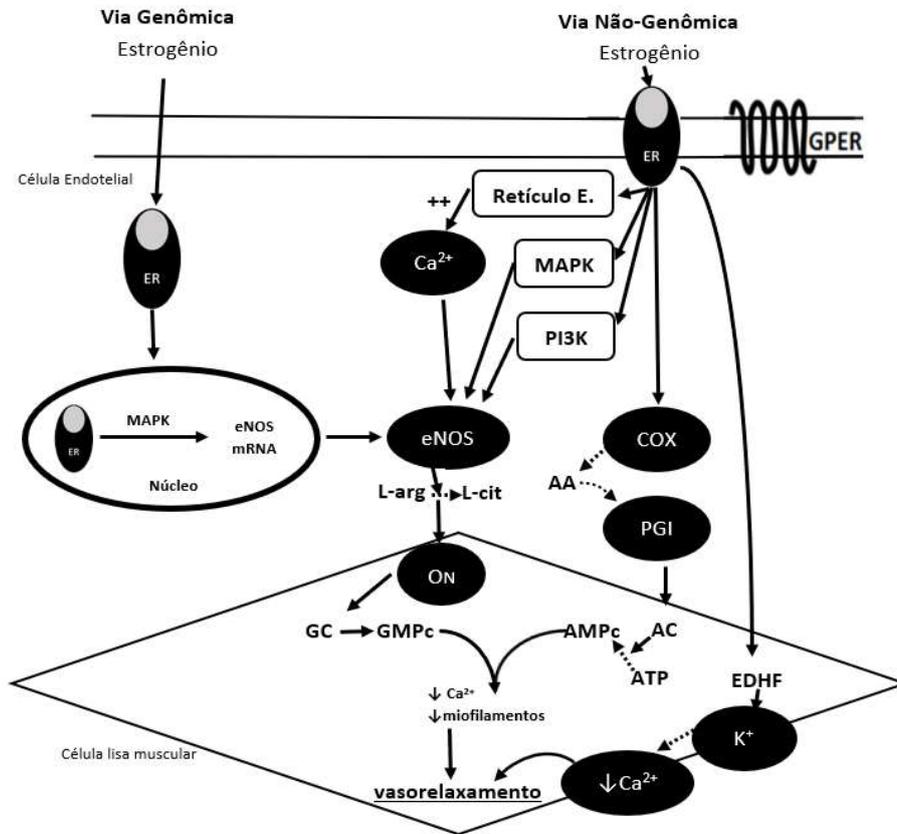
A expressão de citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β , TNF- α e IL-6 foi maior e mais prolongada em éguas suscetíveis, quando comparadas à animais resistentes após a inseminação artificial. Ademais, a expressão da IL-8 se demonstrou aumentada em éguas suscetíveis nas 24 horas após a inseminação e no diestro. Por fim, éguas resistentes demonstraram maior expressão de IL-1RA e IL-10, citocinas de caráter anti-inflamatório, 6 horas após a inseminação artificial (FRISO, 2016). Os mesmos achados foram expostos por Mendonça (2016) onde éguas suscetíveis demonstraram maior expressão de mRNA endometrial de citocinas pró-inflamatórias e menores níveis de citocinas anti-inflamatórias, incluindo a IL-10.

2.3.4 Hormônios

Os hormônios esteróides, assim como outros mecanismos naturais da égua, também participam da defesa uterina. Estes causam alterações no útero de acordo com o momento do ciclo estral em que a égua se encontra. Segundo Malschitzky *et al* (2007a), no estro, fase de predomínio estrogênico, o útero apresenta alterações como edemaciação e aumento da produção de muco. Ademais, o aumento do aporte sanguíneo favorece as concentrações de neutrófilos e atividade miometrial, auxiliando na expulsão de conteúdo nocivo no útero através da cérvix, que se encontra aberta neste período. Segundo Canesin (2013), o estradiol apresenta um efeito vasodilatador, resultando no edema uterino causado pelo aumento do aporte sanguíneo. Esse hormônio esteroidal atua através de duas vias, as vias genômica e não genômica (Figura 8). Através da via genômica o estradiol se liga aos seus receptores nucleares presentes nas células alvo regulando a expressão gênica através da transcrição gênica. Esse processo ocorre através da ativação dos receptores de estrogênio (ERs) citosólicos e nucleares, como os receptores de estrogênio alfa e os receptores de estrogênio beta (ER α e ER β). Estes receptores ligados aos estrogênios passam a atuar como fatores de transcrição, ligando-se à sequências específicas no DNA, denominadas como elementos responsivos ao estrogênio, presentes na região promotora ou potencializadora do gene alvo. Esta reação desencadeia a ativação da cascata de sinalização, resultando nos efeitos biológicos exercidos pelos estrogênios, como o aumento de produção de de enzimas óxido nítrico sintase endotelial (eNOS), acarretando no efeito vasodilatador mediado pelo óxido nítrico (OLIVEIRA, 2014). A via não genômica possui a ação mais rápida em comparação à genômica por não precisar sintetizar novas proteínas (CANESIN, 2013). Os estrogênios se ligam aos ERs presentes na membrana da superfície endotelial. Estes receptores são agregados à liberação de cálcio do retículo endoplasmático e estimulação da via de proteína

quinase ativada por mitógeno (MAPK) ou da fosfatidilinositol-3-quinase (PI3K). Esse processo estimulatório resulta na ativação da eNOS e na produção de óxido nítrico (ON). O ON, por sua vez, difunde-se para as células do músculo liso vascular, estimulando a enzima guanilato ciclase, aumentando o monofosfato cíclico de 3',5' guanosina (GMPc). O GMPc resulta no relaxamento do músculo liso vascular através da diminuição de cálcio e da sensibilidade dos miofilamentos do músculo liso ao Ca^{2+} . Nesta via, os ERs endoteliais também podem aumentar a síntese de prostaglandina I (PGI) através da ativação de COX. A PGI se liga aos receptores no músculo liso vascular e promove a ativação de adenilato ciclase (AC), aumentando a produção de AMPc. Esta, por sua vez, causa vasorelaxamento através de mecanismos semelhantes aos do GMPc. Ademais, os ERs também podem atuar através do aumento da síntese de fator hiperpolarizante derivado do endotélio (EDHF), que ativa os canais de potássio, promovendo a hiperpolarização e o fechamento dos canais de cálcio, resultando no relaxamento do endotélio vascular (OLIVEIRA, 2014).

Figura 8 - Mecanismos de vasorelaxamento induzidos pelos estrogênios através das vias genômica e não-genômica.



Através da via genômica, o estrogênio se liga aos receptores citosólicos e nucleares, ativando MAPK, transcrição gênica e consequente aumento da produção da eNOS. Na via não genômica, os estrogênios se ligam aos ERs presentes na membrana da superfície endotelial induzindo a liberação de cálcio pelo retículo endoplasmático, além da estimulação do MAPK e do PI3K, resultando na produção de eNOS. O eNOS, por sua vez, induz a conversão de L-arginina para L-citrulina, gerando ON. Este se difunde às células do músculo liso vascular, estimulando a síntese de guanilato ciclase, acarretando no aumento de GMPc. O GMPc induz a diminuição de cálcio e sensibilidade dos miofilamentos ao cálcio, resultando na vasodilatação. Ademais, os ERs induzem a produção de COX, ocasionando a síntese e conversão de ácido araquidônico em prostaglandina I. A PGI, por sua vez, promove a ativação da enzima adenilato ciclase, estimulando a conversão de ATP em AMPc. O AMPc, por sua vez, atua de forma semelhante ao GMPc. Além disso, os ERs também atuam no aumento da produção de EDHF, que, por sua vez, ativa os canais de potássio, promovendo a hiperpolarização e fechamento dos canais de cálcio, resultando no relaxamento da musculatura lisa vascular.

Fonte: Adaptado de Oliveira, 2014.

Sabe-se que o estrógeno e a progesterona possuem ações sinérgicas e/ou antagônicas nos diversos tecidos e células alvo. Da mesma forma, os receptores para estes hormônios possuem alterações em seus padrões de acordo com o período do ciclo estral em que o animal se encontra. Ao longo do estro, o estradiol estimula tanto a expressão dos próprios receptores

como a expressão dos receptores de progesterona. Em contrapartida, no diestro, as concentrações elevadas de progesterona inibem a expressão dos receptores de estradiol além de suprimirem seus próprios receptores a partir do meio até o fim desta fase (CANESIN, 2013).

Conforme Canesin (2013), a progesterona seria um hormônio dominante em relação ao estrogênio. Essa relação foi demonstrada através da administração concomitante de estrogênio e progesterona em pacientes acíclicas ou ovariectomizadas onde os efeitos da progesterona se sobressaíram. Em outro estudo foi realizada a administração de estradiol, ocorrendo aumento da perfusão vascular uterina 1 dia após a aplicação. Porém, o ampliado da perfusão não ocorreu quando se administrou novamente o estradiol durante o diestro, nos dias 5 e 10 (D5 e D10). Conclui-se que, possivelmente, ocorre um efeito de “down-regulation” dos receptores de estradiol presentes no útero, ou relacionado às altas concentrações plasmáticas de progesterona presentes na fase do diestro. Esses achados indicam que a sensibilidade e dinâmica dos receptores hormonais nos tecidos afetam a resposta aos estímulos destes hormônios esteroidais (CANESIN, 2013). Estas alterações na atividade dos hormônios esteroidais sob os diversos tecidos influenciam a maneira com que são utilizados de forma exógena na clínica reprodutiva. Assim, espera-se que a aplicação exógena de estradiol no diestro, período de dominância progesterônica, não demonstre efeitos satisfatórios. Contudo, a administração exógena na fase estrogênica resulta em efeitos positivos sobre o endotélio vascular uterino.

Em períodos onde há predomínio da progesterona como ocorre no diestro, a cérvix se encontra fechada e as contrações miométriais se apresentam com longos períodos de contração e baixa amplitude, caracterizando o tônus uterino mais firme e dificultando a eliminação do conteúdo remanescente no útero (MALSCHITZKY *et al.*, 2007a).

Em conformidade com os achados de Evans *et al* (1986, apud TAKAKURA, 2020), éguas acíclicas que foram tratadas com estrogênio conseguiram restabelecer a homeostase do ambiente uterino após a inoculação de bactérias. No mesmo estudo, éguas tratadas com progesterona não conseguiram restabelecer a homeostase uterina, sendo observado acúmulo de conteúdo infeccioso. Esses achados corroboram com o exposto por Malschitzky *et al* (2007a), sendo possível concluir que o estrogênio e a progesterona influenciam diretamente na capacidade uterina em debelar infecções.

Segundo Takakura (2020), a ação da progesterona promove preferencialmente a ativação de Th2 (Linfócitos T helper tipo 2), estimulando os linfócitos periféricos a produzirem fatores imunomodulatórios que determinam a secreção de citocinas como IL-3, IL-4 e IL-10,

que são, por sua vez, interleucinas com ação anti-inflamatória. Em concordância com Thiengo e Lima (2017), a IL-10 inibe a diferenciação e ativação dos linfócitos Th1, inibindo consequentemente a síntese de substâncias pró-inflamatórias como IFN- γ , TNF- α e IL-2. Ademais, a inibição da síntese de TNF- α por macrófagos diminui, por consequência, subprodutos inflamatórios que apresentam toxicidade para o embrião.

Conforme Thiengo e Lima (2017), a regulação do equilíbrio entre Th1 e Th2 é mediada pelo PIBF (progesterone-induced blocking factor), que, por sua vez, é sintetizado pelas células T sob a influência da progesterona. Ademais, esse fator também é responsável pelo controle da expressão de perforinas. As células natural killers (NK) produzem perforinas (proteínas responsáveis pela formação de poros na membrana celular de células invasoras), corroborando com os achados de Takakura (2020), onde a progesterona influenciaria na ação das células NK.

Por conta dos efeitos do estrógeno sob o útero, a inflamação transitória que ocorre após a cópula ou inseminação no período de cio se resolve em torno de 24 a 48 horas. Com provenientes falhas da defesa uterina e prolongamento do processo inflamatório como ocorre na EPPC, perdas embrionárias são provenientes da liberação constante da PGF2 α , que resulta na queda dos níveis de progesterona circulantes pelo efeito de lise do CL (MALSCHITZKY *et al.*, 2007a). Isso ocorre em virtude de éguas com EPPC possuírem uma maior síntese de citocinas pró-inflamatórias, como a COX-2, que atua na conversão de ácido araquidônico em PGF2 α , resultando em um aumento dessa prostaglandina no útero. Ademais, éguas suscetíveis que apresentam EPPC possuem um maior grau de lesões degenerativas do endométrio e vasos sanguíneos, o que pode dificultar a atividade dos hormônios circulantes sob o útero. Para mais, éguas suscetíveis também demonstram uma resposta menos eficiente à ocitocina exógena, o que corrobora com os achados degenerativos do endométrio por Malschitzky *et al* (2007a).

3 CONCLUSÃO

Tendo conhecimento sobre a relevância econômica da prática acerca da reprodução equina e sabendo-se que a endometrite é a afecção que gera maiores perdas econômicas nesse ramo, é de suma importância que o médico veterinário saiba lidar com esta enfermidade. Pois, tendo em vista que, se não tratadas, podem ocasionar subfertilidade ou infertilidade nos animais. Com isso, é válido ressaltar a importância da avaliação periódica dos animais, se atentando ao histórico reprodutivo, a fim de diagnosticar e tratar precocemente os animais que apresentarem suscetibilidade à EPPC. Assim, aumentam-se as taxas de prenhez do rebanho e, conseqüentemente, são evitadas perdas econômicas decorrentes de processos inflamatórios e infecciosos de caráter crônico e conseqüentes perdas embrionárias. A conduta terapêutica mais adequada varia, devendo-se avaliar e levar em consideração múltiplos fatores. Dentre eles, a necessidade do uso de antibióticos ou terapias biológicas para resolução de aderências bacterianas no endométrio, a persistência em que a endometrite é apresentada no decorrer da estação de monta, além da avaliação do custo-benefício para o proprietário. Recomenda-se a avaliação do histórico reprodutivo da égua, acompanhamento ultrassonográfico e lavagem uterina de éguas que apresentam líquido intrauterino pré e pós-cobertura, demonstrando-se como um método eficaz de diagnóstico e tratamento, além do baixo custo. Recomenda-se também a administração de drogas ecbólicas como a ocitocina para auxílio da eliminação de líquidos remanescentes no útero. O uso de antibióticos e terapias biológicas são recomendados quando houver constatação através de biópsia e cultura uterina de aderências bacterianas endometriais ou a não eficiência do método recomendado. Assim, o uso de lavagem uterina com soro e uso concomitante de drogas ecbólicas se apresentou eficiente em eliminar os líquidos e subprodutos inflamatórios decorrentes da EPPC na maioria dos estudos apresentados.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALGHAMDI, A. S. *et al.* Species-specific interaction of seminal plasma on sperm-neutrophil binding. *Animal Reproduction Science*, v. 114, n. 4, p. 331-44, set 2009.

ALGHAMDI, A. S.; FOSTER, D. N. Seminal DNase Frees Spermatozoa Entangled in Neutrophil Extracellular Traps. *Biology of Reproduction*, v. 73, n. 6, p. 1174-1181, ago 2005.

ALGHAMDI, A. S.; FOSTER, D. N.; TROEDSSON, M. H. T. Equine seminal plasma reduces sperm binding to polymorphonuclear neutrophils (PMNs) and improves the fertility of fresh semen inseminated into inflamed uteri. *Reproduction*, [S.L.], v. 127, n. 5, p. 593-600, maio 2004.

ARISTIZÁBAL, Viviana Helena Vallejo *et al.* Transferência de embriões em éguas receptoras anovulatórias. *Revista de Medicina Veterinaria*, Bogotá, n. 33, p. 137-147, jun 2017.

BROSSI, P. M. *Avaliação dos efeitos antiinflamatórios da proteína antagonista de receptor de interleucina-1 (IRAP) por citometria de fluxo em líquido sinovial de equino.* Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

CAMOZZATO, G. C. *Endometrite em éguas.* 2010. 43 f. Monografia (Graduação) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Comissão de Estágio, Porto Alegre, 2010.

CANAL, V. *Características da gestação inicial e reconhecimento materno da prenhez na égua.* Monografia (Graduação) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Porto Alegre, 2015.

CANESIN, H. S. *Caracterização da hemodinâmica uterina de éguas durante o ciclo estral.* Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2013.

CARMONA, J. M. P. *Resposta inflamatória uterina em éguas submetidas a inseminação artificial.* Dissertação (Mestrado) – Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa, 2011.

CELEGHINI, Eneiva *et al.* Relação entre a qualidade do sêmen com a endometrite pós-cobertura em equinos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, v. 41, n. 1, p. 169-174, mar 2017.

CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL. *Estudo do Complexo do Agronegócio Cavalos.* Brasília: CNA, 2004. Disponível em: <<https://www.cepea.esalq.usp.br/en/documentos/texto/estudo-do-complexo-do-agronegocio-do-cavalos-resumo-coletanea-estudos-gleba.aspx>>. Acesso em: 02 out. 2020.

CRUZ JÚNIOR, J. A. *Processo inflamatório no útero de éguas: Endometrite (Revisão de Literatura).* Monografia (Graduação) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, Campus de Patos, Patos, 2016.

DONE S. H.; ASHDOWN. R. R. *Atlas colorido de anatomia veterinária do cavalo*. 2. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.

FACTOR, Luana; CRUZ, Diego; ORLANDI, Cassia. Métodos de coleta de amostra para exame de citologia endometrial em éguas com endometrite. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 43, n. 3, p. 748-755, set 2019.

FERRIS, Ryan; FRISBIE, David; MCCUE, Patrick. Use of mesenchymal stem cells or autologous conditioned serum to modulate the inflammatory response to spermatozoa in mares. *Theriogenology*, Rio de Janeiro, v. 82, n. 1, p. 1-7, jul 2014.

FIALA, S. M. E. *Transporte espermático e respota inflamatória na égua após a inseminação com diferentes concentrações de espermatozoides*. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Porto Alegre, 2004.

FIALA, S. M. E.; MATTOS, R. C. Transporte espermático na égua. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 19, maio 2011, Recife. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, v. 35, n. 2, p. 253-255, jun 2011.

FIALA, Sandra Mara *et al.* Effect of sperm numbers and concentration on sperm transport and uterine inflammatory response in the mare. *Theriogenology*, Rio de Janeiro, v. 67, n. 3, p. 556-562, set 2006.

FIORATTI, E. G. *Efeito dos anti-inflamatórios esteróides na reação inflamatória e na fertilidade de éguas normais e susceptíveis à endometrite persistente após inseminação artificial*. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Botucatu, 2010.

FLACH, M, L. *O uso de terapias biológicas no tratamento de endometrite persistente pós cobertura e endometrose em éguas*. Monografia (Graduação) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Porto Alegre, 2014.

FRISO, A. M. *Resposta inflamatória uterina de éguas com endometrite persistente pós-cobertura tratadas com firocoxib*. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2016.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. *Pesquisa da Pecuária Municipal – PPM. Efetivo de rebanhos, por tipo (cabeças), 2019*. Rio de Janeiro: IBGE, 2019. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html?=&t=destaques>>. Acesso em: 24 out. 2020.

JIMENEZ FILHO, Diego Lobon *et al.* Pneumovagina e Urovagina em éguas – Revisão de literatura. *Nucleus Animalium*, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 71-80, 30 maio 2015. Fundação Educacional de Ituverava, 2015.

KATILA, T. Sperm-uterine interactions: a review. *Animal Reproduction Science*, Rio de Janeiro, v. 68, n. 3-4, p. 267-272, 2001.

LOPES, J. L. P. S. *Endometrite na égua*. Relatório Final de Estágio (Mestrado) – Universidade de Porto, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Porto, 2013.

MACEDO, P. L. *Endometrite persistente pós-cobertura em éguas*. Monografia (Pós-Graduação) – Medicina Veterinária da Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho”, Botucatu, 2002.

- MALSCHITZKY, Eduardo *et al.* Pregnancy and embryo loss rates in non-lactating mares bred in the first or in other estrus cycles during the breeding season. *Pferdeheilkunde*, v. 19, p. 641-645, 2003.
- MALSCHITZKY, Eduardo *et al.* Endometrite na égua, novos conceitos. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 17., jun 2007, Curitiba. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 31, p. 17-26, Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, mar 2007a.
- MALSCHITZKY, Eduardo *et al.* Vulvoplastia pré ou pós-cobertura e sua influência na fertilidade. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, [S.L.], v. 14, n. 1, p. 56-58, 2007. Editora Cubo. abr 2007b.
- MENDONÇA, V. H. *Variação da concentração de marcadores inflamatórios em lavados uterinos de éguas com endometrite naturalmente acometida*. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba, 2016.
- METCALF, E. S.; SCOGGIN, K.; TROEDSSON, M. H. T. The effect of platelet-rich plasma on endometrial pro-inflammatory cytokines in susceptible mares following semen deposition. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 32, p. 475-518, ago 2012.
- NASCIMENTO, J. *Perfil do RNAm da proteína transportadora de prostaglandina (PGT) no endométrio equino in vivo e sobre influência embrionária in vitro*. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.
- NEVES, A. P. *et al.* In vitro evaluation of chemotaxis, vitality, and generation of reactive oxygen species of fresh or frozen equine leukocytes used in the treatment of endometritis. *Animal Reproduction*, v. 2, n. 3, p. 199-206, set 2005.
- OLIVEIRA, Thiago. Efeito vasorelaxante da estrona sobre aorta torácica de ratos: contribuição ao estudo do mecanismo de ação. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Instituto de Ciências Biológicas, 2014.
- PALM, F. Influence of different semen extenders and seminal plasma on the inflammatory response of the endometrium in oestrous mares. *Animal Reproduction Science*, Rio de Janeiro, v. 94, n. 1-4, p. 286-289, ago 2006.
- PEREIRA, Priscilla. *Efeitos antagônicos da prostaglandina D2 e prostaglandina E2 na resposta imune durante infecção experimental por Histoplasma capsulatum*. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, 2013.
- PERES, K. R. *Emprego tópico de prostaglandina da família E ou de análogo com o intuito de acelerar a migração de embriões equinos para o útero e imunolocalização dos respectivos receptores*. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.
- PIMENTEL, M. M. L. *et al.* Monitoramento do ciclo estral de fêmeas equinas por meio de citologia vaginal, ultrassonografia e dosagem hormonal. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia*. Universidade Paranaense, Umuarama, v. 17, n. 1, p. 69-75, jun 2014.
- RECALDE, E. C. S. *Influência da qualidade do sêmen criopreservado equino sobre a taxa de prenhez, hemodinâmica uterina e endometrite pós-cobertura*. Dissertação (Mestrado) –

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

REGHINI, Maria. *Efeito do tratamento com plasma rico em plaquetas em éguas resistentes e susceptíveis à endometrite persistente após inseminação artificial*. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2013.

ROMANO, M. A.; MUCCIOLO, R. G.; SILVA, A. E. D. F. Biologia Reprodutiva de éguas: estudo de ciclo estral e momento de ovulação. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, São Paulo, v. 35, n.1, p. 25-28, 1998.

RUA, Miguel *et al.* Métodos diagnósticos de endometrite em éguas. *PUBVET*, v. 10, n. 12, p. 895-908, dez 2016.

SANTOS, Fabio. *PGD2 e inflamação eosinofílica: mecanismos moleculares e potencial como alvo terapêutico*. Tese (Doutorado) – Instituto Oswaldo Cruz, 2011.

SEGABINAZZI, L. G. T. M. *Efeito do plasma rico em plaquetas pré ou pós inseminação artificial sobre a resposta inflamatória e índice de fertilidade em éguas susceptíveis a endometrite persistente pós-cobertura*. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Animal, Botucatu, 2016.

SILVA, Filipe; BLUME, Hélio; OLIVEIRA, Rodrigo. Endometrite persistente pós-cobertura. *PUBVET*, Londrina, v. 8, n. 20, Ed. 269, Art. 1796, Out. 2014.

SINGH, B. (2019). *Tratado de Anatomia Veterinária*. DYCE; SACK; WENSING (Trad.). 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2019.

SOUZA, Wagner; NARDUCCI, Kelen; VILLA FILHO, Paulo Cezar. Vulvoplastia em égua para tratamento de pneumovagina: relato de caso. *Revista Científica de Medicina Veterinária-UNORP*, v. 1, n. 1, p. 17-21, 2017.

TAKAKURA, G. S. *Avaliação do efeito da utilização de lavagem uterina com solução fisiológica ozonizada em éguas*. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2020.

THIENGO, Camila Menon; LIMA, Rachel Bicalho. Gravidez: um paradoxo imunitário. *Revista científica ambiente acadêmico*, Cachoeiro de Itapemirim, v. 3, n. 2, p. 25-42, dez 2017.

TROEDSSON, M. H. T. Breeding-Induced Endometritis in Mares. *Veterinary Clinics Equine Practice*, Rio de Janeiro, v. 22, n. 3, p. 705-712, 2006.

TROEDSSON, M. H. T. *et al.* Interaction between equine semen and the endometrium: the inflammatory response to semen. *Animal Reproduction Science*, Rio de Janeiro, v. 68, n. 3-4, p. 273-278, 2001.

TROEDSSON, M. H. T. Sperm transport and elimination from the mare’s reproductive tract. *Pferdeheilkunde*, v. 26, n.1, p. 25-28, 2010.

TROEDSSON, M. H. T.; WOODWARD, E. M. Our current understanding of the pathophysiology of equine endometritis with an emphasis on breeding-induced endometritis. *Reproductive Biology*, Rio de Janeiro, v. 16, n. 1, p. 8-12, 2016.

VENDRUSCOLO, Cynthia *et al.* Uso do soro autólogo condicionado e do plasma rico em plaquetas na terapia ortopédica de equinos. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 35, n. 5, p. 2607-2624, nov 2014.

WATSON, E. D. *et al.* Effect of insemination time of frozen semen on incidence of uterine fluid in mares. *Theriogenology*, Rio de Janeiro, v. 56, n. 1, p. 123-131, 2001.