

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE VETERINÁRIA**  
**TRABALHO TÉCNICO-CIENTÍFICO PARA CONCLUSÃO DE CURSO**

**TERAPIAS ALTERNATIVAS NO TRATAMENTO DE ENDOMETRITE NA ESPÉCIE EQUINA**

**Autor:** Juliana Torriani Maciel

**PORTO ALEGRE**  
**2016/2**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE VETERINÁRIA**  
**TRABALHO TÉCNICO-CIENTÍFICO PARA CONCLUSÃO DE CURSO**

**TERAPIAS ALTERNATIVAS NO TRATAMENTO DE ENDOMETRITE NA ESPÉCIE EQUINA**

**Autor:** Juliana Torriani Maciel

**Monografia apresentada à Faculdade de Veterinária como requisito parcial para obtenção da Graduação em Medicina Veterinária**

**Orientador:** Prof. Rodrigo Costa Mattos

**Co-orientador:** Gabriel de Oliveira Santos

**PORTO ALEGRE**  
**2016/2**

## RESUMO

A fim de manter o complexo do agronegócio equino no Brasil, se torna fundamental a manutenção da saúde reprodutiva das fêmeas, principalmente. A fertilidade da fêmea é influenciada por diversos fatores, sendo o complexo endometrite-endometrose a principal causa na redução do seu potencial de fertilidade. Dentre todas as endometrites, a endometrite persistente pós-cobertura é a mais comum e se estabelece por uma continuidade da inflamação fisiológica uterina que ocorre logo após a inseminação artificial/monta natural. Por muito tempo, se utilizou tratamentos como lavagens uterinas, infusão de antibióticos ou até administração de drogas ecbólicas. Porém, com o avanço tecnológico se possibilitou o conhecimento de diferentes terapias biológicas, aumentando a qualidade de fagocitose e a quimiotaxia do tecido. Por outro lado, a endometrose é um processo crônico onde as regiões periglandulares se encontram com deposição de tecido fibroso, comprometendo sua função e a capacidade da fêmea levar uma gestação a termo. Anteriormente às terapias biológicas não havia resolução para essa patologia. Atualmente, as terapias celulares têm alto poder regenerativo e mostram bons resultados quando utilizadas no tratamento de ambas patologias. Além disso, a melhor compreensão sobre as funções das proteínas do plasma seminal e sua ação sobre a resposta inflamatória do útero, prometem uma possível alternativa nas terapias dessas afecções.

**Palavras-chave:** égua; endometrite; endometrose; terapias biológicas; proteínas.

## **ABSTRACT**

*The complex of the equine agribusiness in Brazil requires more and more expenses and care of these animals. Therefore, to maintain this complex, it is fundamental to maintain the reproductive health of the females, mainly. The female fertility is influenced by several factors, the complex endometritis-endometosis being the main cause in the reduction of its fertility potential. Among all endometritis, persistent post-breeding endometritis is the most common and is established by a continuation of physiological uterine inflammation that occurs soon after artificial insemination / natural breeding. For a long time, treatments such as uterine lavages, infusion of antibiotics or even administration of ecboic drugs have been used. However, with technological advances, it became possible to know different biological therapies, increasing the quality of phagocytosis and chemotaxis of the tissue. On the other hand, endometrosis is a chronic process where the periglandular regions meet with deposition of fibrous tissue, compromising its function and the ability of the female to carry out a full-term pregnancy. Previously to biological therapies there was no resolution for this pathology. Currently, cell therapies have high regenerative power and show good results when used in the treatment of both pathologies. In addition, a better understanding of the functions of seminal plasma proteins and their action on the inflammatory response of the uterus may be a promise of a possible alternative in the therapies of these conditions.*

**Key-words:** *mare; endometritis; endometrosis; biological therapies; proteins.*

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Incidência dos fatores de risco de endometrite em cavalos de esporte.	<b>13</b>
<b>Tabela 2</b>	Doses recomendadas para terapia intra-uterina de antibióticos em éguas com endometrite bacteriana.	<b>16</b>
<b>Tabela 3</b>	Antibióticos utilizados no tratamento sistêmico de endometrites em éguas	<b>16</b>
<b>Tabela 4</b>	Antigúngicos utilizados como terapia intra-uterina de endometrite fúngica.	<b>17</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	<i>Modelo dos mecanismos de defesa uterino proposto por Troedsson, 1999</i>	<b>11</b>
-----------------	---	-----------

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>ENDOMETRITE</b>	<b>3</b>
<b>2.1</b>	<b>ÉGUAS SUSCETÍVEIS À ENDOMETRITE</b>	<b>4</b>
<b>3</b>	<b>ENDOMETROSE</b>	<b>6</b>
<b>4</b>	<b>MECANISMOS DE DEFESA</b>	<b>8</b>
<b>4.1</b>	<b>BARREIRAS FÍSICAS</b>	<b>8</b>
<b>4.2</b>	<b>LIMPEZA FÍSICA</b>	<b>8</b>
<b>4.3</b>	<b>MECANISMOS CELULARES E IMUNOLÓGICOS DE DEFESA</b>	<b>10</b>
<b>4.3.1</b>	<b>Imunidade celular</b>	<b>10</b>
<b>4.3.2</b>	<b>Imunidade humoral</b>	<b>11</b>
<b>5</b>	<b>IDENTIFICAÇÃO CLÍNICA DA ÉGUA SUSCETÍVEL</b>	<b>12</b>
<b>6</b>	<b>TRATAMENTOS</b>	<b>14</b>
<b>6.1</b>	<b>TRATAMENTOS TRADICIONAIS</b>	<b>14</b>
<b>6.1.1</b>	<b>Lavagem uterina</b>	<b>14</b>
<b>6.1.2</b>	<b>Antibióticos e antifúngicos</b>	<b>15</b>
<b>6.1.3</b>	<b>Drogas ecbólicas</b>	<b>17</b>
<b>6.2</b>	<b>TRATAMENTOS NÃO-TRADICIONAIS</b>	<b>18</b>
<b>6.2.1</b>	<b>Imunomoduladores</b>	<b>18</b>
<b>6.2.2</b>	<b>Células tronco</b>	<b>19</b>
<b>6.2.2.1</b>	<b>Células tronco mesenquimais</b>	<b>19</b>
<b>6.2.2.2</b>	<b>Utilização de células tronco na endometrite persistente pós-cobertura</b>	<b>20</b>
<b>6.2.2.3</b>	<b>Utilização de células tronco na endometrose</b>	<b>21</b>
<b>6.2.3</b>	<b>Plasma rico em plaquetas</b>	<b>23</b>
<b>6.2.3.1</b>	<b>Utilização do plasma rico em plaquetas no tratamento das endometrites</b>	<b>24</b>
<b>6.2.4</b>	<b>Terapias alternativas</b>	<b>25</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>27</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>28</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O complexo do agronegócio do cavalo no Brasil é responsável por alta movimentação financeira e social. O aumento da população de classe média no país é o que pode explicar o forte crescimento da equideocultura no meio urbano, utilizando os animais para lazer e esporte nos últimos anos. A criação destes animais, ao contrário dos cavalos usados para trabalho, requer maior gasto e cuidados (MAPA, 2016). Portanto, para sustentar a produção destes animais, assim como manter o crescimento deste complexo, é fundamental manter a saúde reprodutiva e fertilidade destes indivíduos.

Entretanto, a seleção destes animais para esporte acabou prejudicando sua capacidade reprodutiva. Além disso, a espécie equina apresenta suas peculiaridades em comparação a outras espécies. Na maioria das espécies domésticas, o sêmen é depositado na vagina e os espermatozoides se deslocam em direção ao lúmen uterino. Já nos equinos, devido às características anatômicas da cérvix da égua que se encontra aberta durante o estro e de sua adaptação ao processo uretral do macho, exposto durante a ejaculação, os espermatozoides são depositados no interior do útero, juntamente dos outros componentes do sêmen. Esta característica é o que torna as endometrites tão comuns nas fêmeas equinas, tornando-as a terceira doença mais comum dentre as condições médicas nos cavalos adultos (TRAUB – DARGATZ *et al.*, 1991) e a maior responsável por falhas reprodutivas nas fêmeas (GUTJAHR *et al.*, 2001) até os dias de hoje.

A endometrite é um processo inflamatório fisiológico do útero, porém, quando tal subfertilidade persiste, torna o ambiente uterino inóspito ao conceito, podendo reduzir o potencial da fertilidade da égua. O processo pode ser agudo ou crônico e muitas vezes está relacionado com o estabelecimento de alguma contaminação bacteriana. A endometrite infecciosa é um dos principais obstáculos que pode limitar a fertilidade de uma égua. A habilidade das éguas ou a ausência desta em combater os contaminantes ou produtos inflamatórios do útero, resultou na divisão desses animais em grupo das fêmeas resistentes e no grupo das fêmeas suscetíveis à endometrite aguda persistente pós-cobertura (PYCOCK, 2009).

As éguas suscetíveis são aquelas incapazes de resolver a inflamação uterina, devido a uma ou mais falhas no seu sistema de limpeza, dentro de um período de 48 horas (LEBLANC *et al.*, 1989). A persistência desta inflamação após o quinto dia pós-

fertilização pode levar à liberação de prostaglandinas, responsáveis pela lise do corpo lúteo e consequente diminuição da progesterona e morte embrionária (NEELY et al., 1979). Portanto, o médico veterinário, utilizando-se dos avanços na pesquisa e tecnologia, tem função fundamental no manejo e desenvolvimento de novas estratégias de tratamento desta situação na tentativa de mitigar o prejuízo causado pelas endometrites e que serão detalhadas ao longo deste trabalho.

## 2 ENDOMETRITE

A endometrite é uma inflamação do endométrio que pode ser dividida em aguda, subaguda, crônica, crônica degenerativa, ou ainda induzida pós-cobertura (LEBLANC, 2010), sendo esta última a mais comum. Aproximadamente 15% das fêmeas de uma população de éguas puro sangue inglês sadias apresentam endometrite persistente pós-cobertura (ZENT, *et al.*, 1998). Uma inflamação uterina transitória é considerada normal após a monta natural ou inseminação (KATILA, 1995; FIALA, *et al.*, 2007) e tem grande importância na tentativa de eliminar os espermatozoides em excesso, debris celular, componentes do plasma seminal e outros contaminantes que possam atrapalhar a chegada do embrião ao ambiente uterino. Caso isto não ocorra, esta inflamação causará a liberação de prostaglandinas, podendo interferir na qualidade do corpo lúteo e, conseqüentemente, na quantidade de progesterona por ele secretada (NEELY, 1979). A falha em um ou mais mecanismos de defesa uterina podem resultar no que se chama de endometrite persistente, diminuindo significativamente o potencial da fertilidade na égua (TROEDSSON, 2011).

Além disso, essa situação pode ocorrer com associação de infecção bacteriana (KENNEY, 1992). As bactérias podem ter acesso ao útero como contaminantes e comensais; como oportunistas; ou como doenças venéreas. Normalmente as regiões vestibular e vulvar têm constante população bacteriana, porém, em associação a essa população, organismos oportunistas como *Streptococcus zooepidemicus*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus* spp. podem ser encontradas (PYCOCK, 2009).

Dentre as bactérias causadoras de endometrite, a *S. zooepidemicus* é o patógeno mais frequentemente isolado do ambiente uterino (FERREIRO, *et al.*, 1986; NIELSEN, 2005; RIDDLE, 2007; LEBLANC, 2007) e é grande causadora de morte embrionária em éguas prenhas (SMITH, 1997; WELSH, 1984). Segundo um trabalho realizado por Christoffersen *et al.* (2015), em 59% das éguas apresentando líquido intrauterino havia também infecção bacteriana. Destas, 81% das infecções era causada pelo *S. zooepidemicus*.

A hipótese considerada é de que a bactéria cause uma infecção ascendente no trato reprodutivo, devido aos mecanismos de defesa uterino comprometidos, da égua suscetível (CAUSEY, 2006), porém, estudos sugerem que, além disso, há a existência

de cepas melhor adaptadas a sobreviverem e colonizarem o endométrio dessas éguas (WEBB, 2006).

## 2.1 ÉGUAS SUSCETÍVEIS À ENDOMETRITE

As éguas suscetíveis são aquelas consideradas incapazes de solucionar a inflamação do endométrio até 48 horas após a cobertura, ao contrário das éguas resistentes que solucionam esta inflamação em até 24 horas (LEBLANC, 1989). Há a tendência dessas éguas apresentarem características em comum, como idade avançada, histórico de falhas reprodutivas repetitivas e de endometrites recorrentes (PYCOCK, 1994).

Há diversas causas para essa situação patológica, dentre elas está o posicionamento ventral do útero dessas éguas, comumente visto em éguas mais velhas. Pascoe (1993) cita que, com o avançar da idade destas éguas e com sucessivas gestações, há o aumento da abertura vulvar, prejudicando a primeira barreira física dos mecanismos de defesa. Com o posicionamento abaixo da pelve, o útero apresenta uma angulação maior e um nível mais baixo em relação ao assoalho, dificultando a drenagem do fluido intrauterino e predispondo essas éguas à endometrite persistente (LEBLANC, 1998). Além disso, as contrações uterinas são capazes de remover o fluido acumulado e produtos inflamatórios do interior do útero. Uma vez que esses produtos são retirados do lúmen, o ambiente uterino retorna ao seu estado normal (TROEDSSON, 1999). Segundo Troedsson *et al.* (1993), éguas suscetíveis têm suas contrações miométriais significativamente menos intensas nas primeiras sete horas de inoculação experimental de *S. zooepidemicus*, expondo essas éguas a persistência da inflamação.

Há também um maior grau de lesões degenerativas tanto do endométrio quanto de vasos sanguíneos e linfáticos dessas éguas, diminuindo o aporte celular e hormonal ao útero e, conseqüentemente, dificultando a drenagem uterina por parte deste sistema (ESTELLER-VICO, 2016). Anteriormente à cobertura, sabe-se que éguas suscetíveis já demonstram essa predisposição. Segundo Brinsko (2003), éguas que costumam apresentar excesso de retenção de líquido intrauterino durante o estro são predispostas à permanência da inflamação após a cobertura. Outra característica dessa predisposição é a cultura positiva do endométrio antes da cobertura (RIDDLE, 2007). Em contraposição, um estudo de De Borba *et al.* (2012) constatou que a

ausência de líquido intrauterino não está obrigatoriamente relacionada à ausência de contaminação bacteriana. Em seu trabalho, o autor comparou a avaliação ultrassonográfica com o resultado do exame citológico uterino para diagnosticar a inflamação uterina de 20 éguas durante a fase de estro, e dessas, 19 apresentaram citologia positiva do endométrio, mesmo na ausência de retenção de fluido no lúmen uterino.

Considera-se que a causa principal, a qual expõe as éguas à suscetibilidade à endometrite persistente é a redução na capacidade de limpeza física do útero quando comparadas às éguas classificadas como resistentes. Porém, a falha dos mecanismos de defesa físicos, celulares e humorais do útero resulta na permanência da inflamação e, na maioria dos casos, na aderência de bactérias (LEBLANC, 2003), ocasionando o estabelecimento da infecção.

### 3 ENDOMETROSE

A endometriose é um processo degenerativo e crônico do endométrio (RICKETTS, 1975). É definida por uma fibrose periglandular e/ou estromal ativa ou inativa que inclui alterações glandulares nos focos fibrosos (KENNEY, 1978). A doença é uma alteração da atividade ou inatividade das glândulas do endométrio, sendo um processo progressivo e irreversível, correlacionado com a idade do animal (WOODWARD, 2012). Além disso, é resultante de repetidos processos inflamatórios, assim como infecções e terapias (TROEDSSON, 1997), levando à degeneração do tecido endometrial e à formação de tecido fibroso periglandular que pode afetar glândulas isoladas ou ninhos dessas (HOFFMANN, 2009). Segundo Woodward *et al.* (2012), a retenção de fluido intrauterino está correlacionada com a severa histopatologia endometrial, combinando a endometriose com a capacidade da limpeza mecânica do útero.

O primeiro sinal da endometriose é a diferenciação morfológica e funcional atípica das células periglandulares estromais do endométrio. O primeiro estágio da formação fibrosa é caracterizado pela síntese de fibras de colágeno pelas grandes células estromais. Na fibrose avançada, não há sinal de formação de colágeno, porém há predominância de diferenciação das grandes células estromais em miofibroblastos (RAILA, *et al.*, 1997). Os miofibroblastos secretam mediadores que afetam a composição da matriz extracelular e promovem a contratilidade das glândulas uterinas, prejudicando sua função (HOFFMANN, 2009).

O método de diagnóstico de eleição para a endometriose é a análise de biópsia do endométrio (SCHLAFER, 2007). A classificação é realizada através de graus e estes são determinados através da frequência de glândulas com fibrose e formação de ninhos. Para simplificar essa classificação e relacioná-la com o potencial reprodutivo das éguas, foi criada a seguinte classificação: Grau I (endométrio normal, ou com discreta inflamação e fibrose local), há 80% de chance de levar uma gestação à termo; grau IIA (inflamação e/ou fibrose multifocal discreta a moderada, com 1-3 camadas de fibroblastos ao redor das glândulas ou com menos de duas redes de fibrose por cinco milímetros de campo), há 50 a 80% de chance de conceber e levar a gestação à termo; grau IIB (moderada inflamação e/ou fibrose difusa a multifocal com quatro ou mais camadas de fibroblastos ao redor das glândulas ou duas a quatro redes a cada cinco milímetros de campo) há apenas 10 a 15% de chance de conceber

e manter uma gestação; grau III (severa inflamação e/ou fibrose difusa com cinco ou mais redes de fibrose a cada cinco milímetros de campo) menos de 10% de chance de conceber e manter uma gestação à termo (KENNEY; DOIG, 1986).

Éguas com endometrite crônica degenerativa apresentam alta resposta inflamatória após a inseminação (REGHINI, 2016). Essa inflamação ocorre devido ao dano nas glândulas e vasos sanguíneos do endométrio, que levam à diminuição da drenagem linfática e circulação do útero, prejudicando a limpeza uterina nessas éguas e as predispondo a endometrites (HOFFMANN, 2009). Woodward *et al.* (2012), compararam biópsias uterinas com a idade das éguas e foi observado que, as éguas mais velhas apresentavam biópsia de grau moderado a severo e tinham maior tendência a reter líquido no lúmen do útero. Estudos já investigaram a relação da degeneração crônica com idade e número de partos e foi encontrado que éguas virgens de idade avançada também exibem alterações endometriais, indicando que apenas a idade pode ser um fator para o desenvolvimento da endometrose (GRÜNINGER, *et al.* 1998).

Muitos tratamentos já foram propostos na tentativa de resolução desta afecção uterina, porém nenhum deles obteve sucesso na redução do processo fibroso ou na melhoria do potencial de fertilidade das éguas acometidas (HOFFMANN, 2009). Alguns autores comentam a reversão parcial da fibrose periglandular após curetagem do endométrio, porém há controvérsias sobre o sucesso dessa terapia.

## 4 MECANISMOS DE DEFESA

### 4.1 BARREIRAS FÍSICAS

A luz uterina é um ambiente considerado estéril e algumas barreiras físicas são responsáveis por mantê-lo livre de microorganismos, são elas: a vulva, a prega vestibulo-vaginal e a cérvix (TROEDSSON, 2011). Qualquer defeito ou alteração em uma ou mais dessas barreiras pode aumentar a predisposição da égua à endometrite.

Na espécie equina, diferentemente das outras espécies, a deposição do sêmen durante a cobertura é intrauterina. Portanto, todas as barreiras de defesa são ultrapassadas, causando ampla reação inflamatória devido à deposição de sêmen, espermatozoides e bactérias presentes no pênis do garanhão (TROEDSSON, 1997).

A primeira barreira, a vulva, deve ser espessa e os lábios devem se encontrar no centro, permitindo sua perfeita coaptação (DASCANIO, 2011). Em éguas mais velhas, não é raro que os lábios vulvares se tornem finos, e caso a égua perca quantidade considerável de peso, ou se o ânus mover-se cranialmente é comum notar uma inclinação anterior do períneo. Esta modificação angular na anatomia resulta em falha na primeira barreira de defesa da fêmea e aumento nos riscos de introdução de ar, bactérias e sujidades (BRADECAMP, 2011). Os defeitos na conformação do períneo interferem nas barreiras que separam o ambiente uterino do meio exterior, ocasionando pneumovagina, expondo o útero a agentes irritantes e contaminantes e favorecendo o estabelecimento de infecção (CASLICK, 1937).

### 4.2 LIMPEZA FÍSICA

A contratilidade miometrial é o primeiro mecanismo de defesa uterino para eliminação rápida do agressor. É considerada a forma de limpeza mais importante após a cobertura (LEBLANC, 1995).

Segundo Guyton *et al.* (1991), essas contrações facilitam a drenagem ao comprimir vasos linfáticos. Já para Troedsson *et al.* (1999), há a presença de dois tipos de drenagem, a drenagem através da cérvix e a drenagem através do sistema linfático.

Esta contratilidade tem frequência diferente conforme a fase do ciclo estral em que a égua se encontra. Durante o estro, a atividade contrátil tem duração de 5

minutos com intervalos equivalentes de repouso (JONES et al.,1991). Para isso, o funcionamento da cérvix se torna imprescindível (LEBLANC, 1989).

Por outro lado, na fase de diestro, a cérvix se encontra fechada e acredita-se que os vasos linfáticos são os principais responsáveis em absorver os fluidos do lúmen uterino (LEBLANC, 1995). Éguas velhas e suscetíveis apresentam uma disfunção mecânica nestas contrações, resultando no acúmulo de líquido intrauterino (LEBLANC, 1989).

Em um estudo de LeBlanc *et al.* (1994), onde se utilizou radiocolóide para analisar a limpeza uterina, foi constatado que em éguas suscetíveis houve maior quantidade de material retido no lúmen, 2 horas após a inseminação, demonstrando o atraso na limpeza dessas éguas, quando em éguas resistentes há aumento na contratilidade miometrial e rápida limpeza. Segundo Troedsson *et al.* (1999), isso se deve ao fato de que éguas consideradas suscetíveis, apresentam redução na frequência, na duração e na intensidade das contrações miometriais. Esta demora na drenagem de subprodutos da inflamação aumenta o risco de aderências bacterianas no endométrio, aumentando as chances de infecção (LEBLANC, 1994).

O óxido nítrico (ON) tem diversos efeitos biológicos e é produzido durante situações de inflamação através da transcrição de RNA mensageiro (mRNA) (TRIPATHI, 2007). É o principal mediador do relaxamento do músculo liso de diversos órgãos, incluindo o útero (Yallampalli, 1993). Éguas suscetíveis têm alta expressão de mRNA de iNOS (*inducible nitric oxide synthase*) logo após a cobertura, resultando em acúmulo de ON intrauterino em demasia, reduzindo a atividade contrátil do miométrio (WOODWARD, 2013). Não está totalmente elucidado se a alta concentração intrauterina de ON nas éguas suscetíveis é causa ou consequência da limpeza uterina atrasada e na contratilidade miometrial. Porém, a diferença da concentração intraluminal dessa substância entre as éguas suscetíveis e resistentes à endometrite persistente pós-cobertura sugere sua possível relevância direta ou indireta sobre a limpeza mecânica (ALGHAMDI, 2005).

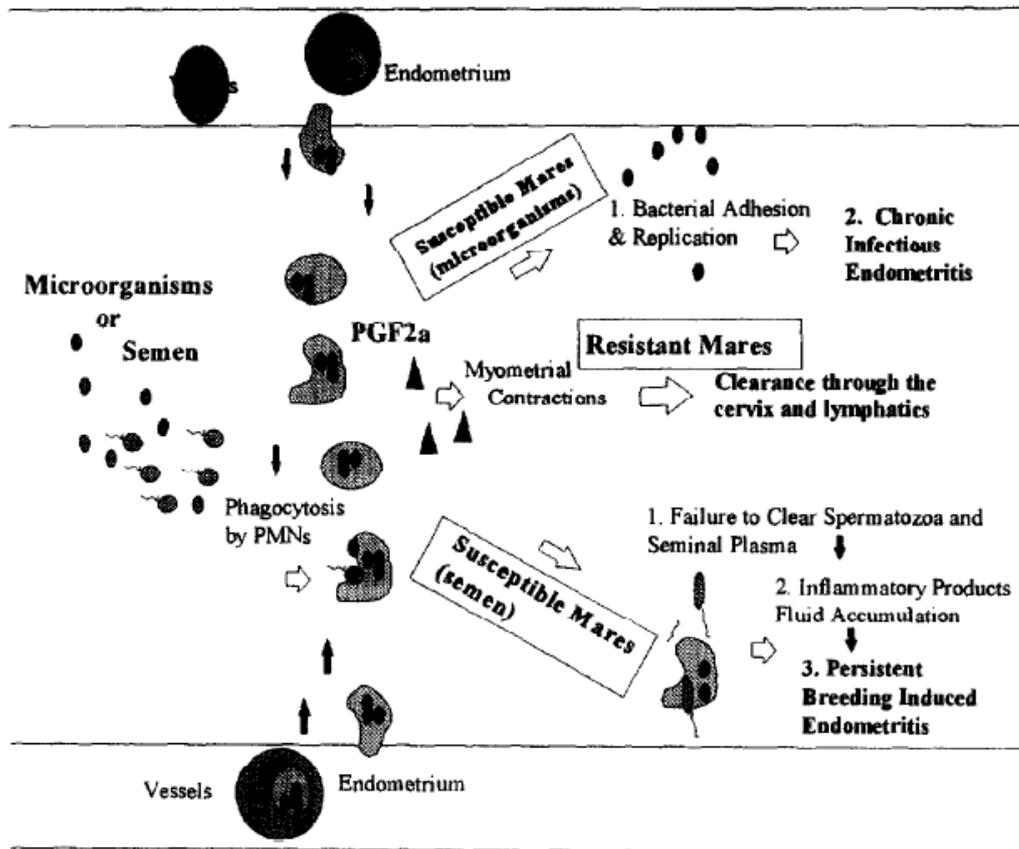
### 4.3 MECANISMOS CELULARES E IMUNOLÓGICOS DE DEFESA

#### 4.3.1 Imunidade Celular

Durante a inflamação transitória e fisiológica do útero causada pelos espermatozoides, plasma seminal, bactérias e debris, há um aumento da expressão de citocinas inflamatórias. Essas citocinas, como o Leucotrieno B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>), a Prostaglandina E (PGE) e a Prostaglandina F<sub>2</sub>α (PGF<sub>2</sub>α) são mediadores quimiotáticos responsáveis pelo recrutamento das células polimorfonucleares (PMNs) e sua rápida migração ao lúmen uterino (PYCOCK, et al., 1990). A migração dessas células ocorre já nos primeiros 30 minutos pós inseminação artificial (IA) e o número de neutrófilos aumenta constantemente até alcançar seu nível máximo em 8 horas pós IA.

O pico de neutrófilos não difere entre éguas suscetíveis e resistentes à endometrite (LIU *et al.*, 1986), porém, esse nível alto permanece até as primeiras 24 horas e tende a desaparecer em 48 horas nas éguas consideradas resistentes à endometrite persistente pós-cobertura (EPPC) enquanto que nas suscetíveis essas células persistem por um período de tempo maior no lúmen uterino (KATILA, 1995). Essas células ativas, juntamente da presença de opsoninas, são capazes de fagocitar bactérias, espermatozoides e debris. Dentre as opsoninas, se inclui as imunoglobulinas e o fator complemento, responsáveis pela imunidade humoral (TIZARD, 1987). Na migração dos neutrófilos, há também liberação de prostaglandinas, inclusive as PGF<sub>2</sub>α, que auxiliam na contração miométrial e na limpeza mecânica do útero (FANTONE, 1994). Durante a fagocitose realizada por estas células, há sua morte programada e consequente formação de subprodutos inflamatórios que devem ser eliminados pela contração uterina em éguas com mecanismos de defesa funcional, resolvendo tal situação em até 48 horas (KATILA, 1995). Já nas suscetíveis, o acúmulo de enzimas pode prejudicar os mediadores inflamatórios como o fator complemento, resultando em opsonização insuficiente de antígenos que as PMNs porventura não fagocitam, como demonstrado na Figura 1 (TROEDSSON, 1993). Esse acúmulo de subprodutos inflamatórios pode causar uma posterior degradação enzimática do tecido e que poderá resultar em mudanças fibróticas do endométrio (TROEDSSON, 1999).

Figura 1- Modelo dos mecanismos de defesa uterino proposto por Troedsson, 1999



#### 4.3.2 Imunidade Humoral

As imunoglobulinas foram detectadas por Kenney e Kaleel (1975) pela primeira vez através de lavados uterinos. A partir desse trabalho, eles conseguiram isolar seis classes de imunoglobulinas: IgGa, IgGb, IgGc, IgT, IgA e IgM. Por sua constituição tecidual, o endométrio é considerado parte do sistema imune das mucosas, o qual tem potencial de síntese local de imunoglobulinas (WIDDERS, 1985). Acreditava-se que éguas suscetíveis tinham menor resposta imune adquirida se comparadas com as resistentes a EPPC. Porém, estudos posteriores mostraram que éguas com resistência prejudicada têm concentrações mais altas de anticorpos nas secreções uterinas (ASBURY, 1980). Logo, mesmo sendo um mecanismo de defesa essencial, a deficiência de imunoglobulinas não significa suscetibilidade à endometrite (KATILA, 1996).

## 5 IDENTIFICAÇÃO CLÍNICA DA ÉGUA SUSCETÍVEL

Não há classificação definitiva no reconhecimento das éguas suscetíveis, porém há certos indicativos que podem ajudar na identificação delas. A importância de identificar estas éguas está no planejamento da terapêutica mais adequada e o mais rápido possível para elas.

Em trabalhos científicos, o acompanhamento geralmente realizado é por meio de citologia, bacteriologia e histopatologia do endométrio e, em alguns casos, por observação da atividade contrátil do útero por eletromiografia e cintilografia (TROEDSSON, 1997). Considera-se suscetível a égua incapaz de sanar o processo inflamatório em até 96 horas após a inoculação (TROEDSSON e LIU, 1991). Porém, comercialmente e a campo, estes métodos são difíceis de serem aplicados.

Considera-se parâmetro diagnóstico de EPPC a persistência de fluido intrauterino em 48 a 96 horas pós cobertura,. Éguas com acúmulo neste momento, apresentam taxa significativamente menor de prenhez e maior taxa de morte embrionária (NEWCOMBE, 1997). Contudo, o diagnóstico a esta altura, pode resultar em maior custo e em menor sucesso na realização de tratamentos (MALSCHITZKY, 2002).

Estudos indicam que o acúmulo de líquidos antes mesmo da cobertura, sendo este maior que dois centímetros observados no exame ultrassonográfico, é o melhor indicativo de suscetibilidade. Embora não tenha natureza inflamatória, a presença deste líquido indica que a égua tem dificuldade em realizar a limpeza física do útero. Dentre os demais parâmetros, este é o que apresenta maior concordância com a EPPC (BRINSKO, 2003). Utilizando este critério, Malschitzky *et al.* (2002) realizaram lavagem uterina entre seis a 12 horas pós cobertura e resultou em diminuição da morte embrionária e aumento nas taxas de prenhez. Assim, a presença de fluido pré-cobertura serve como critério para identificar as éguas que necessitam de exame 12 horas após cobertura e também ajuda na identificação das éguas que necessitam tratamento pós-cobertura (MALSCHITZKY, 2007). Abaixo, consta na Tabela 1 a incidência dos fatores de risco a endometrites onde pode-se observar a alta ocorrência de alta quantidade de líquido intrauterino pré-cobertura.

**Tabela 1-** Incidência dos fatores de risco de endometrite em cavalos de esporte.

<i>FATORES DE RISCO</i>	# OCORRÊNCIAS (%incidência)
<i>Histórico anormal da vida reprodutiva</i>	51(8)
<i>Cultura endometrial positiva</i>	40(7)
<i>≥2cm LIU pré-cobertura</i>	74(12)
<i>Conformação anormal do períneo</i>	89(15)
<i>Anormalidades da cérvix</i>	25(4)
<i>≥2cm LIU pós-cobertura</i>	120(20)
<i>Vulvoplastia não realizada após o parto</i>	29(5)
<i>Anormalidades do trato reprodutivo</i>	46(8)
<i>Fluido persistente 36hs após cobertura</i>	72(12)
<i>LIU pós cobertura &gt;1,5 &lt; 2 cm</i>	23(4)

Fonte: Adaptado de CANISSO et al., 2016

## 6 TRATAMENTOS

### 6.1 TRATAMENTOS TRADICIONAIS

De acordo com o agente e a causa encontrada no diagnóstico das endometrites, será traçado um planejamento terapêutico específico (LEBLANC, 2010). Em uma visão geral sobre os tratamentos tradicionais das endometrites inclui-se uma combinação de antimicrobianos, a correção de defeitos anatômicos e a administração de estratégias para modular a resposta inflamatória uterina.

Um bom controle reprodutivo em conjunto da utilização de drogas indutoras da ovulação auxilia na redução do número de inseminações, reduzindo a contaminação e a quantidade de respostas inflamatórias. O controle da higiene da região perineal da fêmea ajuda a reduzir as contaminações no momento da monta ou da inseminação artificial e esta última, quando permitida, pode beneficiar as éguas suscetíveis. Em grupos de éguas consideradas suscetíveis a EPPC, houve aumento da taxa de prenhez quando realizada a inseminação artificial ao invés da monta natural (MATTOS et al., 1996).

#### 6.1.1 Lavagem Uterina

A lavagem uterina é o método terapêutico mais comum realizado após a cobertura. As vantagens dessa prática é a remoção física direta dos microrganismos, células espermáticas, sujidades e dos produtos inflamatórios.

A solução de eleição para o tratamento pós cobertura é a solução tamponada ou a solução de Ringer com lactato e em conjunto podem ainda ser utilizados soluções mucolíticas e quelantes.

Na prática, é recomendado que se faça pelo menos três ou quatro lavagens, pois entre a segunda e a terceira é quando há a maior retirada de conteúdo celular (MATTOS *et al.*, 1997). O veterinário deve ter a certeza de que todo o útero esteja preenchido de solução para que todo o lúmen uterino seja lavado. Para isso, dois litros de solução devem ser suficientes para obter uma boa distensão (MALSHITZKY, 2007).

O ideal é que seja realizado entre seis e 24 horas após a cobertura e repetido diariamente se for necessário, pois essa rotina resulta em maior taxa de prenhez

(KNUTTI, 2000). Trinta minutos após a inseminação, os espermatozoides já podem ser encontrados no oviduto, estando o transporte completo em até 4 horas (FIALA *et al.* 2007). Além disso, anteriormente ao quinto dia pós-ovulação, a formação do corpo lúteo ainda não está completa e, portanto ele não é responsivo a PGF2 $\alpha$  que porventura possa ser secretada na manipulação uterina. Entretanto, outros autores observam que lavagens uterinas realizadas após 24 horas da IA, não foram eficazes no aumento da taxa de prenhez de éguas suscetíveis. Acredita-se que isso ocorra devido à aderência bacteriana na parede do endométrio e possível formação de biofilme (MATTOS, 1997).

### **6.1.2 Antibióticos e Antifúngicos**

O uso de antimicrobianos no tratamento de endometrites é benéfico no momento em que se conhece qual agente está causando a infecção. Porém, o tratamento excessivo e indiscriminado com antibióticos pode causar infecção fúngica do útero (TROEDSSON, 2008). A infusão intrauterina de antibióticos é controversa, pois sua efetividade pode estar relacionada a falsos negativos diagnosticados pelo método de *swab* após o tratamento (PYCOCK, 1994), já que muitas vezes a infecção pode ser focal e fora de seu alcance. Este tipo de tratamento dependerá do organismo causador da infecção, de quanto tempo essa infecção existe, e se o organismo produz biofilme ou não.

Quando realizado, o tratamento é direcionado à remoção do biofilme, quando este está presente, pela infusão local de antibióticos ou administração sistêmica. Nas tabelas 2 e 3 se encontram os antibióticos mais citados na literatura.

**Tabela 2** - Doses recomendadas para terapia intra-uterina de antibióticos em éguas com endometrite bacteriana.

<b>Antibiótico</b>	<b>Dose</b>	<b>Indicação</b>
<b>Sulfato de Amicacina</b>	2g	Gram-positivos
<b>Sulfato de Gentamicina</b>	1-2g	Gram-negativos
<b>Sulfato de Neomicina</b>	3-4g	<i>E. Coli</i>
<b>Penicilina</b>	5 milhões UI	<i>S. zooepidemicus</i>
<b>Polimixina B</b>	1 milhão UI	Pseudomonas
<b>Ceftiofur</b>	1g	Ampla espectro

FONTE: Adaptado de LEBLANC, 2008

**Tabela 3** - Antibióticos utilizados no tratamento sistêmico de endometrites em éguas

<b>Antibiótico</b>	<b>Dosagem</b>	<b>Via, Intervalo</b>	<b>Indicação</b>
<b>Sulfato de Amicacina</b>	10mg/kg	IV/IM, 24h	Gram-negativos
<b>Ampicilina</b>	25mg/kg	IV/IM, 12-24h	Gram-positivo e <i>E. Coli</i>
<b>Ceftiofur</b>	2,5mg/kg	IM, 12-24h	Ampla espectro
<b>Gentamicina</b>	6,6mg/kg	IV, 24h	Gram-negativos
<b>Enrofloxacina</b>	5,5mg/kg	IV, 24h	Gram-negativos
<b>Penicilina (potássica)</b>	<b>G</b> 25000UI/kg	IV, 6h	<i>S. zooepidemicus</i>
<b>Penicilina (procaína)</b>	25000UI/kg	IM, 12h	<i>S. zooepidemicus</i>
<b>Sulfa.+Trimetoprim</b>	30mg/kg	PO, 12h	<i>S. aureus, E. coli</i>
<b>Metronidazol</b>	25mg/kg	PO, 12h	Metrite por <i>B. fragilis</i>

FONTE: Adaptado de LEBLANC, 2008

Para os casos de contaminação por fungo, o tratamento indicado é a infusão de 5000UI de Nistatina ou de 3200mg de Cetoconazol por 7 a 10 dias, sendo dissolvidos em 30ml de solução salina. Outros antifúngicos que podem ser utilizados estão listados na tabela 4.

**Tabela 4** - Antifúngicos utilizados como terapia intra-uterina de endometrite fúngica.

<b>Antifúngico</b>	<b>Dose</b>
<b>Nistatina</b>	500 mil UI
<b>Clotrimazole</b>	500 a 700mg
<b>Anfotericina B</b>	100 a 200mg
<b>Fluconazole</b>	100mg

FONTE: Adaptado de DASCANIO, 2007

### **6.1.3 Drogas Ecbólicas**

Uma alternativa à lavagem uterina é a utilização de drogas ecbólicas, como a ocitocina (LEBLANC, 1994) e a prostaglandina, PGF<sub>2</sub>α (CADARIO *et al.*, 1995). Quando utilizada a lavagem em conjunto das drogas ecbólicas, obtém-se aumento na taxa de prenhez em éguas altamente suscetíveis (PYCOCK, 1994). A ocitocina provoca contratilidade miometrial de alta amplitude por aproximadamente 30 minutos, enquanto que o Cloprostenol (análogo de prostaglandina PGF<sub>2</sub>α) tem duração mais longa, porém a limpeza uterina é menos eficiente (COMBS, 1996). A ocitocina estimula as contrações uterinas através de ligações a receptores presentes no miométrio. O número de receptores varia de acordo com as fases do ciclo, sendo em maior quantidade na fase estrogênica e em menor quantidade após a ovulação, quando a concentração de progesterona (P4) aumenta (STULL, 1986). Considerando este detalhe, Gutjahr *et al.* (2000) avaliaram o melhor momento para a aplicação de ocitocina e constataram que o ideal seria realizar a cobertura antes da ovulação, quando ainda não houve inversão total da relação P4: E-17β (estrógeno). Caso a cobertura ocorra muito perto do momento da ovulação, o pesquisador sugere que se utilize uma dose maior de ocitocina durante a fase progesterônica (25UI).

## 6.2 TRATAMENTOS NÃO - TRADICIONAIS

### 6.2.1 Imunomoduladores

Nos últimos anos, a modulação da resposta inflamatória por meio de esteroides vem sendo bastante utilizada com resultados positivos sobre a taxa de concepção em éguas com acúmulo de fluido e inflamação uterina.

A ideia da imunomodulação é auxiliar no reestabelecimento da homeostase dos mecanismos inflamatórios locais, reduzindo a quantidade de citocinas pró-inflamatórias.

Uma única dose de Dexametasona administrada no momento da cobertura (50mg, IV; 0,1mg/kg) ou administração de Prednisolona (0,1mg/kg) a cada 12 horas por 4 dias, iniciando 48 horas antes da cobertura, melhoraram os índices de prenhez (BUCCA *et al.*, 2008; PAPA *et al.*, 2008). A Dexametasona costuma ser a droga de eleição devido a sua potência, sua via de administração, sua duração e ação e pela praticidade de aplicação de uma única dose no momento da cobertura (TROEDSSON, 2006).

Clinicamente, no trabalho de Bucca *et al.*, as éguas tratadas tiveram redução no edema uterino, diminuição de fluido uterino e melhora na qualidade deste fluido sem alterar os demais mecanismos de defesa (PMNs). Em relação às citocinas, os glicocorticoides são capazes de modular efetivamente a resposta imune a partir da redução da expressão gênica de citocinas pró-inflamatórias como IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 e a partir do estímulo da resposta anti-inflamatória gerada pela IL-10 (CHRISTOFFERSEN, 2012).

Os imunomoduladores não só alteram a expressão de citocinas, como também alteram a quantidade proteica do fluido uterino, principalmente durante uma infecção (WOLF *et al.* 2012). Na presença de uma infecção, a dexametasona altera o perfil proteico do fluido uterino, caracterizada pela variação de actina e albumina. Também aumenta a concentração de TTR (transtiretina), protease responsável por melhorar o mecanismo de defesa e proteção do tecido inflamado em éguas suscetíveis clinicamente saudáveis. Além disso, há diminuição de Apo-1, proteína responsável por regular a atividade enzimática e a interação entre células e microrganismos (ARLAS, *et al.*, 2015).

Outros efeitos indiretos causados pelos imunomoduladores são, a diminuição na síntese de óxido nítrico e de enzimas produtoras de prostaglandinas e leucotrienos, além de diminuir a atividade de moléculas de adesão. Com isso, há redução da quimiotaxia e da migração dos leucócitos dos vasos sanguíneos para o lúmen uterino (JANEWAY *et al.*, 1999)

Outro imunomodulador que pode ser utilizado, porém pouco comum é o extrato da parede celular do *Mycobacterium phlei*. Este, a partir de alguns peptídeoglicanos, tem a propriedade de melhorar a limpeza da infecção uterina e inflamação em éguas suscetíveis experimentalmente infectadas com *S. equi* sp. *zooepidemicus* (ROGAN, 2007).

### 6.2.2 Células Tronco

As células tronco representam uma ferramenta promissora para novos conceitos clínicos no suporte da terapia celular. Estas células podem ser encontradas nos mais diferentes tecidos e têm a característica de alta plasticidade, isto é, têm a habilidade de diferenciação celular com fenótipo não relacionado a seu tecido de origem (BIANCO, 2001). Possuem alto poder terapêutico por terem a capacidade de imunomodulação, promover a regeneração tecidual e prevenir a formação de cicatrizes (BORJESSON, 2011).

São classificadas conforme sua origem em: células tronco embrionárias (CTE), retiradas da massa celular interna de embriões em fase inicial; e somáticas ou adultas (CTA), provenientes de tecidos diferenciados de fetos, recém-nascidos ou adultos (LANDIM-ALVARENGA *et al.*, 2012).

As CTE possuem habilidade de se diferenciar em qualquer tipo de tecido. Essas células, *in vitro*, demonstram alto potencial como fonte provedora de muitos tipos de células para posterior utilização em terapia celular. Por outro lado, as CTA têm papel de reparação tecidual e estão presentes na pele, no fígado, no coração, no cérebro, na medula óssea, no sangue do cordão umbilical e na placenta. Essas últimas, além de serem capazes de substituir as células que sofrem apoptose, podem proporcionar a recuperação fisiológica de lesões resultantes de acidentes ou causadas por algum patógeno (LANDIM-ALVARENGA *et al.*, 2012). Ainda implicam em menos discussões éticas para a pesquisa e utilização terapêutica, pois não necessitam de embriões como tecido de origem.

Inicialmente, acreditava-se que as CTA tinham menor plasticidade comparada às CTE por se diferenciarem apenas em células derivadas da mesoderme. Porém, atualmente já se tem conhecimento de uma maior capacidade de diferenciação dessas células, podendo gerar células derivadas também da endoderme e da ectoderme (MAMBELLI et al., 2013).

#### 6.2.2.1 Células Tronco Mesenquimais (CTM)

As CTM são células do grupo das CTA e têm o mesoderma como origem embrionária, o qual dá origem a tecidos conectivos como o ósseo, o cartilaginoso, o adiposo, além do sistema vascular e hematopoiético (HUMPHREYS; BONVENTRE, 2008).

Também apresentam a vantagem de não possuírem MHC-2 (complexo de histocompatibilidade 2), complexo que permite que as células do indivíduo reconheçam células estranhas e montem resposta imune (PARHAM, 2009). Portanto, as CTM são privilegiadas, pois isso permite tratamentos autólogos, alogênicos ou até xenogênicos sem risco de gerar resposta imune contra elas (FIORATTI, 2012).

Quando ativadas, possuem alta habilidade de migração seletiva para áreas lesionadas, inflamadas e tumorais (CHEN et al., 2008). Nesses locais, elas têm papel de reparar o tecido, o que torna essas células aptas para serem utilizadas como veículos em terapias de locais específicos. Este processo é regulado por interações de citocinas e uma variedade de quimosinas que, quando secretadas pelos tecidos adjacentes, podem induzir à diferenciação dessas células em diversas linhagens celulares e/ou influi no lugar específico onde se encontram (TAKAHASHI et al., 2007). Além disso, segundo Chen *et al.* (2008), a secreção dessas substâncias e de fatores de crescimento pelas CTM, resulta no recrutamento de macrófagos e demais células do tecido endotelial, melhorando a cicatrização de feridas.

Em equinos, terapias com uso de células mononucleares derivadas de tecido adiposo e de medula óssea têm sido amplamente exploradas no intuito de recuperar lesões articulares como osteoartrite e lesões tendíneas e ligamentares (KOCH, 2007; SMITH, 2006). Devido a sua propriedade terapêutica, as CTM têm alto potencial no tratamento da endometriose equina. Porém, o sucesso dessa terapia dependerá, em parte, da aplicação dessas células no lúmen uterino, garantindo a ampla distribuição e deposição focal do tecido lesionado (STEINERT, 2012).

### 6.2.2.2 Utilização de Células Tronco na Endometrite Persistente Pós-Cobertura

O pico de citocinas entre éguas suscetíveis e resistentes são semelhantes (FUMUSO, 2003), porém, éguas suscetíveis demonstram maior quantidade de IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  e IL-8 (citocinas pró-inflamatórias) e significativamente menor quantidade de IL-10 (citocina anti-inflamatória) (FUMUSO, 2006). Isso sugere que éguas suscetíveis geram resposta inflamatória evidente, entretanto são incapazes de parar este processo uma vez que ele é ativado (WOODWARD, 2013).

As células tronco mesenquimais têm sido utilizadas em humanos e em medicina veterinária com o objetivo de modular a resposta inflamatória tanto em condições agudas quanto condições crônicas. Elas são capazes de secretar diversas moléculas bioativas, entre elas os compostos imunomoduladores como PGE2, IL-10, IL-1Ra e iNOS (DA SILVA MEIRELLES, 2009). Tal característica permite que as CTM sejam utilizadas em terapias ou prevenção de endometrites persistente pós-cobertura (FERRIS, *et al.* 2014).

Ferris et al. (2014) realizaram o tratamento com células tronco em seis fêmeas 24 horas antes da inseminação e comparou com outros tratamentos considerados imunomoduladores. Após o tratamento, realizou-se lavagem uterina seguida da inseminação artificial com alíquota de dois mL de espermatozoides mortos com o objetivo de iniciar uma resposta inflamatória inicial e controlada. Seis e 24 horas após o desafio, foi realizada uma nova lavagem uterina para avaliar a reação inflamatória gerada. Houve redução no número de neutrófilos em 50% nas primeiras seis horas e isso se deve ao aumento concomitante de IL-1Ra. Além disso, as éguas tratadas tenderam a ter menor concentração de IL-1 24 horas após o desafio, sugerindo que a duração do período de inflamação nessas éguas seja mais curta, comprovando a eficiência das células mesenquimais no tratamento de endometrites persistente pós-cobertura.

### 6.2.2.3 Utilização de Células Tronco na Endometriose

A crescente obtenção de sucesso em tratamentos de doenças crônicas como a fibrose hepática em humanos com células tronco (XU, 2010), foi o que incentivou os

pesquisadores da área de medicina de equinos a testar o potencial terapêutico dessas células em éguas com endometriose ou endometrite crônica degenerativa.

Essas células também demonstraram ótima capacidade de incorporação e distribuição uterina em éguas com endometriose, conforme o trabalho de Mambelli *et al.* (2012). Além de despontarem como uma alternativa promissora para a fibrose endometrial devido à alta capacidade de auto-regeneração, de apresentar baixa resposta imunogênica, e de possuir efeitos anti-inflamatórios, imunomodulatórios, antiapoptótico e de neuroproteção (MAIA *et al.*, 2015).

Em seu estudo, Mambelli realizou a infusão de 20 mL de solução de cloreto de sódio 0,9% com  $2 \times 10^7$  CTM previamente criopreservadas durante dois anos através de uma pipeta de inseminação durante a fase de estro das éguas. Foram retiradas amostras histológicas 7, 14 e 60 dias após o tratamento e para identificação das CTM foram utilizadas as técnicas de imunohistoquímica e imunofluorescência. Ao final do trabalho, foi concluído que as células mesenquimais se alojaram no espaço periglandular e nas glândulas endometriais, formando inclusive aglomerados de 3 a 5 células, comprovando sua habilidade de migração seletiva, ou seja, sua habilidade de *homing* eficiente.

Além disso, o autor conclui que é possível utilizar essas células logo após seu descongelamento, sem a necessidade de adicionar cultura *in vitro* e sem a necessidade de aplicação de protocolos imunossupressores durante o transplante. Após a infusão intrauterina, as CTM foram capazes de induzir remodelagem precoce (dia 7) e prolongada (até o dia 60) do tecido endometrial das éguas com endometriose. A terapia com essas células extrínsecas alogênicas estimularam o ambiente local composto por estroma celular do epitélio e periglandular e modula a expressão de citoqueratina, vimentina, e laminina, evitando o desenvolvimento de processo patológicos que resultam na formação de regiões de fibrose no endométrio equino (MAMBELLI *et al.*, 2012).

Alvarenga *et al.* (2016) testa a aplicação das células tronco através de sucessivas injeções no endométrio por meio de endoscópio.  $12 \times 10^6$  células diluídas em PBS foram aplicadas em pequenas injeções de 0,5mL com cerca de 1 cm de distância entre uma e outra em uma linha horizontal de uma extremidade do corno uterino a outra durante o diestro. As biópsias foram colhidas no dia 0, 15, 30 e 60 e coradas com hematoxilina e eosina. Foi observado infiltrado inflamatório em todas as biópsias, porém nenhuma égua demonstrou piora na estrutura endometrial,

confirmando resultados de outros trabalhos de que esta técnica não causa injúrias ao endométrio.

Essa melhora possivelmente ocorre em função da ação de fatores quimiotáticos que modulam o processo inflamatório e pelo aumento da vascularização local do tecido, pois as lesões localizam-se principalmente ao redor de estruturas glandulares com conseqüente comprometimento de sua função (PAVÃO, 2013).

### **6.2.3 Plasma Rico em Plaquetas (PRP)**

O PRP é uma fonte autóloga ou heteróloga de fácil aquisição e de baixo custo onde há diversos fatores de crescimento importantes para a reparação tecidual com ação mitogênica, quimiotática e neovascular. Para demonstrar eficiência, deve conter entre três a cinco vezes mais plaquetas que os níveis fisiológicos (REGHINI, 2013).

Pode ser descrita como “um volume de plasma que tem uma contagem de plaquetas superior ao patamar fisiológico”. Essa definição sugere uma mistura pura de plasma e plaquetas, porém, o termo genérico recentemente expandiu para incluir uma variedade de produtos finais. Para delinear mais precisamente esses produtos com base no seu teor de leucócitos e fibrina, a comunidade científica abriu um leque de nomes como PRP puro, PRP rico em leucócitos, fibrina pura rica em plaquetas e fibrina rica em plaquetas e leucócitos. Os termos “rico em plaquetas” e “concentrado de plaquetas” também são utilizados para PRP (ZHU et al., 2013).

A importância das plaquetas na resolução da inflamação está na produção de lipoxinas. Essas moléculas modulam o processo inflamatório a partir da diminuição da quimioatração de monócitos ao local lesado, os quais se transformarão em macrófagos e realizarão a cicatrização e resolução da inflamação. Um dos principais meios de síntese da lipoxina A4 (LXA<sub>4</sub>) é através da interação dos neutrófilos com as plaquetas, tornando esta ferramenta mais uma importante característica do tratamento de endometrites onde a reação inflamatória exacerbada é o problema (REGHINI, 2013).

Além da síntese de lipoxinas, o PRP tem a propriedade de aumentar a distribuição dos fatores de crescimento para áreas lesionadas, aumentando também

os níveis de LXA<sub>4</sub> e de RANTES (regulador da ativação de células T) e quimosinas (EL-SHARKAWY *et al.*, 2007). Os RANTES também inibem a liberação de histamina pelos basófilos, levando à inibição do processo inflamatório em geral (REGHINI, 2013).

Portanto, a infusão de plasma rico em plaquetas tem o objetivo de aprimorar a fagocitose de bactérias pela suplementação de opsoninas (do fator complemento) presentes no soro. Porém, um ingrediente essencial para o sucesso desta terapia é a funcionalidade da contração miometrial e a capacidade auto-limpante do útero (LIU, 2008).

#### 6.2.3.1 Utilização do PRP no tratamento das endometrites

Pascoe *et al.* (1995) adicionou plasma homólogo ao tratamento de infusão de antibiótico realizados 36 a 48 horas após a inseminação e demonstrou melhora na taxa de prenhez e parição das éguas tratadas em relação à observada nas éguas não tratadas ou que receberam apenas antibioticoterapia. Segundo o autor, essa melhora deve estar atribuída a uma fagocitose mais eficiente pelos neutrófilos, auxiliados por componentes do sistema complemento e imunoglobulinas que também estão presentes no plasma.

No trabalho de Reghini *et al.* (2013), foi analisada a inflamação de éguas suscetíveis e resistentes a endometrites através da presença de PMN no fluido uterino e no exame de citologia e também pela quantidade de fluido e concentração de óxido nítrico no lúmen uterino. Ao final do trabalho, obteve-se diminuição da quantidade de fluido acumulado, a diminuição do percentual celular de neutrófilos nas éguas suscetíveis considerados aceitáveis após 24 horas do contato com o sêmen após o tratamento de PRP, o que prova o potencial terapêutico do plasma rico em plaquetas.

Segundo Metcalf *et al.* (2012), éguas tratadas com PRP tiveram diminuição na expressão de citocinas endometriais pró-inflamatórias como IL-1b, IL-6 e IL-8 após deposição de sêmen quando comparadas ao grupo controle. Já em outro trabalho de Metcalf *et al.* (2014) onde teve o objetivo de comparar o efeito do PRP na taxa de prenhez e na ocorrência de EPPC em éguas suscetíveis, foi constatado que éguas tratadas tiveram resultados significativamente melhores na taxa de prenhez (67%) quando comparadas às não tratadas (19%). Além disso, a retenção de líquido no útero

nas éguas suscetíveis tratadas foi de 22% enquanto que no grupo controle a retenção de líquido ocorreu em 100% das éguas.

Considerando os diferentes efeitos do PRP sobre a reparação tecidual, e com a observação do aumento de fatores de crescimento sobre os diferentes tratamentos utilizando esse material biológico, Reghini *et al.* (2016) realizaram um trabalho sobre a utilização dessa terapia em éguas com endometrose. Seu objetivo era determinar se o uso de PRP era capaz de modular a resposta inflamatória local após IA em éguas normais e éguas com endometrite crônica degenerativa. Foram utilizadas 21 éguas, sendo que 13 dessas fêmeas apresentavam endometrose de histologia grau III, e 8 éguas com classificação histológica de grau I ou II-a do endométrio de acordo com Kenney e Doig (1986). Em ambas as categorias, o tratamento com PRP foi capaz de reduzir o número de neutrófilos no ambiente uterino 24 horas após a cobertura. Houve também a redução de acúmulo de fluido pós cobertura nas éguas com endometrose, indicando redução da reação inflamatória nessas éguas.

#### **6.2.4 Terapias alternativas**

Atualmente no meio científico cresce consideravelmente o interesse em relação às diferentes funções das proteínas. Quanto ao plasma seminal, por exemplo, as proteínas começaram a ser caracterizadas mais intensivamente nas últimas duas décadas. Brandon *et al.* (1999) encontraram 14 proteínas no plasma seminal, sendo algumas delas relacionadas a capacidade de congelamento do macho. Além disso, as proteínas encontradas no plasma seminal têm peso entre 13 e 122 kDa (AMMAN *et al.*, 1985).

Acredita-se que, além de ter relevância sobre o potencial de fertilidade e congelabilidade no sêmen equino, há duas proteínas que também podem gerar expressão de citocinas no ambiente uterino. São elas, a CRISP-3 e a lactoferrina.

A CRISP-3 está presente em grande quantidade no plasma seminal de garanhões (JOBIM, 2011). É expressa pelo epidídimo e por todo o resto do trato genital do macho, com expressão maior na ampola (SCHAMBONY, 1998). Em um estudo realizado por Hamman *et al.* (2007), garanhões que demonstraram maior expressão para esta proteína, apresentaram maior taxa de fertilidade. Já no ambiente uterino, o único papel da CRISP-3 já documentado é da supressão da ligação de PMN

aos espermatozoides vivos (DOTY *et al.*, 2011), o que talvez possa explicar a alta fertilidade de cavalos com alta expressão dessa proteína.

A lactoferrina é uma proteína com 80 kDa de massa molecular que pode ser encontrada no sêmen, na saliva e no leite e tem o papel de quelar o ferro além de ter propriedade bactericida (BUCKETT, 1997). Sua concentração normal em ejaculados de garanhões é de 150 µg/mL, porém é correlacionada à baixa congelabilidade assim como à oligospermia no homem (JOBIM *et al.*, 2011).

Essa proteína, *in vitro*, com concentrações próximas a encontrada no sêmen, estimula a ligação de PMN a espermatozoides mortos (TROEDSSON, 2014). Isso sugere que a fagocitose de espermatozoides não viáveis na presença de lactoferrina poderia auxiliar na limpeza uterina pós-inseminação (FEDORKA *et al.*, 2016). Em éguas suscetíveis à endometrite persistente pós-cobertura, há maior transcrição de lactoferrina no endométrio quando comparado com as éguas resistentes, uma vez que essas éguas têm maior influxo de PMN durante a reação inflamatória e há consequente liberação de lactoferrina dos grânulos dessas células (KOLM, 2006).

Fedorka *et al.* (2016), constatou que ambas as proteínas são capazes de modular a atividade das PMN e a eliminação delas do lúmen uterino. Porém, não foi observado efeito considerável sobre a expressão de mRNA de citocinas após a indução da inflamação pós-cobertura, conforme esperado. Entretanto, a lactoferrina foi capaz de suprimir a expressão de mRNA de IL-1RN, uma citocina anti-inflamatória, o que demonstra uma possível propriedade de modulação da resposta inflamatória dessa proteína.

A atividade proteica sobre as reações uterinas quando este ambiente é desafiado, ainda é uma área das terapias muito desconhecida, porém muito promissora. Muitos estudos ainda são necessários para desvendá-las, entretanto talvez em um futuro próximo seja possível selecionar a expressão de proteínas que possam agir como imunomoduladoras, suprimindo ou ativando a expressão das diversas citocinas presentes no uterino.

## 7 CONCLUSÃO

Apesar de ocorrer das mais diversas formas, as endometrites são causa importante na deficiência reprodutiva de algumas éguas e causa significativa nas perdas econômicas na cultura equestre. Os médicos veterinários, atuantes na reprodução de equinos, devem manter-se permanentemente atualizados sobre as diferentes opções de tratamento que vêm surgindo nos últimos tempos para que assim reduza a ocorrência de endometrites pós-cobertura e endometrose e o conseqüente prejuízo dos criadores.

Um bom médico veterinário não necessariamente é aquele que cura, mas sim aquele que previne. Portanto, um criatório onde é realizada a prevenção, o bom diagnóstico aliado com o tratamento adequado, terá a chave para o sucesso com éguas sadias e de alto potencial de fertilidade.

## REFERÊNCIAS

- ALGHAMDI, *et al.* Nitric Oxide Levels and Nitric Oxide Synthase Expression in Uterine Samples from Mares Susceptible and Resistant to Persistent Breeding-induced Endometritis. **American Journal of Reproductive Immunology**. Munksgaard. v.53. p. 230-237. 2005.
- ALVARENGA, M.A.; *et al.* Feasibility and safety of endometrial injection of autologous bone marrow mesenchymal stem cells in mares. **Journal of Equine Veterinary Science**. v. 42. p. 12-18. 2016.
- AMANN, R.P.; CRISTANELLI, M.J.; SQUIRES, E.L. Proteins in stallion seminal plasma. **Journal of Reproduction and Fertility. Supplement**. v. 35. p. 113–20. 1985.
- ARLAS, T.R. *et al.* Proteomics of endometrial fluid after dexamethasone treatment in mares susceptible to endometritis. **Theriogenology**. v.84. p.617-623. 2015.
- ASBURY, A.C.; *et al.* Immunoglobulins in uterine secretions of mares with differing resistance to endometritis. **Theriogenology**. v.4. p. 299-308. 1980.
- BIANCO, P.; *et al.* Bone marrow stromal stem cells: Nature, Biology, and Potential Applications. **Stem Cells**. v. 19. n. 3. p.180-192. 2001.
- BORJESSON, D. L.; PERONI, J. F. The regenerative medicine laboratory: facilitating stem cell therapy for equine disease. **Clinics in Laboratory Medicine**, Philadelphia, v.31. n.1. p. 109-123. Mar. 2011.
- BRADECAMP, E.A. Pneumovagina. *In*: McKinnon, A.O., *et al.* **Equine Reproduction**. 2<sup>nd</sup> ed. West Sussex, United Kingdom: Wiley-Blackwell; 2011. cap. 262. p. 2538–2544.
- BRANDON, C.I., *et al.* Twodimensional polyacrylamide gel electrophoresis of equine seminal plasma proteins and their correlation with fertility. **Theriogenology**. v. 52. P.863–873. 1999.
- BRINSKO S.P.; *et al.* A practical method for recognizing mares susceptible to post-breeding endometritis. *In*: ANNUAL CONVENTION OF AAEP, 49, 2003, New York. New York: IVIS, 2003.
- BUCCA, S., *et al.* The use of dexamethasone administered to mares at breeding time in the modulation of persistent mating induced endometritis. **Theriogenology**. v.70. p.1093–1100. 2008
- BUCKETT, W.M.; *et al.* Seminal plasma lactoferrin concentrations in normal and abnormal semen samples. **Journal of Andrology**. v. 18. p. 302-304. 1997.
- CADARIO M.E.; THATCHER, M.J.D.; LEBLANC, M.M. Relationship between prostaglandin and uterine clearance of radiocolloid in the mare. **Biology of Reproduction**. n.1. p.495-500. 1995.

CANISSO, I.F.; STEWART, J.; DA SILVA, M.A.C. **Endometritis: Managing persistent post-breeding endometritis. *Veterinary Clinics: Equine Practice***. v. 32. p. 465 -480. 2016.

CASLICK, E.A. The vulva and the vulvo-vaginal orifice and its relation to genital health of the thoroughbred mare. ***Cornell Vet***. v. 27. p. 178-187. 1937.

CHEN, Y. *et al.* Mesenchymal stem cells: A promising candidate in regenerative medicine. ***The International Journal of Biochemistry & Cell Biology***, Amsterdam. v. 40. n.5. p. 815-820. Jan. 2008.

CHRISTOFFERSEN M.; WOODWARD E.M.; BOJESSEN A.M. Effect of immunomodulatory therapy on the endometrial inflammatory response to induced infectious endometritis in susceptible mares. ***Theriogenology***. v. 78. p. 991-1004. 2012

CHRISTOFFERSEN, M.; *et al.* Risk factors associated with uterine fluid after breeding caused by *Streptococcus zooepidemicus*.; ***Theriogenology***. v.84. p. 1283-1290. 2015.

COMBS G.B.; *et al.* Effects of prostaglandin F<sub>2α</sub>, cloprostenol and fenprostalene on uterine clearance of radiocolloid in the mare. ***Theriogenology***. v. 45. p. 1449-1455. 1996.

DASCANIO, J.J. External reproductive anatomy. *In: McKinnon A.O., et al., editors. **Equine reproduction***. 2<sup>nd</sup> ed. West Sussex, United Kingdom: Wiley-Blackwell; 2011. cap. 164. p. 1577–81.

DOTY, A., *et al.* Equine CRISP3 modulates interaction between spermatozoa and polymorphonuclear neutrophils. ***Biology of Reproduction***. v. 85. n.1. p.157-164. Mar. 2011.

EL-SHARKAWY, H. *et al.* Platelet- Rich Plasma: growth factors and anti-inflammatory properties. ***Journal of Periodontology***, Chicago. v. 78. n.4. p.661-669. Apr. 2007.

ESTELLER-VICO, A.; *et al.* Effects of stradiol on uterine perfusion in anesthetized cyclic mares affected with uterine vascular elastosis. ***Animal Reproduction Science***. v. 164. p. 57-63. 2016.

FANTONE J.C., WARD P.A., Inflammation. *In: Farber RE (Ed), **Pathology***, 2<sup>nd</sup> ed. Philadelphia: JP Lippincott, 1994. p. 33-66.

FERREIRO, L. *et al.* Flora microbiana do conteúdo uterino de éguas PSI e quarto-de-milha a partir de swabs cervicais obtidos no período de 1984-1986 em haras do RS, PR e SP. 1986. ***Arquivos da Faculdade de Veterinária, UFRGS***, Porto Alegre. v. 14. p.45-56.

FERRIS, R.A.; FRISBIE, D.D.; MCCUE, P.M. Use of mesenchymal stem cells or autologous conditioned serum to modulate the inflammatory response to spermatozoa in mares. ***Theriogenology***, Los Altos. v. 82. p. 36-42. Jan. 2014.

FIALA, S.M.; *et al.* Effect of sperm numbers and concentration on sperm transport and uterine inflammatory response in the mare. **Theriogenology**. v.67. p.556-562. 2007.

FIORATTI, E.G.; *et al.* Influence of steroidal anti-inflammatory drugs on viability and fertility of equine semen. **Journal of Equine Veterinary Science**. v. 32. p. 771-775. 2012.

FUMUSO, E.; *et al.* Endometrial IL-1 $\beta$ , IL-6 and TNF- $\alpha$ , mRNA expression. In mares resistant or susceptible to post-breeding endometrites. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. v. 96, p. 31-41. 2003.

FUMUSO, E.; *et al.* Interleukin-8 (IL-8) and 10 (IL-10) mRNA transcriptions in the equine endometrium of normal mares and mares susceptible to persistent post-breeding endometrites. **Animal Reproduction Science**. v. 94, p. 282-285. 2006.

GRÜNINGER, B; *et al.* Incidence and morphology of endometrial angiopathies in mare in relationship to age and parity. **J. Comp Pathol**. v. 119. p. 293-309. 1998.

GUTJAHR, S.; *et al.* Effect of dose and day of treatment on uterine response to oxytocin in mares. **Theriogenology**. v. 54. p.447-456. 2000.

GUYTON, A.C. The lymphatic system. *In*:\_\_\_\_(Ed.). **Text-book of Medical Physiology**, Philadelphia: W.B. Saunders, 1991. Cap. 16. P.180-184.

HAMMAN, H.; *et al.* A polymorphism within the equine CRISP3 gene is associated with stallion fertility in Hanoverian warmblood horses. **Animal Genetics**. v. 38. p. 259-264. 2007

HOFFMANN, C.; *et al.* **The equine endometrosis**: new insights into the pathogenesis. **Animal Reproduction Science**. v. 111, p. 261-278. 2009.

HUMPHREYS, B.D; BONVENTRE, J.V. Mesenchymal stem cells in acute injury kidney. **Annual Review of Medicine**, Palo Alto. v. 59. p.311-325. 2008.

JANEWAY C.A.; TRAVERS P.; WALPORT M. **Immunobiology**. Forth Ed., London. Current Biology Publishers, 1999.

JOBIM, M.I., *et al.* Two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis of equine seminal plasma proteins and their relation with semen freezability. **Theriogenology**. v.76. p. 765-771. 2011.

JONES, D.M., FIELDEN, E.D., CARR, D.H. Some physiological and pharmacological factors affecting uterine motility as measured by electromyography in the mare. **Journal of Reproduction and Fertility Suppl**. v.44. p.357-358. 1991.

KATILA, T. Onset and duration of uterine inflammatory response of mares after insemination with fresh semen. **Biology of Reproduction**, Nova York. v.1. n.1. p. 515-517, Feb. 1995.

KATILA, T. Uterine defense mechanism in the mare. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam. v. 42. p. 197-204. Oct. 1996.

KENNEY, R.M. Cyclic and pathologic changes of the mare endometrium as detected by biopsy, with a note on early embryonic death. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** v. 172, p. 241–262. 1978.

KENNEY, R.M.; KALEEL, S.A. **Bacteriostatic activity of the mares uterus**: A progress report on immune-globulins. **Journal Reproduction of Fertility**. v. 23, p. 357-358, 1975.

KENNEY, R.M. Cyclic and pathologic changes of the mare endometrium as detected by biopsy, with a note on early embryonic death. **Journal of American Veterinary Medicine Association**, Ithaca. v. 172. n.3. p. 241-262. Feb. 1978.

KOCH, T.G.; BETTS, D.H. Stem cell therapy for joint problems using the horse as a model clinically relevant animal model. **Expert Opinion Biology Therapies**. v. 11, p. 1-6, 2007.

KOLM, G. *et al.* **Lactoferrin expression in the horse endometrium**: relevance in persisting mating-induced endometritis. **Vet Immunol Immunopathol**. v. 114. p. 159-167. 2006.

KNUTTI B., *et al.* The influence of early postbreeding uterine lavage on pregnancy rate in mares with intrauterine fluid accumulations after breeding. **Equine Veterinary Education**, v.12. p.276-270. 2000.

LANDIM – ALVARENGA, F. C.; FERNANDES, C. B.; ALVARENGA, M. L. Terapia regenerativa com células madre mesenquimales em equinos. *In*: III Congresso Argentino de Reproducción Equina, 2012, Rio Cuarto. Resúmenes... Rio Cuarto: Luis Losinno, 2012, p. 231-242.

LEBLANC, M.M. Advances in the Diagnosis and Treatment of Chronic Infectious and Post-Mating-Induced Endometritis in the Mare. **Reproduction in Domestic Animals**, Berlin. v.45. n.2. p.21-27. Jun. 2010.

LEBLANC, M.M., ASBURY, A.C., LYLE, S.K. Uterine clearance mechanisms during the early postovulatory period in mares. **Am J Vet Res**. v. 50. p. 864-867. 1989.

LeBlanc MM, *et al.* Scintigraphic measurements of uterine clearance in normal mares and mares with recurrent endometritis. **Equine Veterinary Journal**. v.26. p.109-113. 1994.

LEBLANC, M.M; *et al.* Lymphatic clearance of India Ink in reproductively normal mares and mares susceptible to endometritis. **Biology of Reproduction**, v. 1. p. 501-506. 1995.

LEBLANC, M.M.; *et al.* Differences in Uterine Position of Reproductively Normal Mares and Those with Delayed Uterine Clearance Detected by Scintigraphy. **Theriogenology**, v. 50. p. 49-54. 1998.

LIU I.K.M.; *et al.* An in vitro investigation of the mechanism of neuromuscular regulation in myometrial contractility. **Pferdeheilkunde**. v.13. p.557. 1997.

LIU I.K.M, TROEDSSON M.H.T. **The diagnosis and treatment of endometritis in the mare: Yesterday and today.** **Theriogenology**. v.70. p. 415-420. 2008.

MAIA, L.; *et al.* Feasibility and safety of intrathecal transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cells in horses. **Biomed Central Veterinary Research**. v. 11. p. 63. Mar. 2015.

Malschitzky E.; *et al.* Effect of intra-uterine fluid accumulation during and after foal-heat and of different management techniques on the postpartum fertility of thoroughbred mares. **Theriogenology**. v.58. p.495-498. 2002.

MALSCHITZY E.; *et al.* Endometrite, novos conceitos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Belo Horizonte. v.31. n.1. p.17-26. jan.-mar. 2007

MAMBELLI, L.I *et al.* A novel strategy of mesenchymal stem cells delivery in the uterus of mares with endometrosis. **Theriogenology**, Los Altos. v. 79. p. 744-750. Mar. 2013

MEIRELLES, L. da S.; *et al.* Mechanisms involved in the therapeutic properties of mesenchymal stem cells. **Cytokine Growth Factor Reviews**. v. 20. n. 5-6. p. 419-427. Oct.-Dec, 2009.

MAPA. Revisão do estudo do complexo do agronegócio do cavalo. Disponível em <[http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/file/camaras\\_setoriais/Equideocultura/revisa\\_oestudoequinos-WEB.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/camaras_setoriais/Equideocultura/revisa_oestudoequinos-WEB.pdf)>. Acesso em 12 ago. 2016.

Mattos, R.C.; *et al.* Monta natural e inseminação artificial com sêmen fresco diluído em éguas árabe. **Arq Fac Vet UFRGS**. v.24. p.57-64. 1996.

Mattos, R., *et al.* Uterine lavage with saline in mares as treatment for endometritis. **Pferdeheilkunde**. v.13. p.521-524. 1997

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**, Wildomar. v. 32. n.8. p.498. Aug. 2012.

NEWCOMBE, J.R. The effect of the incidence and depth of intra-uterine fluid in early dioestrus on pregnancy rate in mares. **Pferdeheilkunde**. v.1. p.545. Resumo. 1997.

NEELY, D.P.; *et al.* Prostaglandin release patterns in the mare: physiological, pathophysiological, and therapeutic responses. **J Reprod Fertl Suppl**. v.27. p.181-189. 1979.

PASCOE, R.R. Observations on the length and angle of declination of the vulva and its relation to fertility in the mare. **J Reprod Fertl Suppl**. v. 27. p.299-305. 1979

PASCOE, D.R.; Effect of adding autologous plasma to an intrauterine antibiotic therapy after breeding on pregnancy rates in mares. **Biology of Reproduction**. Monograph series. v.1, p. 539-543. 1995

PAPA, F.O.; DELL'AQUA, J.A. Jr., ALVARENGA, M.A. Use of corticosteroid therapy on the modulation of uterine inflammatory response in mares after artificial insemination with frozen semen. **Pferdeheilkunde**. v.24, p.79–82. 2008.

PARHAM, P. The immune system. Third edition. New York: Garland Science; 2009.

PAVÃO, G.D. **Utilização de células tronco mesenquimais autólogas para o tratamento de éguas com endometrites crônica degenerativa**. 2013. 66f. Dissertação (Doutorado em Medicina Veterinária). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Botucatu, São Paulo.

PYCOCK, J.F. Breeding management of the problem mare. *In*: SAMPER, J.C. et al. (Ed.) **Equine breeding management and artificial insemination**. USA: Elsevier, 2009. cap. 13, p.139 – 164.

PYCOCK, J.F.; ALLEN, W.E. Inflammatory components in uterine fluid from mares with experimentally induced bacterial endometritis. **Equine Veterinary Journal**, Newmarket. v.22, n.6, p. 422-425, Nov. 1990.

PYCOCK, J.F. Assessment of oxytocin and intrauterine antibiotics on intrauterine fluid and pregnancy rates in the mare. **Proc Am ASSOC equine Pract**. v. 40. p.19-20. 1994.

RAILA, G., *et al.* **Pathogenesis of equine endometrosis** – an ultrastructural investigation. **Pferdeheilkunde**, Calw. v. 13. p. 341-345. Feb. 1997.

REGHINI, M.F.S. **Efeito do tratamento com plasma rico em plaquetas em éguas resistentes e suscetíveis à endometrites persistente após inseminação natural**, 2013. 104f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Botucatu, São Paulo, 2013.

RICKETTS, S.W. Endometrial biopsy as guide to diagnosis of endometrial pathology in the mare. **Journal of Reproduction and Fertility**. Cambridge. v. 23. p. 341-345. Oct. 1975.

RICKETTS, S.W.; ALONSO, S. The effect of age and parity on the development of equine chronic endometrial disease. **Equine Veterinary Journal**. v. 23. p. 189-192. 1991.

ROGAN D.; *et al.* Use of mycobacterial cell wall extract (MCWE) in susceptible mares to clear experimentally induced endometritis with *Streptococcus zooepidemicus*. **Journal of Veterinary Science**. v. 27. p. 112-117. 2007.

SCHAMBONY, A.; *et al.* Equine CRISP-3: primary structure and expression in the male genital tract. **Biochim. Biophys Acta**. v. 1387. p.206-216. 1998.

SCHLAFER, D.H. **Equine endometrial biopsy**: enhancement of clinical value by more extensive histopathology and application of new diagnostic techniques? **Theriogenology**. v. 68. p. 413-422. 2007.

SCOTT M.A. A glimpse at sperm function in vivo: sperm transport and epithelial interaction in the female reproductive tract. **Animal Reproduction Science**. v. 60-61. p. 337-348. 2000.

SLUCHER, S.H., FREEMAN, K.P., ROSZEL, J.F. Eosinophils in equine uterine cytology and histology specimens. **J Am Vet Med Assoc**. v.184. p.665–70. 1984.

SMITH, R.K.W.; WEBBON, P.M. Harnessing the stem cell for the treatment of tendon injuries: heralding a new dawn? **British Journal of Sports Medicine**. v. 39. p. 582-584. 2006.

STEINERT, A.F.; *et al.* **The clinical application of mesenchymal stem cells for musculoskeletal regeneration**: current status and perspectives. Revisão. **Stem Cell Trans Med**. v. 1. p. 237-247. 2012.

STULL C.L.; EVANS J.W. Oxytocin binding in the uterus of the cycling mare. **Journal of Equine Veterinary Science**. v. 6. p. 114-119. 1986.

TAKAHASHI, K. *et al.* Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. **Cell**, Cambridge. v. 131. n.5. p. 861-872. Nov. 2007.

TIZARD I. Trapping and processing of foreign material. *In*: **Vet Immunology**. An Introduction, 3d Ed. Philadelphia: WB Saunders co, 1987. p.11-24.

Traub-Dargatz, J.L.; Salman, M.D.; Voss, J.L.. Medical problems of adult horses, as ranked by equine practitioners. **Journal of American Veterinary Association**. v.198 p.1745-1747. 1991.

TRIPATHI P.; Nitric oxide and immune response. **Indian J Biochem Biophysiology**. v. 44. n.5. p.310-319. 2007.

TROEDSSON M.H.T.; LIU I.K.M. Uterine clearance of nonantigenic markers (51Cr) in response to a bacterial challenge in mares potentially susceptible and resistant to chronic uterine infections. **Journal Reproduction of Fertility**. v.44. p.283–288. 1991.

TROEDSSON, M.H.T.; *et al.* Multiple site electromyography recordings of uterine activity following an intrauterine bacterial challenge in mares susceptible and resistant to chronic uterine infection. **J Reprod Fertil**. v.99. p.307-313. 1993

TROEDSSON M.H.T.; LIU I.K.M; THURMOND M. Function of uterine and blood derived polymorphonuclear neutrophils (PMN) in mares susceptible and resistant to chronic uterine infection: Phagocytosis and chemotaxis. **Biol. Reprod**. v.49. p.507-514. 1993.

TROEDSSON, M.H.T.; Uterine Clearance and resistance to persistent endometritis in the mare. **Theriogenology**, Los Altos. v. 52. n.3. p.461-471. Aug. 1999.

TROEDSSON, M.H.T. Breeding- induced endometrites in mares. **Veterinary Clinic Equine**. v.22. p. 705-712. 2006.

TROEDSSON, M.H.T. Endometritis. *In*: MCKINNON, A. O. *et al.* (Ed.) **Equine Reproduction**. Philadelphia: Wiley- Blackwell, 2011. cap. 271, p. 2608 – 2619.

TROEDSSON, M.H.T. Diseases of the Uterus. *In*: ROBINSON, N.E. (Ed.) **Current Therapy in Equine Medicine 4**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1997. Cap.12. p.517-524.

TROEDSSON, M.H.T; *et al.* Equine seminal plasma derived lactoferrin regulates binding of polymorphonuclear neutrophils(PMNs) to spermatozoa. **Journal of Equine Veterinary Science**. v. 34. p. 49. 2014.

TROEDSSON M.H.; WOODWARD E.M. Our current understanding of the pathophysiology of equine endometritis with an emphasis on breeding-induced endometritis. **Reproduction Biology**. v. 16. p. 8-12. 2016.

WIDDERS, P.R.; *et al.* Specific antibody in the equine genital tract following systemic and local immunisation. **Immunology**, Londres. v. 54. n.4. p.763-769. Apr. 1985.

WOLF, C.A. *et al.* Effect of corticotherapy on proteomics of endometrial fluid from mares susceptible to persistent post-breeding endometritis. **Theriogenology**, v. 77. p.1351-1359. 2012.

WOODWARD E.M., *et al.* Susceptibility to persistent breeding-induced endometritis in the mare: relationship to endometrial biopsy score and age, and variations between seasons. **Theriogenology**. v.78. p.495–501. 2012.

WOODWARD E.M.; *et al.* An investigation of uterine nitric oxide production in mares susceptible and resistant to persistent breeding induced endometritis, and the effects of immunomodulation. **Reprod. Domest Animals**. v.48. n.4.p.554-561. 2013.

WOODWARD E.M.; TROEDSSON M.H. Equine breeding- induced endometritis: a review. **Journal of Equine Veterinary Science**. v. 33. p. 673-682. 2013.

WOODWARD, E.M.; *et al.* Endometrial inflammatory markers of the early immune response in mares susceptible or resistant to persistent breeding-induced endometritis. **Reproduction**. v. 145. p. 289-296. 2013.

YALLAMPALLI, C.; GARFIELD, R.E.; BYAM-SMITH, M. Nitric oxide inhibits uterine contractility during pregnancy but not during delivery. **Endocrinology**. v.133. p.1899-1902. 1993.

XU J.; CHEN, G. The progress of between bone marrow mesenchymal stem cells reverse liver fibrosis. **World Chinese Journal of Digestology**. v. 18. p. 2291-2295. 2010.

ZENT, W.W., TROEDSSON, M.H.T. Postbreeding uterine fluid accumulation in a normal population of Thoroughbred mares: a field study. *In*: **Proceedings of the**

**Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, 1998;**  
pp. 64–5.