



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO (ESO)

**USO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS INTRAUTERINO EM ÉGUA
SUSCETÍVEL USADA NO PROGRAMA DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES:
RELATO DE CASO**

JÉSSICA TAINÃ PEREIRA DA SILVA DANTAS

RECIFE - PE

2021



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO (ESO)

**USO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS INTRAUTERINO EM ÉGUA
SUSCETÍVEL USADA NO PROGRAMA DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES:
RELATO DE CASO**

Relatório de Estágio Supervisionado Obrigatório como exigência parcial para obtenção do grau de Bacharela em Medicina Veterinária, sob Orientação da Prof. Dra. Sandra Regina Fonseca de Araújo Valença.

JÉSSICA TAINÃ PEREIRA DA SILVA DANTAS

RECIFE - PE

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Dantas, Jéssica Tainã Pereira da Silva Dantas.

Uso do plasma rico em plaquetas intrauterino em égua suscetível usada no programa de transferência de embriões: relato de caso/ Jéssica Tainã Pereira da Silva Dantas - 2021.

64f.: il.

Orientadora: Sandra Regina Fonseca de Araújo Valença. Inclui referências.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Bacharelado em Medicina Veterinária, Recife, 2021.

1. égua suscetível. 2. PRP. 3. embrião I. Valença, Sandra Regina Fonseca de Araújo.
II. Título

CDD 636.089

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Ivo Eufrasio Dantas e Maria José Pereira da Silva Dantas, que sempre estiveram do meu lado e fizeram tudo por mim. Especialmente ao meu pai (em memória), que sempre acreditou em mim e foi meu grande incentivador a seguir essa profissão. Sei que onde estiver, é a pessoa mais feliz do mundo por essa conquista.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, que sempre segurou na minha mão nos momentos em que eu quis desistir e me deu forças para persistir no meu sonho.

À minha família, pelo apoio e paciência, em especial ao meu pai (em memória) e a minha mãe, que nunca mediram esforços pra me fazer chegar até aqui e são a grande razão da minha persistência.

Aos meus amigos da vida, que sempre reclamaram pela minha falta de tempo e por sempre dar prioridade aos estágios, mas que sempre estiverem do meu lado, mesmo que distantes, nos melhores e piores momentos dessa jornada. Maria Clara, Marcos Eduardo, Nicole Tavares e Williams Taurino.

Aos amigos que a veterinária me deu e que levarei pela vida toda, sem eles esse caminho seria ainda mais difícil. Diogo Pecly, Raquel Brasil, Karoline Antunes, Laura Gomes.

Aos meus colegas de turma SV1, me acolheram nos momentos de desespero, pois também estavam desesperados, obrigada pelos resumos. Renata Flores, Paulo Ricardo, Cláudio Barboza, Tamarah Gentil, Tatiana Dias, Christyne Oliveira, Carla Aparecida, Ana Paula, Rebecca Novaes, Sanly Haiana, Suzane Freitas, Lucas Gelenske, Renata Lima.

Aos residentes com quem tive o prazer de estagiar, e que sempre estiveram dispostos a me ajudar. Em especial, Leandro Lamartine, Antônio Brito, João Nobre.

Aos professores que somaram de alguma forma na minha formação, em especial, a minha orientadora, Professora Sandra Regina, que além de ser um exemplo como Médica Veterinária, é também uma amiga que levarei pela vida toda. Também ao Professor Gustavo Ferrer, que sempre me incentivou e orientou em diversos momentos.

Aos Médicos Veterinários do Monte Verde, Dr. Oswaldo, Gilvannya Sobral, por toda atenção e paciência, e especialmente aos meus supervisores de estágio, Breno Santana e Diogo Gutemberg, que me acompanharam durante todo o estágio e não mediram esforços para repassar os conhecimentos, e se tornaram amigos e colegas de trabalho que quero levar para a vida. Meu muito obrigada à toda equipe de funcionários da Central Monte Verde e Fazenda Beira Rio, pelas conversas, ajuda e paciência.

Aos funcionários da UFRPE, especialmente os funcionários do DMV e funcionários do Restaurante Universitário, que sempre nos acolheram com muito amor e trabalharam para nos dar o melhor. Principalmente, aos funcionários do AGA, Marquinhos e Leo, que sempre estavam dispostos a ajudar quando necessário. Também à Claudinha e família, que proporcionaram um ótimo ambiente para gazer as aulas, e que sempre esteve do meu lado nos momentos mais desesperados desse caminho.

Aos cavalos, que me proporcionaram tanto conhecimento, liberdade e experiências, e são minha grande paixão e razão em me tornar Médica Veterinária.

“Um cavalo é poesia em movimento, ele pode nos emprestar a liberdade e força que não temos” -Autor desconhecido.

LISTRA DE ILUSTRAÇÕES

Figuras

- Figura 1 -** Infraestrutura da Central de Reprodução Equina Monte Verde, Sairé-PE.
- Figura 2 -** Infraestrutura da Fazenda Beira Rio, Bezerros-PE.
- Figura 3 -** Manejo reprodutivo e biotecnologias realizadas na Central de Reprodução Equina Monte Verde, Sairé-PE.
- Figura 4 -** Manejo sanitário: vacinação dos animais alojados na Central.
- Figura 5-** Anatomia do sistema reprodutor da égua.
- Figura 6-** Secção de um ovário funcional.
- Figura 7-** Rima vulvar com fechamento incompleto.
- Figura 8 -** Visão geral da dinâmica de citocina endometriais em éguas resistentes e suscetíveis à endometrite imediatamente após a cobertura (0 horas) à 24 horas pós-cobertura.
- Figura 9 -** Bactérias e fungos comumente isolados do útero de éguas com endometrite infecciosa, G: Gram-positiva; G-: Gram-negativa.
- Figura 10 -** Separação das camadas após a centrifugação do sangue para produção de PRP.
- Figura 11-** Material utilizado para coleta de sangue e PRP.

Figura 12 - Infusão com pipeta de inseminação do PRP intrauterino.

Figura 13- Embrião recuperado após o uso do PRP.

LISTA DE TABELAS

Tabelas

Tabela 1 - Atividades realizadas na rotina clínica e cirúrgica durante o período do estágio.

Tabela 2 - Atividades realizadas em reprodução durante o estágio.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ESO: Estágio Supervisionado Obrigatório

TE: Transferência de embriões

IA: Inseminação artificial

PRP: Plasma rico em plaquetas

MAPA: Ministério de Agricultura Pecuária e Abastecimento

FAO: Nações Unidas para Alimentação e a Agricultura

ICSI: Injeção intracitoplasmática de espermatozoide

FSH: Hormônio folículo estimulante

LTB4: Leucotrieno B4

PGE: Prostaglandina

PGF2 α : Prostaglandina F2 α

PMNs: células polimorfonucleares

AIE: Anemia Infeciosa Equina

EPPC: Endometrite persistente pós-cobertura

ON: Óxido Nítrico

IgGa: Imunoglobulina A

IgGb: Imunoglobulina B

IgGc: Imunoglobulina C

IgT: Imunoglobulina T

IgA: Imunoglobulina A

IgM: Imunoglobulina M

COX-1: Cicoxigenase 1

COX-2: Cicloxigenase 2

MMP-3: Metalloproteinase-3

TNF α : Fator de necrose tumoral alfa

IL1: Interleucina 1

TGF- β : fator de transformação β

IGF-I: fator de crescimento semelhante à insulina

FGF: fator de crescimento de fibroblastos

EGF: fator de crescimento epidermal

VEGF: Fator de crescimento endotelial vascular

US: Ultrassonografia

O3: Ozônio

Cm: centímetro

%: Número em porcentagem

iNOS: Enzima induzida pela inflamação

LRS: Ringer Lactato

UI: Unidades Internacionais

P4: Progesterona

E-17 β : Estrógeno

MSCs: células tronco mesenquimais

CTE: células tronco embrionárias

CTA: células tronco somáticas ou adultas

RANTES: regulador da ativação de células T normais expressas e secretadas

ML: mililitros

ECD: Endometrite Crônica Degenerativa

RESUMO

A equideocultura é considerada um dos setores mais promissores para a economia do Brasil, movimentando cerca de 16 bilhões de reais por ano, e sendo responsável por milhões de empregos diretos e indiretos. O Brasil possui um dos maiores rebanhos de equinos do mundo, sendo encontrados em diversos segmentos, desde estabelecimentos voltados para competição até atividades em reprodução assistida. Algumas biotecnologias podem ser utilizadas para otimizar os resultados reprodutivos das criações, dentre elas, a Inseminação Artificial (IA) e a Transferência de embriões (TE), entretanto, a manipulação excessiva do trato reprodutivo tem levado ao aumento de desordens, especialmente, nas éguas, levando-as a problemas uterinos como as endometrites, consideradas uma das principais causas de problemas de fertilidade nas fêmeas equinas. O uso de terapias biológicas alternativas como o plasma rico em plaquetas (PRP), vem ganhando destaque, por ser capaz de modular a resposta inflamatória uterina, pré e pós cobertura ou inseminação artificial (IA). O presente relatório descreve as atividades desenvolvidas durante o período do Estágio Supervisionado Obrigatório da aluna Jéssica Tainã Pereira da Silva Dantas na rotina de uma Central de Reprodução Equina, assim como, faz uma revisão de literatura sobre reprodução de éguas e relata um caso de recuperação de embrião em uma égua suscetível após o tratamento com Plasma rico em Plaquetas (PRP). O ESO foi realizado na Central de Reprodução Equina Monte Verde, Agreste de Pernambuco, no período de 05 de abril a 18 de junho de 2021, com carga horária total de 420 horas. Durante o estágio foi possível desenvolver habilidades no acompanhamento dos procedimentos, técnicas e manejo realizados na rotina de uma Central de Reprodução Equina. É notável a importância desse treinamento prático diário, principalmente, na fase final da graduação.

Palavras-chave: égua suscetível, PRP, embrião.

ABSTRACT

Horse industry is considered one of the most promising sectors for the Brazilian economy, moving around 16 billion reais an year, and being responsible for millions of direct and indirect jobs. Brazil has one of the largest herds of horses in the world, being found in several segments, from establishments aimed at competition to activities in assisted reproduction. Some biotechnologies can be used to optimize the reproductive results of breeding, including Artificial Insemination (AI) and Embryo Transfer (ET), however, excessive manipulation of the reproductive tract has led to an increase in disorders, especially in mares, leading to uterine problems such as endometritis, considered one of the main causes of fertility problems in equine females. The use of alternative biological therapies such as platelet-rich plasma (PRP) has gained prominence for being able to modulate the uterine inflammatory response, pre and post breeding or artificial insemination (AI). This report describes the activities developed during the period of the Mandatory Supervised Internship of the student Jéssica Tainã Pereira da Silva Dantas, in the routine of an Equine Reproduction Center, as well as a literature review on mares reproduction and reports a case of recovery of embryo in a susceptible mare after treatment with Platelet Rich Plasma (PRP). The ESO was held at the Monte Verde Equine Reproduction Center, Agreste of Pernambuco, from April 5 to June 18, 2021, with a total workload of 420 hours. During the internship, it was possible to develop skills in monitoring the procedures, techniques and handling performed in the routine of an Equine Reproduction Center. The importance of this daily practical training is remarkable, especially in the final phase of graduation.

KeyWords: susceptible mare; PRP, embryo.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO (ESO)
USO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS INTRAUTERINO EM ÉGUA
SUSCETÍVEL USADA NO PROGRAMA DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES:
RELATO DE CASO**

Relatório elaborado por

Jéssica Tainã Pereira da Silva Dantas

Aprovada em 12 / 07 / 2021

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Sandra Regina Fonseca de Araújo Valença

Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

Membro titular: Gustavo Ferrer Carneiro

Departamento de Medicina Veterinário UFRPE

Membro titular e Supervisor: Breno Barros de Santana

Monte Verde Central de Reprodução Equina

Suplente: Diogo Gutemberg Nascimento Bezerra

Monte Verde Central de Reprodução Equina

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

FOLHA DE IDENTIFICAÇÃO DO ESO

I.

ESTAGIÁRIA: Jéssica Tainã Pereira da Silva Dantas

MATRÍCULA: 08732289448

CURSO: Medicina Veterinária

FONE: (81) 99874-5287

E-MAIL: jessicadantas.vet@gmail.com

ORIENTADORA: Sandra Regina Fonseca de Araújo Valença

II.

EMPRESA: Monte Verde Central de Reprodução Equina e Haras Monte Verde, Sairé e Bezerros – PE.

SUPERVISOR: Breno Barros de Santana

INÍCIO E TÉRMINO DO ESTÁGIO: 05 de abril de 2021 a 18 de junho de 2021.

TOTAL DE HORAS: 420 horas

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	17
1. INTRODUÇÃO	17
2. OBJETIVOS	17
2.1 Geral	17
2.2 Específicos.....	17
3. DESCRIÇÃO DO LOCAL DE ESTÁGIO	18
4. DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES REALIZADAS	20
5. CONCLUSÃO	24
CAPÍTULO II – RELATO DE CASO	25
RESUMO	25
1. INTRODUÇÃO	25
2. REVISÃO DE LITERATURA	27
2.1 Anatomia do trato reprodutor da égua	27
2.2 Fisiologia reprodutiva da égua.....	29
2.3 Mecanismos de defesa uterina.....	31
2.3.1 Barreiras físicas.....	31
2.3.2 Limpeza física uterina	31
2.3.3 Imunidade celular	32
2.3.4 Imunidade humoral	34
2.4 Éguas resistentes X Éguas suscetíveis.....	34
2.5 Endometrites	36
2.5.1 Endometrite persistente pós-cobertura	36
2.5.2 Endometrite infecciosa crônica.....	38
2.5.3 Endometrite crônica degenerativa (endometriose).....	39
2.5.4 Endometrite sexualmente transmissível.....	40
2.6 Diagnóstico.....	40
2.7 Tratamentos.....	41
2.7.1 Lavagem uterina	42
2.7.2 Antibióticos e Antifúngicos	42
2.7.3 Drogas ecbólicas	43
2.7.4 Anti-inflamatórios	44
2.7.5 Ozonioterapia	45
2.7.6 Células tronco.....	45
2.7.7 Plasma rico em plaquetas.....	45
3. Descrição do caso	48
3.1 Metodologia	49
3.2 Resultados e discussão.....	51
CONCLUSÃO	52
REFERÊNCIAS	52

CAPÍTULO I - RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO (ESO)

1. INTRODUÇÃO

O Estágio Supervisionado Obrigatório (ESO) é uma disciplina do curso de Medicina Veterinária da UFRPE, com uma carga horária total de 420 horas, onde as atividades são desenvolvidas sob a orientação e supervisão de profissionais capacitados. Tem como objetivo proporcionar ao aluno da graduação a vivência na área de seu interesse, melhorando e complementando sua formação como Médico Veterinário.

O presente relatório refere-se ao ESO realizado na área de Reprodução Equina, acompanhando a rotina da Central de Reprodução Equina Monte Verde e Haras Monte Verde, no período de 05 de abril a 18 de junho, com carga horária total de 420 horas, sob a supervisão do Médico Veterinário Breno Barros de Santana e orientação da Profa. Dra. Sandra Regina Fonseca de Araújo Valença.

Diante da rotina acompanhada, entre procedimentos em Reprodução e Clínica, são descritas nesse capítulo, a estrutura, dinâmica de funcionamento e o manejo dos animais. Durante o desenvolvimento das atividades ganhou destaque o bom resultado do uso de plasma rico em plaquetas em uma égua suscetível usada no programa de transferência de embriões, o que motivou a descrição do relato de caso apresentado no Capítulo II desse Relatório.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Descrever as atividades realizadas durante o Estágio Supervisionado Obrigatório, do curso de bacharelado em Medicina Veterinária da UFRPE, no período de 05 de abril a 18 de junho de 2021.

2.2 Específicos

- Expor o funcionamento de uma Central de Reprodução Equina.
- Relatar a casuística desenvolvida durante o ESO, tanto no setor de Biotecnologias da reprodução, quanto no manejo de haras e atendimentos clínicos realizados.
- Relatar um caso acompanhado.

3. DESCRIÇÃO DO LOCAL DO ESTÁGIO

A Central de Reprodução Equina Monte Verde está localizada no município de Sairé-PE, possui uma área de 90 hectares, sendo constituída por 67 baias, 8 piquetes de tamanhos variados, 4 lanchonetes com 24 cochos individuais cada uma, com cerca de 170 animais. Não foi possível especificar o número exato de animais pois o fluxo de entrada e saída variou bastante durante todo o período de estágio, dinâmica observada na Central. Durante o período, na propriedade, estavam alojados 12 garanhões, 10 animais em treinamento (doma e vaquejada), 40 doadoras, 20 animais sendo preparados para leilão e cerca de 90 receptoras. Quanto à estrutura física, a Central conta com um pavilhão para o manejo reprodutivo dos animais conforme descrito na (Figura 1).

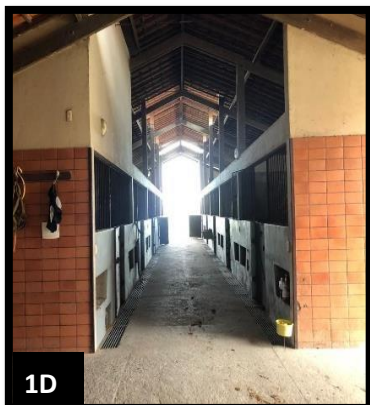
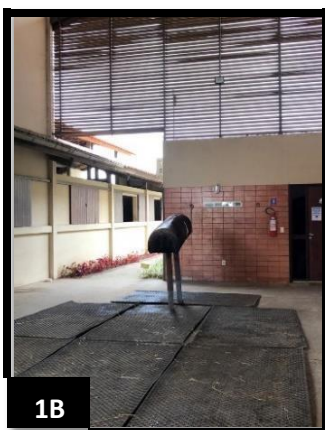




Figura 1 – Infraestrutura da Central de Reprodução Equina Monte Verde, Sairé-PE.

(Fig.1A - Brete para contenção; 1B- Manequim para coleta de sêmen; 1C- Balança de pesagem; 1D- Corredor de baias destinadas ao alojamento de garanhões, doadoras e matrizes; 1E- Piquete de garanhão; 1F- Piquete de doadoras e matrizes; 1G- Lanchonete de receptoras; 1H- Laboratório de manipulação de embriões; 1I- Piquete de receptoras; 1J- Laboratório de processamento de sêmen; 1L- Sala de esterilização). **Fonte:** Arquivo pessoal.

O Haras Monte Verde possui uma segunda propriedade, onde estão as éguas matrizes, os potros e as receptoras/matrizes paridas ou prenhes. A Fazenda Beira Rio (**Figura 2**), tem por objetivo cria e recria de cavalos Quarto de Milha, está localizada no município de Bezerros-PE, às margens do Rio Ipojuca. Possui cerca de 100 hectares, onde estão alojados cerca de 250 animais.

Sua estrutura é composta de 20 baias, piquetes maternidade, piquetes de recria, lanchonetes cada uma composta por 24 cochos individuais. Além disso, a Fazenda Beira Rio conta com um sistema de pastejo rotacionado e piquetes com irrigação provinda do Rio Ipojuca. A fazenda produz feno e pré-secado utilizado para a alimentação dos animais da Central e da Fazenda, e o excedente é vendido.



Figura 2 – Infraestrutura da Fazenda Beira Rio, Bezerros-PE. (**Fig.2A**- Brete para contenção, quarto de armazenamento de ração, farmácia e banhador; **2B** - Piquetes na Fazenda Beira Rio). **Fonte:** Arquivo pessoal.

4. DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES REALIZADAS

Durante o período do ESO foi possível acompanhar toda a rotina reprodutiva, sanitária, clínico-cirúrgica e nutricional dos animais, bem como o manejo geral da propriedade. No total, o Haras Monte Verde conta com uma equipe de 26 funcionários, divididos em: cuidados com os animais, manutenção de pastos e instalações; administrativos; e uma equipe técnica composta de quatro Médicos Veterinários, Breno Barros de Santana, Diogo Gutemberg, Oswaldo Christiano Gomes Neto e Gilvannya Gonçalves de Sobral.

A rotina na Central variava bastante conforme a demanda do dia, mas, de forma geral era composta de: coleta de sêmen dos garanhões, para processamento e envio ou congelamento; controle folicular através de palpação retal e ultrassonografia transretal das éguas doadoras, matrizes e receptoras; inseminação artificial com sêmen fresco e congelado; lavagem uterina para coleta de embrião; avaliação de receptoras inovuladas com os embriões coletados (**Figura 3**). Além disso, diariamente, eram realizados tratamentos de feridas, administração de medicações. De acordo com a demanda, realizava-se tratamento dos distúrbios reprodutivos, coleta de sangue para exames, vacinação, e eventualmente, atendimentos emergenciais como as cólicas (**Figura 4**).



Figura 3- Manejo reprodutivo e biotecnologias realizados na Central de Reprodução Equina Monte Verde, Sairé-PE. (**Fig.3A** - Coleta de sêmen; **3B** - Ultrassonografia em égua para controle folicular; **3C** - Lavagem uterina para coleta de embrião; **3D** - Avaliação de embrião). **Fonte:** Arquivo pessoal.

O Haras Monte Verde segue um protocolo rigoroso quanto ao manejo sanitário dos animais que entram e saem da Central. Sendo seguido todos os protocolos segundo o Ministério de Agricultura e Pecuária (MAPA) conforme (**Figura 4**), a seguir:

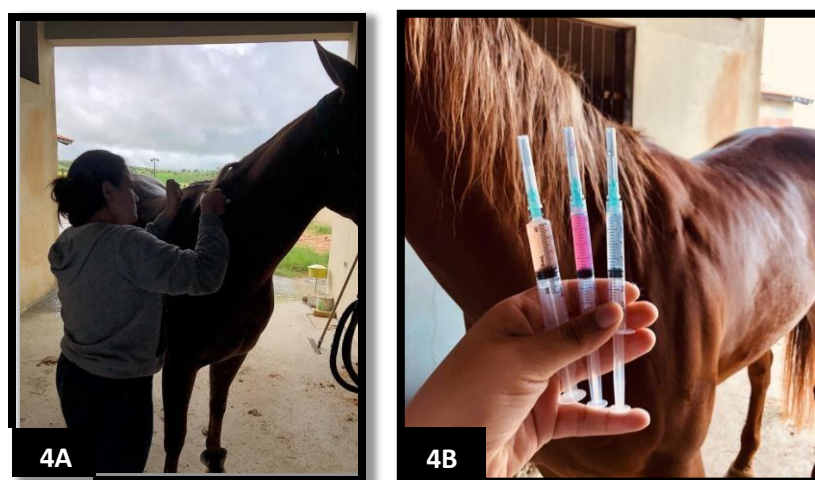


Figura 4 – Manejo sanitário: vacinação dos animais alojados na Central.

(Fig.4A- Aplicação de vacina intra muscular; 4B- Protocolo vacinal dos atletas de vaquejada). Fonte: Arquivo pessoal.

O manejo nutricional dos animais varia conforme a categoria, e também, ao tipo de alojamento. Para os animais que estão a pasto, é ofertado concentrado, pasto à vontade e quando necessário, é acrescentado feno ou pré-secado. Aos animais que estão em baias, é ofertado concentrado 3x/dia e feno ou pré-secado à vontade. Além da alimentação, todos os animais recebem sal mineral à vontade, e, dependendo da categoria, recebem algum tipo de suplementação, seja essa voltada para a reprodução ou para os animais em treinamento.

A Central tem uma produção média anual de 80 embriões, produzidos a partir de sêmen de animais de corrida, vaquejada e hipismo. Esse resultado vem sendo alcançado graças ao atendimento rigoroso às medidas profiláticas de manejo dos animais e utilização dos efetivos programas de biotecnologias da reprodução.

Já na Fazenda Beira Rio as atividades desenvolvidas eram: controle folicular através de palpação retal e ultrassonografia transretal das éguas doadoras, matrizes e receptoras; inseminação artificial com sêmen fresco e congelado; lavagem uterina para coleta de embrião; avaliação de receptoras para inovulação com os embriões coletados, acompanhamento dos neonatos, tratamentos dos animais. Entretanto, essa rotina não foi muito acompanhada durante o estágio, sendo o foco maior na Central.

Os procedimentos relacionados ao manejo reprodutivo acompanhados durante o Estágio totalizaram 1233 atendimentos, conforme descrito na **Tabela 1**.

Tabela 1- Casuística dos procedimentos de manejo reprodutivo durante o período do Estágio no Haras Monte Verde, Pernambuco.

PROCEDIMENTOS	TOTAL (%)
Coletas de sêmen	117 (9,5)
Palpação retal e Ultrassonografia transretal em doadoras	324 (26,27)
Palpação retal e Ultrassonografia transretal em receptoras	505 (40,95)
Congelamento de sêmen	22 (1,8)
Processamento para resfriamento de sêmen	102 (8,27)
Diagnóstico de gestação	47 (3,81)
Lavagem uterina para coleta de embrião	30 (2,43)
Inovulação de embrião	23 (1,87)
Inseminação artificial com sêmen fresco	29 (2,35)
Inseminação artificial com sêmen congelado	34 (2,75)
Total	1233 (100)

Os procedimentos relacionados ao manejo sanitário e a clínica médico-cirúrgica acompanhados durante o Estágio totalizaram 296 atendimentos, conforme descrito na **Tabela 2**.

Tabela 2- Casuística dos atendimentos de manejo sanitário e clínico-cirúrgicos durante o período do Estágio no Haras Monte Verde, Pernambuco.

ATENDIMENTOS	Total (%)
Cólica	5 (1,7)
Sutura de feridas por acidente	2 (0,67)
Retirada de cisto	1 (0,33)
Infiltração na articulação társica	1 (0,33)
Tratamento de feridas	6 (2,02)
Desobstrução de ducto nasolacrimal	5 (1,7)
Tratamento de úlcera de córnea	1 (0,33)
Lavagem uterina	7 (2,36)
Extração de dente de lobo	2 (0,7)
Crioterapia e massagem	4 (1,35)
Coleta de sangue para AIE e Mormo	164 (55,40)
Vacinação	95 (32,1)
Ozonioterapia	3 (1,01)
Total	296 (100)

5. CONCLUSÃO

O Estágio Supervisionado Obrigatório (ESO) é um importante período para a formação do acadêmico de Medicina Veterinária, pois é nesse período que se tem a vivência prática na área escolhida pelo graduando, e assim, possibilita uma experiência prática e maturidade profissional. Durante o estágio foi possível aprender e treinar habilidades técnicas de uma rotina em uma Central de Reprodução Equina. É notável a importância desse treinamento prático diário, principalmente, na fase final da graduação. Assim como a aquisição de maiores responsabilidades, visto que essa é a última oportunidade do estudante, antes de tornar-se um profissional.

CAPÍTULO II

CAPÍTULO II - USO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS INTRAUTERINO EM ÉGUA SUSCETÍVEL USADA NO PROGRAMA DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES: RELATO DE CASO

RESUMO

As biotecnologias da reprodução são cada vez mais requisitadas pelo mercado da equideocultura brasileira, pois possibilita a otimização da vida reprodutiva dos cavalos, dessa forma, gerando um melhoramento genético e um melhor retorno financeiro. As biotécnicas reprodutivas seguem sendo aprimoradas, pois, é notável que a manipulação excessiva do trato reprodutivo dos cavalos, especialmente das éguas, pode acarretar em problemas de fertilidade. Por isso, muitas são as terapias estudadas e empregadas, para o tratamento de éguas problema. Esse estudo teve por objetivo relatar o uso de plasma rico em plaquetas intrauterino em uma égua submetida ao programa de TE, com histórico de problema reprodutivo, e seu sucesso na taxa de recuperação embrionária da mesma. Sendo realizado o protocolo de transferência de embrião, assim como, o uso de PRP, como terapia alternativa na modulação da inflamação intrauterina.

Palavras-chave: éguas problema; PRP; TE.

1. INTRODUÇÃO

O cavalo tem sua importância na história mundial desde as civilizações mais antigas, a princípio sendo domesticado pelos nômades com o objetivo principal de ser utilizado para deslocamento e tração. Com o passar dos anos tornou-se um animal ainda mais valorizado, sendo um personagem importante nas ofensivas militares nas principais guerras mundiais. E mais recentemente, pela sua versatilidade vem sendo utilizado para diversas práticas de esporte e lazer (MARIZ, 2008). A equideocultura é um ramo do agronegócio que movimenta de forma dinâmica e expressiva o setor financeiro do Brasil, gerando milhares de empregos e renda (LIMA, 2016).

De acordo com as Nações Unidas para Alimentação e a Agricultura (FAO, 2016) o Brasil possui cerca de 5,5 milhões animais, sendo o 4º maior rebanho de cavalos do mundo. Os Estados Unidos é o país com maior rebanho, com aproximadamente 10,5 milhões de cavalos, seguido por México, com 6,3 milhões e China, com 5,9 milhões. No Brasil, a equideocultura é confirmada como um dos setores mais expressivos, movimentando cerca de 16 bilhões de reais por ano, envolvendo diversos segmentos dessa forma sendo responsável pela geração de aproximadamente 3 milhões de empregos diretos e indiretos (MAPA, 2016).

Esses milhões de animais encontram-se em diversos estabelecimentos equestres, sendo utilizados para atividades distintas: esportes, lazer e reprodução, por exemplo, e

uma pequena porcentagem utilizado em atividades agropecuárias (CINTRA, 2011; VIEIRA, 2014). Devido a esse crescimento houve uma grande procura pelos serviços veterinários relacionados às biotecnologias da reprodução equina, que visam melhorar os resultados e otimizar a vida reprodutiva dos cavalos, dessa forma, gerando um melhoramento genético e conseqüentemente o retorno financeiro de quem investe nessas atividades. Com isso, observa-se um aumento na procura por animais de genética superior e com desempenho superior nos esportes para os programas de reprodução assistida (MONTECHIESI, 2015).

Diversas são as biotecnologias utilizadas em reprodução equina: Inseminação Artificial (IA), Transferência de embriões (TE), Injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI), Aspiração folicular, dentre outros. Além da IA, outra biotecnologia da reprodução equina bastante utilizada é a TE, que vem ganhando cada vez mais espaço no mercado. No ano de 2015, pesquisas realizadas por LOSINNO e UROSEVIC, relataram que o Brasil lidera a produção de embriões equinos respondendo por cerca de 50% dos embriões transferidos no mundo, produzindo anualmente cerca de 25.000 embriões transferidos. Já no ano de 2010, Alvarenga constatou que, em segundo lugar, em número de produção de embriões, têm-se a Argentina e os Estados Unidos (ALVARENGA, 2010).

A manipulação de forma inadequada do trato reprodutivo tem levado ao aumento do número de desordens uterinas, comprometendo a fertilidade da égua. Desse modo, esses problemas podem gerar prejuízos, causada pela queda na taxa de concepção, aumento do número de serviços por prenhez e sobrevivência embrionária prejudicada. Além disso, alguns fatores afetam diretamente as taxas de recuperação embrionária, dentre esses, destaca-se: o número de ovulações, a idade da doadora e a seu histórico reprodutivo, o método de preservação, dose e qualidade do sêmen e o dia da recuperação embrionária (FLEURY *et al.*, 2001; SQUIRES *et al.*, 2003; STOUT, 2006; SQUIRES, 2006; MCKINNON & SQUIRES, 2007). Estes fatores associados ou isolados fazem com que a eficiência de programas de TE nesta espécie sejam baixas, sendo necessários 2 a 3 ciclos para se obter uma gestação (SQUIRES *et al.*, 2003; ALVARENGA *et al.*, 2008; SQUIRES e HON, 2009; JACOB *et al.*, 2010). Dessa forma, os investimentos para a produção de um potro proveniente de TE são altos.

Falhas na concepção das éguas tem sido um assunto de grande interesse, devido ao aumento do mercado de biotecnologias ligadas a reprodução. Uma das principais causas da redução da fertilidade em éguas é a endometrite, podendo ter várias etiologias (TROEDSSON, 1999). Com o objetivo de aumentar a eficácia reprodutiva, diversos tratamentos e procedimentos vêm sendo utilizados (MAMBELLI *et al.*, 2013). O uso de terapias biológicas como células tronco e plasma rico em plaquetas (PRP) em cavalos foi introduzido no tratamento de afecções do sistema locomotor. Em 2014, FLACH relatou, o uso dessas terapias para tratamento de problemas uterinos, por serem capazes de estimular a regeneração tecidual e diminuir a inflamação aumentando as citocinas anti-inflamatórias e reduzindo a concentração das pró-inflamatórias (FLACH, 2014).

Este estudo teve como objetivo relatar o uso de PRP intrauterino em égua suscetível usada no programa de TE e seu sucesso na taxa de recuperação de embriões, mostrando assim um resultado da implantação dessa terapia utilizada na reprodução equina.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ANATOMIA DO TRATO REPRODUTOR DA ÉGUA

O conhecimento sobre a anatomia e fisiologia da égua é sem dúvida um dos principais fatores para se conseguir um bom manejo reprodutivo, alcançando melhores resultados reprodutivos e, conseqüentemente, obter menos perdas econômicas (SAMPER, 2009). O trato reprodutivo da égua se estende desde a posição dos ovários ventralmente à 4^o ou 5^o vértebra lombar e, caudalmente, através da cavidade pélvica, até à vulva (HABEL, 1953).

Apresenta características semelhantes às demais espécies domésticas, podendo ser dividido em: órgãos internos e órgãos externos, expostos na **Figura 5**. Com algumas peculiaridades relacionadas ao tamanho, posição e estrutura micro e macro anatômica. É composto por: ovários, tubas uterinas, útero, cérvix, vagina e vulva, sendo os órgãos genitais internos sustentados por ligamentos, mesovário, messosalpinge e mesométrio, que formam o ligamento largo do útero (PAIVA JÚNIOR, 2008). A funcionalidade destes órgãos está dependente dos hormônios neuroendócrinos, produzidos e secretados pelo hipotálamo e hipófise (BRINSKO & BLANCHARD 2011; SAMPER, 2009).

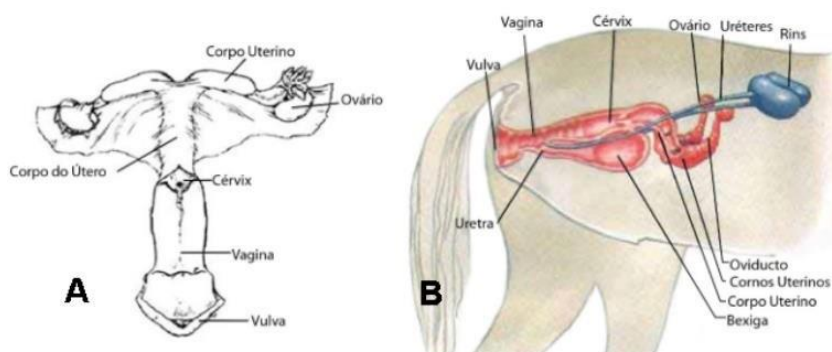


Figura 5- Anatomia do sistema reprodutor da égua. (**Fig5A-** Vista Dorsal e **5B-** Vista Lateral do trato reprodutivo da égua). **Fonte:** Evans, *et al.* 2002.

Os ovários possuem uma posição anatômica variável, pois o mesovário permite um leve grau de movimento passivo. O ovário esquerdo situa-se caudalmente ao ovário direito e mais perto do rim ipsilateral (GINTHER, 1979). Nos equídeos, os ovários possuem uma depressão proeminente, denominada de fossa ovulatória, localizada no bordo côncavo ventral. Já o bordo côncavo dorsal está incorporado no mesovário. O tamanho dos ovários varia entre 7 e 8 cm, dependendo da fase do ciclo estral e da atividade folicular. O ovário é maior em éguas mais jovens, e tendem a ficar mais fibrosos à medida que a égua envelhece (KAINER, 2011). As fêmeas equídeas possuem uma particularidade quando comparadas a outras fêmeas, pois suas camadas ováricas estão invertidas, ou seja, a zona medular é superficial e a zona cortical, que contém os folículos (parênquima), é interna (DYCE, 2019). Conforme (**Figura 6**) a seguir:

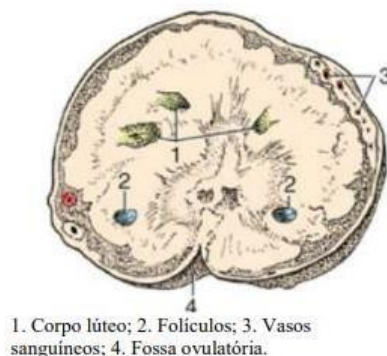


Figura 6- Seção de um ovário funcional. **Fonte:** Dyce, 2019.

A vagina compreende a passagem que se estende através da cavidade pélvica desde o colo do útero até a vulva. Na sua composição se encontram dois cornos uterinos, um corpo e uma cérvix ou colo. A cérvix é uma estrutura semelhante a um esfíncter, que se projeta na porção caudal da vagina, onde está composta por saliências que, na égua, são características as dobras da mucosa e as alças que se projetam para dentro da vagina. A cérvix é a porção mais curta com cerca de 6 cm (HAFEZ *et al.*, 2004).

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 7), o que resulta na entrada de ar para a vagina, ocasionando uma pneumovagina.

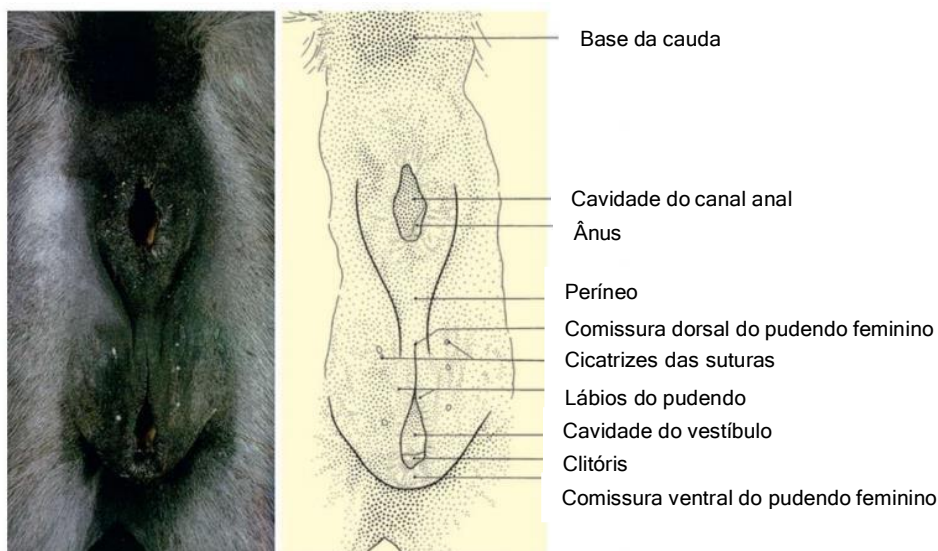


Figura 7- Rima vulvar com fechamento incompleto. Vista caudal. **Fonte:** Done e Ashdown, 2011.

O útero é um órgão muscular oco, que na sua porção cranial se projeta as tubas uterinas e na parte caudal a vagina. Está situado na cavidade abdominal, onde se estende por uma curta distância dentro da cavidade pélvica. Está inserido na região sublombar e nas paredes laterais da cavidade pélvica por duas pregas de peritônio, denominadas ligamentos largos. A estrutura uterina consiste em três túnicas: a serosa (perimétrio) que está aderida a túnica muscular (miométrio) no qual apresenta duas camadas, um extrato externo fino de fibras longitudinais e uma espessa camada interna de fibras circulares, estando entre elas uma camada de tecido conjuntivo. A túnica mucosa (endométrio) repousa diretamente na túnica muscular, de coloração vermelho-marrom, exceto no colo, onde é pálida. Está coberta por uma camada única de células colunares altas, com numerosas glândulas uterinas longas (GETTY, 1986).

A égua saudável mantém o útero 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, vestibulo e cérvix 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 (CAMOZZATO, 2010).

2.2 FISILOGIA REPRODUTIVA DA ÉGUA

As fêmeas da espécie equina são poliéstricas anuais ou estacionais, podendo ficar prenhe em qualquer época do ano, porém, em sua grande maioria são estacionais em função da latitude, exibindo atividade ovariana durante a primavera e verão. Normalmente, nos meses de inverno a atividade ovariana é extremamente reduzida, sendo considerado o anestro estacional (ROMANO; MUCCILO; SILVA, 1998).

Com o final do anestro estacional e início da estação reprodutiva, as éguas passam pelo período de transição, chamado de anestro transicional. Essa fase é o intermédio entre a saída do anestro estacional 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).

Segundo HAFEZ *et al.* (2004), o ciclo estral da égua dura entre 19 e 25 dias, sendo dividido em fase folicular, que é composto pelo proestro e estro, e a fase luteal, que engloba o metaestro e diestro. O ciclo estral da égua inicia-se por indução da luminosidade, captada por receptores na retina que estimula o eixo pineal-hipotalâmico-hipofisário-gonadal e inibe a produção de melatonina com consequente aumento da produção e secreção do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) no hipotálamo (AURICHAB, 2011). O GnRH atua na hipófise anterior, ao qual induz a liberação dos hormônios folículo-estimulante (FSH) e luteinizante (LH), os quais agem a nível ovariano e determina o recrutamento, a seleção, a dominância folicular, seguida

pela ovulação (HAFEZ e HAFEZ, 2004; LEY, 2006).

O proestro e o estro se confundem, ou seja, visualmente não é possível distingui-los. São caracterizados pelo desenvolvimento folicular e dominância de um ou mais folículos pré-ovulatórios (FARIAS et al., 2016). Através da maturação, os folículos iniciam a secreção de estrógeno, estimulando a diminuição dos níveis de progesterona, através do feedback que ocorre entre ambos (ARISTIZÁBAL et al., 2017). O estro dura em média 5 dias, podendo variar entre 4 a 8 dias, dependendo da raça, é caracterizado pela presença de folículos pré-ovulatórios de aproximadamente 35 mm de diâmetro e pelo aumento do nível de estrógeno β -estradiol, que é secretado pelos folículos pré-ovulatórios. O útero apresenta aumento da vascularização, consequentemente extravasando líquido dos vasos para a área intersticial, resultando no edema endometrial (ARISTIZÁBAL et al., 2017). Sendo caracterizado pela receptividade ao garanhão e aceitação da monta, aumento do volume da vulva, lábios vulvares frouxos, que se abrem facilmente para o exame, vulva fica avermelhada ou alaranjada, úmida, brilhante, coberta por uma fina camada de muco transparente. Além disso, a égua assume a posição característica de micção, cauda levantada, urina eliminada em pequenas quantidades e clitóris exposto em contrações rítmicas e prolongadas. Com isso, seu trato genital está preparado para aceitar e transportar os espermatozoides, ocorrendo a ovulação, em média, 24-48 horas antes do final do cio (HAFEZ, et al., 2004).

O período sucessivo à ovulação é caracterizado pelo metaestro e diestro, com duração média de 13 a 17 dias. Nessa fase o nível de estrógeno reduz enquanto a concentração sérica de progesterona produzida pelo corpo lúteo aumenta progressivamente. Devido a isso, a receptividade da égua ao garanhão cessa (LEY, 2006). Se houver falhas na concepção, no reconhecimento materno da gestação ou morte embrionária, resultará na lise do corpo lúteo por ação da prostaglandina produzida no endométrio, havendo retomada do ciclo estral. Porém, após a cobertura se houver fusão do ovócito com o espermatozóide, configurará em êxito na fecundação, desta forma, o corpo lúteo permanece ativo e a progesterona se mantém a níveis altos contribuindo para manutenção a gestação (DAVID, 2010). Segundo Pimentel et al. (2014), o diestro é o período onde a fêmea rejeita o macho, a cérvix está fechada, além da diminuição da vascularização uterina decorrente do estímulo de progesterona.

A dinâmica de desenvolvimento folicular tem início com a puberdade e ocorre a cada estação reprodutiva. Fêmeas com estacionalidade reprodutiva marcada apresentam folículos aptos ao recrutamento ao final do período de anestro os quais entram em processo de crescimento até o estabelecimento da dominância pelo folículo pré-ovulatória, o qual determina a regressão dos demais (LEY, 2006).

Segundo HAFEZ et al. (2004), algumas irregularidades do ciclo estral estão associadas a mudanças sazonais no fotoperíodo, nutrição e clima. Existem alguns tipos de variações no padrão cíclico de comportamento das éguas, incluindo: duração do cio, alterações de comportamento, falha de ovulação e no desenvolvimento folicular e prolongamento espontâneo da atividade do corpo lúteo. Também pode-se observar “ovulação silenciosa”, cio sem ovulação, “cio interrompido” e o cio prolongado, além disso, ocorre um processo inflamatório e infeccioso transitório na égua após a cobertura ou inseminação.

Éguas normais eliminam as bactérias e componentes que provocam a inflamação rapidamente, enquanto outras não conseguem fazer o mesmo, isso deve-se às diferenças entre os mecanismos de limpeza uterino, a dilatação cervical, e a atividade do miométrio e a drenagem linfática. A cobertura durante o cio pós-parto pode levar ao aumento dos índices de aborto, distocia, natimortos e retenção de placenta. Estes eventos normalmente ocorrem devido a introdução de bactérias no útero antes mesmo desse estar completamente envolvido e ainda com pouca contratilidade (VALENTE, *et al.*, 2006).

A duração da gestação da égua varia entre 330 a 341 dias e é influenciado pelo tamanho da égua, pelo genótipo fetal e pela fase da estação de monta do período da concepção (VALENTE *et al.*, 2006). A gestação gemelar em éguas é rara e indesejada por provocar abortamentos e pelo comprometimento do desenvolvimento pós-natal dos poucos potros gêmeos que sobrevivem (HAFEZ, *et al.*, 2004). A puberdade da égua tem início entre o décimo e vigésimo quarto mês, com uma média de dezoito meses de vida (FRANDSON, 1979; HAFEZ, *et al.*, 2004).

2.3 MECANISMOS DE DEFESA UTERINA

As éguas podem apresentar inflamações no útero de algumas formas, dentre essas: pós-cobertura, pós-inseminação, pós-parto ou através de manipulação intra-uterina. O útero da égua é mantido livre de contaminantes através de mecanismos físicos, imunológicos e de um sistema linfático funcional (CASLICK, 1937; PASCOE, 1979). Animais sadios acabam com o processo inflamatório rapidamente, porém, algumas éguas não são capazes de realizar esse processo rapidamente. Para isso, o útero dispõe de mecanismos de defesa físicos e celulares que provocam uma rápida eliminação dos agentes que promovem o processo inflamatório (CAMOZZATO, 2010).

2.3.1 BARREIRAS FÍSICAS

As barreiras físicas que impedem o acesso de microorganismos ao útero são a vulva (CASLICK, 1937; PASCOE, 1979), a prega vestibulo-vaginal (HINRICHS *et al.*, 1988) e a cérvix (LEBLANC *et al.*, 1995). Nos equinos, em todos os métodos de cobertura, o sêmen é depositado na luz uterina. Dessa forma, as barreiras físicas são ultrapassadas, sendo o espermatozóide, proteínas do plasma seminal e bactérias do sêmen e do pênis do garanhão, responsáveis pela resposta inflamatória aguda do útero (TROEDSSON, 1997).

Além disso, os defeitos de conformação do períneo interferem nas barreiras que separam o ambiente do útero ao meio exterior, ocasionando pneumovagina e expondo o ambiente uterino a agentes agressores e irritantes, o que favorece o estabelecimento do processo infeccioso. Aderências e lacerações na cérvix; dificultam a limpeza mecânica do útero durante o estro, podendo causar acúmulo de líquido durante o diestro e impedir o fechamento adequado da cérvix, impedindo a manutenção da gestação (CAMOZZATO, 2010).

2.3.2 LIMPEZA FÍSICA UTERINA

Um dos principais mecanismos para eliminação rápida do agente agressor e dos componentes e subprodutos inflamatórios é a contratilidade miometrial, que é imprescindível para a limpeza física da luz uterina (EVANS *et al.*, 1987; LEBLANC *et al.*, 1994; TROEDSSON *et al.*, 1993). A resposta à agressão ocorre rapidamente, com um aumento da intensidade das contrações (PAIVA JÚNIOR, 2008). Sendo considerada a forma de limpeza mais importante após a cobertura (LEBLANC, 1995).

Para GUYTON (1991), as contrações do miométrio facilitam a drenagem, ao comprimir os vasos linfáticos, que movem o fluido em direção ao linfonodo. 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 (JONES *et al.*, 1991).

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). A limpeza deficiente do útero durante o período que compreende o estro é a maior causa de endometrite recorrente na égua, onde, animais velhos e com susceptibilidade têm uma disfunção mecânica na limpeza de produtos do útero e acumulam fluidos após inoculação de bactérias durante o estro (TROEDSSON *et al.*, 1993). O espaço de tempo grande entre a entrada da bactéria e a limpeza de subprodutos da inflamação permite a aderência das bactérias no endométrio (PAIVA JÚNIOR, 2008).

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).

Em outro estudo de NIKOLAKOPOULOS e WATSON (2000), observaram que induzindo em éguas sadias uma deficiência na contratilidade miometrial com clenbuterol, apesar do acúmulo de fluido uterino e da presença marcada de neutrófilos ao exame citológico, 60% das éguas não apresentou crescimento bacteriano 48 horas após a cobertura. Os autores concluíram que, mesmo quando a contratilidade está prejudicada, os demais mecanismos de defesa da égua são capazes de eliminar a infecção bacteriana. A ação destes mecanismos foi bem estudada nas décadas de 80 e 90 (ASBURY, 1984; LIU e CHEUNG, 1986; WATSON, 1988; PYCOCK e ALLEN, 1990; TROEDSSON *et al.*, 1993).

2.3.3 IMUNIDADE CELULAR

Logo após a inseminação ou cobertura e o contato imediato entre o miométrio e os espermatozoides e proteínas do plasma seminal, a primeira resposta iniciada é a resposta da imunidade celular, após uma hora da IA, já é possível encontrar os primeiros leucócitos em éguas resistentes (KATILA, 1995). Essa resposta objetiva a eliminação do excesso de espermatozoides e daqueles defeituosos ou mortos (TROEDSSON *et al.*, 1999).

Durante a inflamação transitória e fisiológica do útero causada pelos espermatozoides, plasma seminal, bactérias e debris, há um aumento da expressão de mediadores quimiotáticos de neutrófilos, como leucotrieno B₄ (LTB₄), prostaglandina E (PGE) e prostaglandina F₂ α (PGF₂ α), tendo como resultado uma rápida migração de células polimorfonucleares (PMNs) para o lúmen uterino (PYCOCK *et al.*, 1990). A migração dessas células ocorre já nos primeiros 30 minutos pós IA e o número de neutrófilos aumenta constantemente até alcançar seu nível máximo em 8 horas pós IA. O maior número de PMNs é encontrado entre 6 e 12 horas após a IA ou inoculação de bactérias (KATILA, 1995).

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).

As principais funções desses mediadores são atrair mais células de defesa para o local da inflamação, facilitar o acesso dessas células e melhorar a eficiência da eliminação do agente agressor. As prostaglandinas atuam induzindo alterações na permeabilidade vascular, as citocinas mantendo a inflamação ativa e as collagenases, elastases e gelatinases favorecendo o aporte de células e iniciando imediatamente o processo de reparação.

A contratilidade miometrial é fortemente conectada dentro do sistema imune e particularmente na liberação de óxido nítrico (NO) por citocinas. Produzido através do estímulo da óxido-nítrico-sintase, o NO é uma molécula de sinalização difundida, cálcio independente, que induz o relaxamento do músculo liso (GRISCAVAGE; WILK; IGNARRO, 1996; LIU *et al.*, 1996).

Os PMNs provenientes de secreções uterinas de éguas susceptíveis tem menor capacidade de migração e fagocitose. Essa deficiência na fagocitose seria resultado da menor concentração de opsoninas da secreção uterina de éguas susceptíveis quando comparadas a éguas resistentes (TROEDSSON *et al.*, 1993). Entretanto, 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).

Enquanto ocorre a migração dos neutrófilos, há também liberação de prostaglandinas, inclusive as PGF₂α, que auxiliam na contração miometrial e na limpeza mecânica do útero (FANTONE, 1994). Durante a fagocitose realizada por estas células, há sua morte programada e conseqüente 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 (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).

2.3.4 IMUNIDADE HUMORAL

KENNEY e KALEEL (1995) detectaram pela primeira vez as imunoglobulinas em lavados uterinos, nesse trabalho isolaram seis classes de imunoglobulinas: IgGa, IgGb, IgGc, IgT, IgA e IgM. Devido a constituição do seu tecido, o endométrio é considerado parte do sistema imune das mucosas, possuindo o potencial de síntese local de imunoglobulinas (WIDDERS, 1985). Estudos realizados por (WAELCHLI e WINDER, 1987), comprovam que há maior concentração de imunoglobulinas nas secreções uterinas do que no plasma de éguas saudáveis. Em estudos utilizando imunohistoquímica do endométrio concluíram que a concentração de imunoglobulinas permanece constante durante todo o ciclo estral.

WAELCHI et al. (1987), ao comparar secreções uterinas de éguas suscetíveis e resistentes, as primeiras tiveram maior concentração de anticorpos nas secreções uterinas, isso mostra que uma deficiência na resposta humoral não contribui significativamente para o aumento da suscetibilidade a endometrite (LYLE, 2011).

2.4 ÉGUAS RESISTENTES X ÉGUAS SUSCETÍVEIS

São consideradas suscetíveis as éguas com histórico de falhas reprodutivas, histórico de episódios anteriores de endometrite e perdas gestacionais (TROEDSSON, 1997). Segundo (ALLEN; PYCOCK, 1988), cerca de 25% das éguas, que estão em um programa comercial de reprodução equina, têm mais de 16 anos, idade onde a fertilidade das fêmeas tem uma redução. Estudos de (ZENT; TROEDSSON; XUE, 1998). estimam que 10-15% das éguas em programas reprodutivos são consideradas suscetíveis ao desenvolvimento da EPPC.

As fêmeas podem ser classificadas como susceptíveis ou resistentes à endometrite persistente pós cobertura (EPPC), de acordo com sua capacidade de eliminar a inflamação/infecção após 48 horas da cobertura (LEBLANC *et al.*, 1994; TROEDSSON *et al.*, 1994). As éguas são consideradas suscetíveis quando apresentam dificuldade na modulação à inflamação, podendo apresentar alterações na conformação vulvar e/ou útero penduloso (SCOGGIN, 2015), essa condição comumente está relacionada a fêmeas idosas (ALLEN; PYCOCK, 1988).

Além disso, as éguas suscetíveis apresentam um maior grau de lesões degenerativas, tanto do endométrio quanto dos vasos sanguíneos e linfáticos, o que pode dificultar a atividade dos hormônios circulantes, alterar o aporte de células à luz do útero e dificultar a drenagem linfática (SCHOON *et al.*, 1997). Porém, o ponto central da suscetibilidade parece ser a menor capacidade de limpeza física uterina destas éguas em relação àquelas classificadas como resistentes. Segundo Troedsson

et al. (1993), essas fêmeas apresentam um atraso de 2 horas na resposta contrátil à presença de espermatozoides e bactérias, quando comparado a éguas sadias, além disso, nessas éguas suscetíveis essa atividade tem menor duração.

Alguns estudos recentes têm demonstrado que a imunomodulação da resposta inflamatória após a cobertura é capaz de melhorar a taxa de gestação de éguas suscetíveis à endometrite, já que há atuação diretamente nos mediadores inflamatórios, impedindo uma resposta exacerbada e persistente. Para isso, foram desenvolvidos tratamentos que parecem modular ou até mesmo suprimir a resposta imune visando reduzir a inflamação uterina pós-cobertura. Há evidências de que o uso criterioso de anti-inflamatórios esteróides ou imunomoduladores pode aumentar os índices de prenhez em éguas com acúmulo de fluido ou inflamação uterina (FUMUSO *et al.*, 2003; DELL'AQUA JR., 2004; BUCCA *et al.*, 2008; PAPA *et al.*, 2008). Segundo TROEDSSON *et al.* (1993), além da produção de citocinas anti-inflamatórias de forma defasada, as éguas suscetíveis também são descritas por apresentarem falha na contratilidade miometrial.

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 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 EPPC (LEBLANC, 1998).

Antes da 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 estudos *in vitro*, foi observado que a direção das contrações das fibras musculares é diferente entre as duas categorias de éguas. Enquanto em éguas sadias a contração ocorre a partir da ponta do corno uterino em direção à cérvix, nas éguas suscetíveis a contração não apresenta padrão rítmico e o útero tende a se contrair em direção à ponta do corno uterino, o que dificulta a eliminação de conteúdo pelo órgão (REITZENSTEIN *et al.*, 2002). Outra característica das éguas suscetíveis é a menor liberação de prostaglandina F_{2α}, após a IA ou à administração de ocitocina exógena, o que ajuda a explicar a menor capacidade contrátil do útero destes animais (NIKOLAKOPOULOS *et al.*, 2000).

O resultado final é um acúmulo de fluido na luz uterina, por vários dias após a cobertura, acompanhado de um quadro inflamatório persistente e, na maioria dos casos, de uma infecção bacteriana (LEBLANC, 2003). Esse acúmulo de fluido dificulta a fagocitose por neutrófilos, devido ao ambiente uterino hostil (TROEDSSON *et al.*, 1993), levando a acúmulo de óxido nítrico (ON) liberado pelos neutrófilos degenerados. Nessas condições o ON atuaria reduzindo a contratilidade da musculatura lisa uterina, gerando assim um ciclo vicioso (ALGHAMDI e TROEDSSON,

2002).

O óxido nítrico (ON) é responsável pela lise de bactérias no interior do neutrófilo (MACKAY, 2000). 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). Ainda não está totalmente esclarecida 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). Essa redução da atividade da musculatura lisa é capaz de interferir na limpeza uterina de éguas suscetíveis à EPPC (ALGHAMDI *et al.*, 2005).

2.5 ENDOMETRITES

A endometrite é considerada uma das mais importantes doenças que acometem o sistema reprodutivo dos equinos, sendo considerada uma das maiores causas de subfertilidade e infertilidade, e a terceira doença mais recorrente em equinos, podendo apresentar-se na forma clínica ou subclínica (THOMASSIAN, 2005). 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). Segundo (WATSON 2000), essas categorias não são absolutas, ou seja, a mesma égua pode mudar de categoria entre uma estação e outra, ou até mesmo durante a mesma estação de monta, assim como pode se ajustar em mais de uma categoria.

2.5.1 ENDOMETRITE PERSISTENTE PÓS-COBERTURA

O sêmen após ser depositado na luz uterina, ultrapassa as barreiras físicas, sendo o espermatozoide, proteínas do plasma seminal e bactérias do pênis e do sêmen do garanhão, responsáveis por indução de uma resposta inflamatória aguda. Em éguas normais, este processo é debelado entre 36 e 48 horas após o contato da célula espermática com o endométrio, entretanto, quando os mecanismos naturais de defesa uterina falham, este processo permanece e a EPPC se instala, tornando o ambiente uterino incompatível com o estabelecimento da gestação (ASBURY, 1986; LEBLANC *et al.*, 1998; LEBLANC, 2003; WATSON, 2000). Após a ovulação, quando a cérvix se encontra fechada, o sistema linfático tem grande importância na drenagem de subprodutos do processo inflamatório, no entanto, para que este mecanismo exerça sua função, é fundamental uma boa contratilidade endometrial (PAIVA JÚNIOR, 2008).

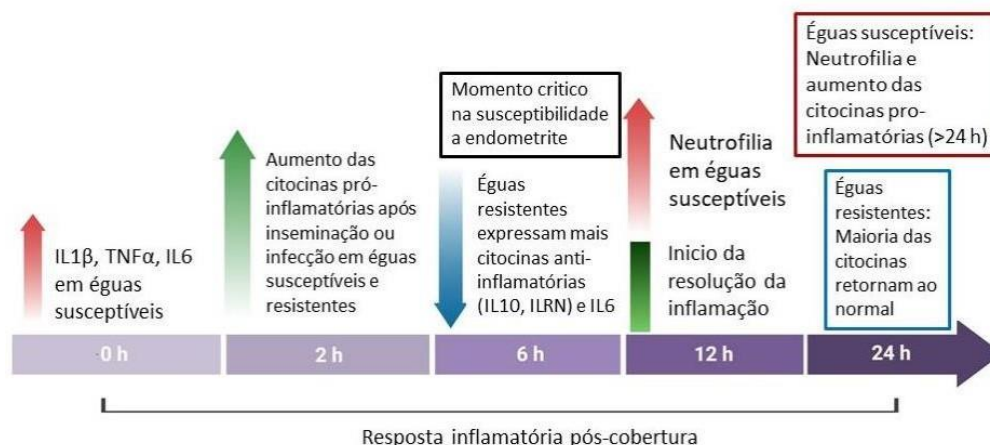


Figura 8- Visão geral da dinâmica de citocina endometriais em éguas resistentes e susceptíveis à endometrite imediatamente após a cobertura (0 horas) à 24 horas pós-cobertura. **Fonte:** Adaptado de Canisso, Segabinazzi & Fedorka, 2020).

Éguas susceptíveis à EPPC são propensas ao desenvolvimento de infecções crônicas, e, algumas destas infecções ocorrem em decorrência da capacidade das bactérias e dos fungos produzirem biofilme (RYAN, 2014; BEEHAN *et al.*, 2015; FERRIS, 2017). Biofilme é um agregado complexo de microrganismos e suas secreções (matriz extracelular de substâncias poliméricas) (STOODLEY *et al.*, 2002), o qual confere a habilidade dos microrganismos evadirem o sistema imune (JENSEN *et al.*, 1990; MUSTOE, 2004; SHAH *et al.*, 2006; THURLOW *et al.*, 2011). O biofilme funciona como uma barreira para a difusão dos antimicrobianos, com sua penetração limitada, resulta em uma resistência à terapia antimicrobiana, particularidade quando comparada à infecção por bactérias planctônicas (bactérias sem biofilme) (BROWN; ALLISON; GILBERT, 1988; ANWAR; STRAP; COSTERTON, 1992; MAH; O'TOOLE, 2001).

Logo após a introdução do sêmen no lúmen uterino, ocorre a síntese de prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}) (NASH *et al.*, 2010), que é um importante metabólito no transporte dos espermatozoides até a tuba uterina, para depois acontecer a limpeza uterina, através da cérvix (TROEDSSON, 1997; TROEDSSON *et al.*, 1998; TROEDSSON *et al.*, 2001). Entretanto, em éguas susceptíveis, essa limpeza é falha, devido a deficiência desses mecanismos naturais, ocasionando acúmulo de líquido no interior do útero, instalando-se assim o quadro de EPPC (LEBLANC, 2003) e promovendo um ambiente desfavorável ao desenvolvimento embrionário (Card, 2005). Além disso, essa inflamação persistente pode levar a luteólise prematura, já que o endométrio lesado induz a produção de PGF_{2α}, levando a consequente perda embrionária (ENGLAND, 2005).

Um dos fatores relacionados a instalação da EPPC é a idade avançada das éguas, já que estas comumente são animais múltiparos, que já passaram por diversas manipulações durante procedimentos de reprodução assistida, além de apresentar diversas alterações anatômicas, como conformação perineal alterada, relaxamento dos ligamentos uterino, alterações cervicais e deficiência da contratilidade miométrial (LEBLANC, 2003; CARD, 2005). Outro fator que pode predispor a EPPC independente da idade da fêmea é a incompetência cervical. Mesmo éguas virgens com idade

avançada podem apresentar EPPC, que é caracterizada como “síndrome da égua velha virgem” (PYCOCK, 2000), e pode ocorrer também em éguas virgens e jovens que apresentam fechamento cervical precoce (MALSCHITZKY *et al.*, 2006) dificultando dessa forma a limpeza uterina. No entanto este quadro tende a se normalizar após o primeiro parto (PYCOCK, 2000).

Espermatozoides são capazes de induzir quimiotaxia de neutrófilos através da ativação do complemento, sendo a atividade identificada no útero da égua (Camozzato, 2010). Quando se inicia o processo inflamatório, mediadores pró-inflamatórios são liberados pelos neutrófilos para realizarem fagocitose, através das células do endotélio vascular, células endometriais lesadas e macrófagos ativados por ocasião da inflamação. Esses mediadores tem a função de atrair mais células de defesa para o local de inflamação, facilitando o acesso das células em melhorar a eficiência na eliminação do agente agressor (MCKAY, 2000). O acúmulo de neutrófilos no útero resulta na liberação de prostaglandina, a qual causa as contrações miometriais necessárias para limpeza uterina através da cérvix ou vasos linfáticos (TROEDSSON, 1999).

As prostaglandinas atuam induzindo alterações na permeabilidade dos vasos, as citocinas mantendo a inflamação ativa e as colagenases, elastases e gelatinases, favorecendo o aporte de células e iniciando o processo de reparação. Para evitar a ação de anticorpos, ou a resposta imune celular contra os espermatozoides no trato reprodutivo da fêmea, componentes do sistema imunológico, sem memória específica, precisam atuar na limpeza uterina do excesso de sêmen e contaminantes introduzidos no útero no momento da cobertura (MCKAY, 2000).

2.5.2 ENDOMETRITE INFECCIOSA CRÔNICA

Alguns fatores tornam a égua predisposta à infecção uterina, dentre esses: período de estro prolongado, fragilidade da cérvix como barreira protetora a invasão bacteriana e a ejaculação intrauterina durante o coito (MATTOS, 2003). Normalmente a infecção uterina provém da flora retal e genital oportunistas. Encontra-se uma variedade de bactérias na égua com endometrite, sendo as mais comuns *Streptococcus equi* variedade *zoepidermicus*, *E. coli*, *Pseudomonas*, *Klebsiella* e espécies de *Staphylococcus* (PAIVA JÚNIOR, 2008). As mais comuns são as infecções inespecíficas, comumente causadas pelo *Streptococcus zoepidermicus*, *Streptococcus equisimillis*, *Streptococcus aureus* e algumas espécies de *Corinebacterium*, além de *Cândida* spp. e *Aspergillus* spp. (THOMASSIAN, 2005).

Algumas leveduras também podem se instalar no útero de éguas, especialmente a *Candida*, essas infecções normalmente são em virtude de resistência reduzida ou como resultado de uso prolongado de antibióticos (CAMOZZATO, 2010). Estudos realizados por (CANISSO, SEGABINAZZI & FEDORKA, 2020), sugerem que os

principais microorganismos isolados em endometrites infecciosas em éguas, estão descritos na **Figura 7**. Éguas que apresentam deficiência nos mecanismos de defesa menor capacidade para remover fluido e microorganismos do seu útero, podem fornecer ambiente favorável para proliferação de fungos oportunistas e causar endometrite (Katila, 1996).

Tabela 1. Bactérias e fungos comumente isolados do útero de éguas com endometrite infecciosa. G+: Gram-positiva; G-: Gram-negativa.

	Microrganismo	Superfamília	Características
Bactéria	<i>Streptococcus zooepidemicus</i>	Lactobacillales	G+, agente oportunista com potencial venéreo
	<i>Escherichia coli</i>	Enterobacterales	G-, oportunista, anaeróbico facultativo
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Pseudomonadales	G +, potencial venéreo, aeróbico
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Enterobacterales	G-, agente oportunista, anaeróbico facultativo, potencial venéreo
	<i>Staphylococcus spp</i>	Bacillales	G+, oportunista, anaeróbico facultativo
	<i>Taylorella equigenitalis</i>	Burkholderiales	G-, venéreo, microaerofílico, causa endometrite severa e purulenta
	<i>Enterobacter cloacae</i>	Enterobacterales	G-, oportunista, anaeróbico facultativo
	<i>Proteus spp</i>	Enterobacterales	G-, oportunista, anaeróbico
Fungo	<i>Candida spp.</i>	Saccharomycetales	Levedura, 58–69% das endometrites fúngicas
	<i>Aspergillus spp.</i>	Eurotiales	Hifa septada, 25–26% das endometrites fúngicas
	<i>Mucor spp.</i>	Mucorales	Hifas asseptadas, 5–12% das endometrites fúngicas

Adaptado de Canisso, Segabinazzi & Fedorka (2020).

Figura 9- Bactérias e fungos comumente isolados do útero de éguas com endometrite infecciosa, G: Gram-positiva; G-: Gram-negativa. **Fonte:** Adaptado de Canisso, Segabinazzi & Fedorka, 2020.

2.5.3 ENDOMETRITE CRÔNICA DEGENERATIVA (ECD) OU ENDOMETROSE

A endometrose 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). Sendo 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). Estudos de (WOODWARD *et al.*, 2012) sugerem que a retenção de fluido intrauterino está diretamente relacionada com as severas alterações histopatológicas, combinando a endometriose a incapacidade de limpeza mecânica do útero.

O primeiro sinal da endometrose 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).

2.5.4 ENDOMETRITE SEXUALMENTE TRANSMÍSSIVEL

A endometrite contagiosa equina é uma doença sexualmente transmissível, causada pela bactéria *Taylorella equigenitalis* (BRITO; BARTH, 2003), também pode acontecer por algumas cepas de *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*. É transmitido principalmente através do coito, menos comumente pode ocorrer através de IA ou vetores mecânicos. Os garanhões são assintomáticos, e a bactéria se aloja no pênis e no esmegma do prepúcio, por meses ou anos. A égua, quando contaminada, apresenta a bactéria no clitóris, e apresentam sintomas após 10-14 dias da cobertura. Essas podem apresentar: endometrite leve, secreção mucopurulenta severa e em alguns casos infertilidade temporária, podendo acarretar em aborto. Além de apresentar sintomatologia clínica, a égua também pode ser assintomática, apresentando apenas retorno ao estro, após um estro mais curto. Os potros podem se contaminar ao nascimento e serem portadores assintomáticos por longos períodos (MOREIRA, 2011).

2.6 DIAGNÓSTICO

É importante o reconhecimento da égua suscetível, principalmente para a realização do melhor tratamento e assim, a obtenção da prenhez. Entretanto, esse diagnóstico ainda é um problema, tanto para a pesquisa quanto na rotina clínica, pois não há, uma classificação definitiva (TROEDSSON *et al.*, 1993). Esse acompanhamento geralmente é feito através de citologia, bacteriologia e histologia do endométrio, em alguns casos, utiliza-se a eletromiografia e a cintilografia para observação da atividade contrátil do útero (TROEDSSON, 1997).

Na rotina, éguas que apresentam fluido uterino 48-96 horas após a cobertura, pode ser considerado como um parâmetro diagnóstico para EPPC. Clinicamente, quando esse fluido ultrapassa dois centímetros, é o melhor indicativo de suscetibilidade. Essas éguas que apresentam acúmulo nesse momento, apresentam maior taxa de morte embrionária e menor taxa de prenhez (NEWCOMBE, 1997). Embora, o diagnóstico neste momento fosse definitivo, pode resultar em menor tempo, maior custo e em menor sucesso na realização de tratamentos pós-cobertura (MALSCHITZKY *et al.*, 2002). Normalmente, este líquido presente não é de origem inflamatória, ele indica que a égua possui deficiência na capacidade de limpeza física, dentre todos os parâmetros, este é o que mais apresentou concordância com a EPPC (PYCOCK *et al.*, 1997; BRINSKO *et al.*, 2003).

Éguas suscetíveis a EPPC normalmente apresentam um histórico de acúmulo de fluido intrauterino antes e após a cobertura, perdas embrionárias recorrentes, retorno precoce ao estro, falhas em ficar prenha mesmo após um bom manejo reprodutivo e presença de descargas vulvares. Esse diagnóstico envolve uma abordagem multimodal, podendo-se empregar várias ferramentas, dentre essas: histórico clínico detalhado, ultrassonografia, cultura uterina, citologia e biópsia (NIELSEN, 2005).

A cultura bacteriana do endométrio deve ser realizada antes de qualquer procedimento uterino ou vaginal, para que assim sejam identificados os potenciais contaminantes. Essa amostra pode ser coletada através de swab com ponta de algodão, lavado de baixo volume e biópsia. A biópsia, além de servir como diagnóstico de endometrite, pode ser utilizada para prognosticar a capacidade da égua levar o potro a termo (BAIN, 1966; BALL *et al.*, 1988; NIELSEN, 2005; NIELSEN *et al.*, 2010; MØLLER NIELSEN *et al.*, 2012).

A citologia endometrial é utilizada para se conhecer a respeito do tipo e proporção de células inflamatórias em relação às células epiteliais endometriais presentes no útero. Também pode ser detectado a presença de colônias bacterianas, hifas, fungos e cristais de urina (FERRIS; BOHN; MCCUE, 2015). As amostras de citologia endometrial podem ser obtidas através de um swab com ponta de algodão simples ou dupla, escova citológica ou lavado uterino de baixo volume (COCCHIA *et al.*, 2012; BOHN; FERRIS; MCCUE, 2014; FERRIS; BOHN; MCCUE, 2015). A escova citológica e o lavado uterino de baixo volume permitem uma melhor coleta de amostras para o diagnóstico quando comparados ao swab com ponta de algodão (COCCHIA *et al.*, 2012; WALTER *et al.*, 2012). Além disso, as lâminas obtidas com escova citológica apresentam mais células (endometriais e PMNs) quando comparadas às realizadas com swab contendo ponta de algodão (WALTER *et al.*, 2012).

2.7 TRATAMENTOS

A endometrite, tradicionalmente, vêm sendo tratada com lavagens uterinas, agentes ecbólicos, anti-inflamatórios e antimicrobianos (CANISSO; STEWART; COUTINHO DA SILVA, 2016). O tratamento empregado nos processos inflamatórios do útero das éguas depende de alguns fatores: idade, natureza e extensão do processo, agente etiológico e comprometimento degenerativo do endométrio (MALSCHITZKY, E. *et al.*, 2007).

Devido à falta de respostas às terapias tradicionais e ao aumento da prevalência de resistência microbiana dos patógenos, novas terapias alternativas foram desenvolvidas, para tratar éguas com endometrite crônica (SCOGGIN, 2016). Particularmente, em éguas reprodutoras em envelhecimento e éguas doadoras em programas de transferência de embriões, que muitas vezes são profilaticamente infundidas com antibióticos de amplo espectro, independente da necessidade, favorecendo assim a resistência microbiana (CANISSO ; SEGABINAZZI ; FEDORKA, 2020).

O sucesso de um tratamento e o prognóstico reprodutivo do animal estão associados à intensidade do comprometimento que pode ser avaliado histologicamente, para isso é necessário um correto diagnóstico. Os tratamentos da endometrite visam corrigir defeitos anatômicos, reduzir a resposta inflamatória e reduzir as contaminações do útero (ASBURY AC., 1986). Alguns estudos relatam que, em casos onde há o acúmulo de fluido intrauterino é necessária uma lavagem com solução fisiológica aquecida a 48 graus Celsius, de forma que exerça uma limpeza

mecânica e estimule a contração miometrial, sendo cessada apenas quando a solução retornar limpa e translúcida (RIET-CORREA, et al., 2001; MATTOS, et al., 2003).

Estudos apontam que a lavagem uterina realizada 6-12 horas após a cobertura resultaram em melhores taxas de prenhez em éguas com histórico de EPPC em vários ciclos consecutivos (KNUTTI, et al., 2000),. TAKAKURA (2020), relata que exercícios físicos promovem a melhoras na circulação sanguínea e linfática do trato reprodutivo, além disso, fortalece a musculatura e melhora a conformação perineal, favorecendo as barreiras físicas. Outros estudos realizados indicam que a suplementação na dieta com ômega 3, melhora a produção de citocinas e reduz a resposta inflamatória após a inseminação (BRENDMUEHL et al., 2014, TAKAKURA, 2020).

2.7.1 LAVAGEM UTERINA

As lavagens uterinas são recomendadas em éguas com excessivo acúmulo de líquido intrauterino (> 2 cm de profundidade) e alta ecogenicidade ultrassonográfica (Brinsko et al., 2003). Soluções cristalóides como solução de Ringer Lactato (LRS) e solução salina 0,9% são as mais comumente utilizadas nas lavagens uterina em éguas (VANDERWALL; WOODS, 2003). Estudos têm demonstrado que algumas bactérias como *Escherichia coli*, pode utilizar o lactato (presente no LRS) (HUA et al., 2007) e o gluconato (presente na Plasmalyte, uma solução cristalóide pouco utilizada em lavagens uterinas) como substrato para o seu crescimento (EISENBERG; DOBROGOSZ, 1967).

Vários estudos demonstram os benefícios da lavagem uterina com solução salina, associada a outros tratamentos ou não (TROEDSSON et al., 1995; MATTOS et al., 1997). Knutti et al. (2010) relatou que a combinação da lavagem uterina com uso de ocitocina exógena é eficaz para limpar grandes quantidades de líquido intraluminal.

As lavagens uterinas auxiliam fisicamente na remoção dos microrganismos, debris, células e mediadores infamatórios e células espermáticas mortas do lúmen uterino (BRINSKO et al., 2003; VANDERWALL; WOODS, 2003; KNUTTI et al., 2010). Elas podem ser realizadas a qualquer momento antes da cobertura, ou após 4 horas da cobertura, sendo esse o tempo mínimo necessário para os espermatozoides chegarem à tuba uterina, sem interferência na fertilidade (BRINSKO et al., 1990; BRINSKO; VARNER; BLANCHARD, 1991; FIALA et al., 2007).

2.7.2 ANTIBIÓTICOS E ANTIFÚNGICOS

Alguns antimicrobianos são necessários para o tratamento de endometrite infecciosa em éguas, entretanto, existem situações onde esses medicamentos são utilizados sem uma indicação médica clara, por exemplo, aplicado uma vez, intrauterino após a cobertura (ZENT; TROEDSSON; XUE, 1998). Entretanto, existem estudos que indicam o uso de antimicrobianos apenas quando já se conhece o agente que está causando a infecção. Porém, deve-se levar em consideração que o uso excessivo e indiscriminado pode levar a uma infecção fúngica do útero (TROEDSSON, 2008). Além disso, o uso indiscriminado de antimicrobianos leva a rápida resistência antimicrobiana (SEGABINAZZI, 2021).

Os resultados quanto ao uso de antibióticos intrauterino são controversos, pois,

muitas vezes sua efetividade pode estar relacionada a diagnósticos falsos negativos pelo método de swab após o tratamento, porque, muitas vezes a infecção é focal e fora do alcance do swab (PYCOCK, 1994). O tratamento depende do organismo que está causando a infecção, há quanto tempo essa infecção existe, e se o organismo produz biofilme ou não. Quando confirmada a presença de biofilme, o tratamento realizado deve ser voltado para sua remoção, sendo a administração do antibiótico através de infusão local de antibióticos ou administração sistêmica (LEBLANC, 2008).

Dessa forma, é importante a identificação apropriada do microorganismo, assim como o antibiograma, para que assim seja instituída o tratamento de endometrite e a prevenção da resistência antimicrobiana. Vale-se ressaltar que nem todos os antimicrobianos sistêmicos podem ser administrados no útero sem sofrerem alguns ajustes. Por exemplo, as fluoroquinolonas como a enrofloxacina, o veículo utilizado na enrofloxacina não pode ser utilizado no útero pois pode causar necrose endometrial (RODRIGUEZ *et al.*, 2012). Entretanto, pode-se preparar um veículo diferente e que pode ser seguramente administrado no útero (SCHNOBRICH *et al.*, 2015). Além disso, aminoglicosídeos, como a gentamicina e ampicilina, necessitam da adição de bicarbonato de sódio para contrabalancear seu pH ácido (LEBLANC, 2009; CANISSO; STEWART; COUTINHO DA SILVA, 2016). A infusão de antimicrobianos incompatíveis no útero pode precipitar e deixar resíduos no útero, que podem ocasionar distúrbios entre as interações embrião-endométrio (SEBAGINAZZI, 2021).

Quanto ao tratamento de endometrites fúngicas, ainda existe uma falta de estudos em como pode-se controlar esse tipo de endometrite em éguas, a respeito da farmacocinética e farmacodinâmica destas drogas no trato reprodutivo (SEGABINAZZI, 2021). Inicialmente, o tratamento deve ser baseado nas correções dos fatores predisponentes, por exemplo: conformação perineal defeituosa, imunossupressão, infusões intrauterinas descontínuas com antibióticos em combinação com lavagens uterinas e agentes ecbólicos. A eliminação dos fatores predisponentes da endometrite pode, algumas vezes, reestabelecer a fertilidade das éguas (STOUT, 2008; DASCANIO; SCHWEIZER; LEY, 2010). Quando necessário, três tipos de agentes antifúngicos podem ser utilizados: polienos, imidazóis e triazóis (STOUT, 2008; BELTAIRE; CHEONG; COUTINHO DA SILVA, 2012). Estudos de (LEBLANC 2008), sugerem o uso em infusão intrauterina de nistatina ou cetoconazol.

2.7.3 DROGAS ECBÓLICAS

Agentes ecbólicos são uma classe farmacológica de drogas utilizadas para estimular as contrações uterinas e assim, eliminar o fluido acumulado no útero através da cérvix e drenagem linfática (ALLEN, 1991; CADARIO; THATCHER; LEBLANC, 28 1995; RASCH *et al.*, 1996). Estudos realizados por (PYCOCK 1994), sugerem que a lavagem uterina quando associada ao uso de drogas ecbólicas, promovem um aumento na taxa de prenhez em éguas suscetíveis. A ocitocina é o ecbólico mais utilizado, sendo tipicamente administrada em qualquer momento antes da cobertura (exceto 1 hora após a cobertura ou inseminação) e entre 4 e 72 horas após a ovulação.

Acredita-se que o transporte do espermatozoide à tuba uterina é completado 4 horas após a cobertura/inseminação artificial, assim, este é o tempo mínimo de intervalo necessário para que as fêmeas possam receber agentes ecbólicos ou uma

lavagem uterina sem que comprometa os índices de prenhez (BRINSKO; VARNER; BLANCHARD, 1991). A ocitocina provoca uma contratilidade miometrial de alta amplitude por cerca de 30 minutos, já o cloprostenol (análogo de prostaglandina PGF2 α), tem duração mais longa, porém com uma limpeza uterina menos eficaz (COMBS, 1996).

2.7.4 ANTI-INFLAMATÓRIOS

Em casos de EPPC o tratamento com anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) ainda é controverso. Os AINEs atuam na inibição de prostaglandina-endoperoxidase sintase (1 e 2) e na cascata do ácido aracônico como efeito primário. Isso tende a diminuir a produção de PGF2 α , e assim, diminuir a atividade miometrial, dificultando a limpeza uterina (SEGABINAZZI, 2021).

Em estudos realizados por LEBLANC, 1997; REILAS *et al.* (2006), utilizaram a fenilbutazona e o flunixin meglumine (AINEs não seletivos COX-2), e observaram uma diminuição da limpeza uterina e aumento das reações inflamatórias em éguas que receberam tratamento. Outros estudos realizados por ARMSTRONG (1981) e CUERVO-ARANGO (2011), afirmaram que, a administração de altas doses (x2 dose recomendada) e continuada de AINEs em éguas em estado pré-ovulatório, aumentaram os índices de folículos anovulatórios hemorrágicos. Porém, ao utilizar as doses recomendadas dos AINEs, não observou-se interferências na ovulação (DONNELLY *et al.*, 2019). Além disso, a combinação de AINEs com ocitocina tem sido eficiente na limpeza uterina (CADARIO; THATCHER; LEBLANC, 1995), causando uma diminuição da infiltração de PMNs, e diminuindo a expressão de COX-2 endometrial em éguas suscetíveis (AURICH; ROJER; WALTER, 2010).

O uso de AINEs seletivos para COX-2 vêm se tornando uma nova alternativa, esses não agem na via da cicloxigenase-1 (COX-1) (COOK; BLIKSLAGER, 2015). Em estudos de (FRISO *et al.*, 2019), o firocoxib, por exemplo, AINE seletivo para COX-2, vêm sendo descrito como responsável por reduzir a resposta inflamatória pós-cobertura em éguas, reduzindo a COX-2 no endométrio de éguas tratadas durante o período pré-ovulatório, sem afetar a ovulação. Além do firocoxib, o vedaprofeno, que também é inibidor da COX-2, afeta positivamente a fertilidade de éguas com EPPC, porém, sem afetar o acúmulo de fluido uterino e o escore inflamatório do endométrio (ROJER; AURICH, 2010).

Outra alternativa são os glicocorticoides, que também são utilizados para modular a resposta inflamatória pós-cobertura em éguas. A utilização de múltiplas doses de prednisolona antes da ovulação em éguas inseminadas com sêmen congelado aumentou as taxas de fertilidade (DELL'AQUA JR *et al.*, 2006; PAPA *et al.*, 2007). Estudos posteriores mostraram que a administração de dexametasona antes da cobertura reduz a inflamação endometrial e aumenta os índices gestacionais em éguas subfêrteis com predisposição da EPPC (BUCCA *et al.*, 2008).

2.7.5 OZONIOTERAPIA

Dentre as terapias alternativas utilizadas para o tratamento de endometrites, uma que ganha cada vez mais destaque é o Ozônio (O₃). Ele age principalmente estimulando os linfócitos e monócitos, e assim, auxilia na liberação de citocinas que ajudam na regeneração tecidual e dão início ao processo de granulação e formação do tecido epitelial. Além disso, o O₃ age rompendo a membrana celular dos microorganismos (DURRANI, 2017). O tratamento intrauterino com O₃ proporciona um ambiente mais favorável para inseminação e fertilização, pois age na redução dos efeitos espermicidas como também da inflamação decorrente da endometrite (CAMPOS, 2018). Diversos são os efeitos da ozonioterapia: oxigenação tecidual, antioxidante, imunomodulador, regenerador, analgésico e anti-inflamatório. Também atua como germicida, pois causa um processo oxidativo dos peróxidos presentes na microbiota que são destruídas pelo ozônio (DURRANI, 2017).

2.7.6 CÉLULAS TRONCO

As células tronco mesenquimais (MSCs) vêm ganhando cada vez mais destaque na medicina humana e veterinária, sendo utilizado na modulação de processos inflamatórios (TIMMERS *et al.*, 2011; BARRACHINA *et al.*, 2016). Além da capacidade de imunomodulação, também promovem regeneração tecidual e previnem a formação de cicatrizes (BORJESSON, 2011). Estas células podem ser encontradas em diversos tecidos e têm alta plasticidade, ou seja, habilidade de diferenciação tecidual com fenótipo não relacionado ao seu tecido de origem (BIANCO, 2001). Tendo a capacidade de se diferenciarem nos mioblastos esqueléticos, parênquima renal, epitélio hepático, epitélio da pele e intestino, além de células neuroectodermas (GROVE; BRUSCIA; KRAUSE, 2004), e células endometriais (DU; TAYLOR, 2007).

As células tronco representam uma ferramenta promissora para novos conceitos clínicos no suporte da terapia celular. 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). Elas podem também sinalizar células residuais para suas propriedades anti-apoptóticas, quimiotáticas e imunomoduladoras podendo ser coletadas de diferentes tecidos e com diferentes potenciais. Injeções (ALVARENGA *et al.*, 2016) ou infusões (MAMBELLI *et al.*, 2014) de MSCs têm sido descritas como possíveis alternativas para o tratamento de fibrose endometrial.

2.7.7 PLASMA RICO EM PLAQUETAS (PRP)

O plasma rico em plaquetas (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). Há evidências que o uso criterioso de anti-inflamatórios esteróides ou imunomodulares podem aumentar a taxas de prenhez em éguas com acúmulo de fluido uterino ou inflamação uterina. O PRP é o plasma com

uma concentração elevada de plaquetas (3-9 vezes) que se tornou uma popular terapia alternativa na medicina humana e veterinária (CARMONA *et al.*, 2007; ARGÜELLES *et al.*, 2008; GEORG *et al.*, 2010; PEREIRA *et al.*, 2019).

Diversas técnicas podem ser utilizadas para a obtenção do PRP, entretanto, na medicina veterinária o método mais utilizado é a centrifugação, por ser fácil e de baixo custo. Através desse processo é possível obter uma concentração elevada de plaquetas. Para esta técnica, o sangue autólogo deve ser coletado em tubos contendo o anticoagulante citrato de sódio e pode ser centrifugado utilizando técnicas de uma ou duas centrifugações as quais já demonstraram bons resultados. Após a centrifugação do sangue autólogo, se observa que este é separado em três camadas distintas: a inferior é formada por eritrócitos, a do meio por leucócitos formando a chamada “capa leucocitária” e a camada superior, o plasma onde se encontram as plaquetas, assim como mostra a **(Figura 10)**. Durante o procedimento de separação do PRP, é importante evitar a fragmentação e ativação plaquetária, pois estes eventos liberam precocemente os FC, comprometendo a atividade biológica do PRP (SEGABINAZZI, 2016).

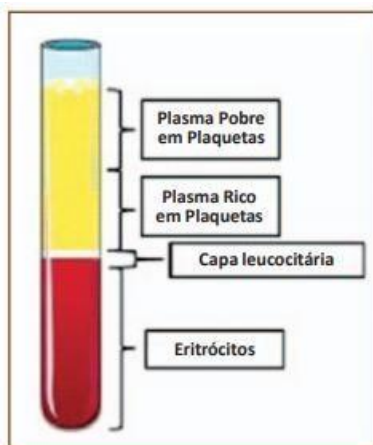


Figura 10- Separação das camadas após a centrifugação do sangue para produção de PRP. **Fonte:** Segabinazzi, 2016.

Outra técnica para obtenção do PRP foi estudada por SEGABINAZZI *et al.* (2016), essa nova técnica baseada em sedimentação, tornando-se um procedimento de baixo custo fácil aplicação a campo para ser utilizada como infusão uterina, não havendo a necessidade de centrifugação para eliminar por completo hemácias e células brancas. Neste estudo, foi comparado a concentração final de plaquetas em diferentes formas de PRP, onde foram definidos seis grupos: três grupos foram submetidos a centrifugação e os outros três grupos, submetidos ao processo de sedimentação. A contagem das plaquetas e neutrófilos foi realizada pelo método manual em câmara de Neubauer e os resultados submetidos a análise de variância. Através desse estudo, obteve-se que, as concentrações de neutrófilos foram menores em todos os grupos centrifugados, quando comparados aos grupos que foi realizado apenas a sedimentação. A partir desses resultados é possível observar que é possível a obtenção de PRP com concentrações adequadas de plaquetas, através do método de sedimentação, para o tratamento de desordens uterinas.

Atualmente, o tratamento com PRP está sendo usado com frequência na medicina veterinária equina, em várias condições, incluindo: cirurgia ortopédica, regeneração de músculos, tendões, ligamentos e até mesmo úlceras de pele (PRADES, *et al.*, 2006). Estudos realizados por (ASBURY em 1984), sugerem que o tratamento com plasma sanguíneo reduziu significativamente a resposta inflamatória de éguas com endometrite. O PRP é composto de todos os elementos presentes no plasma sanguíneo, com uma alta concentração plaquetária. Em estudos mais recentes, a infusão uterina com PRP proporcionou uma redução a resposta inflamatória pós-cobertura e assim, aumentou os índices gestacionais das éguas (SEGABINAZZI *et al.*, 2017). Além disso, a combinação de plasma autólogo à terapia antimicrobiana foi reportada por melhorar as taxas de prenhez em éguas lactantes e inférteis (PASCOE, 1995).

O mecanismo biológico do PRP na resposta inflamatória ainda não está bem elucidado. Contudo, alguns estudos (WOODELL-MAY *et al.*, 2011; WU *et al.*, 2011; KIM *et al.*, 2014; SUNDMAN *et al.*, 2014) têm demonstrado uma ação anti-inflamatória do PRP devido sua habilidade em suprimir a expressão de COX-2, metaloproteinase-3 (MMP-3), TNF α , IL1 e moléculas de adesão vascular (MAZZOCCA *et al.*, 2013). Além disso, os grânulos plaquetários contém peptídeos antimicrobianos (RANTES, fator plaquetário 4 e timosina beta-4, e estes peptídeos podem contribuir para a atividade bactericida conhecida do PRP contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, e *Klebsiella pneumoniae* (TROWBRIDGE *et al.*, 2005; BIELECKI *et al.*, 2007; MOOJEN *et al.*, 2008;). Todas estas bactérias são conhecidas por causarem endometrite em éguas (CANISSO; STEWART; COUTINHO DA SILVA, 2016; CANISSO; SEGABINAZZI; FEDORKA, 2020). O PRP contém muitos fatores de crescimento importantes no equilíbrio dos tecidos, devido a sua ação mitogênica, quimiotática, efeitos neovasculares e anti-inflamatórios (GONSHOR, 2002; KIM, *et al.*, 2014).

Estudos de (SHARKAWY *et al.*, 2007), sugerem que o tratamento com PRP aumenta os fatores de crescimento, o fator de transformação β (TGF- β), fator de crescimento semelhante à insulina I (IGF-I), fator de crescimento de fibroblastos (FGF), fator de crescimento epidérmico (EGF), fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) na área lesada e aumento local nas moléculas de lipídios (lipoxina A4). Além disso, altos níveis de quimiocinas foram secretados por macrófagos e células endoteliais. As quimiocinas alteram o gradiente quimiotático para inibir a migração de leucócitos da circulação para o tecido (ALAM, *et al.* 1992).

Vale-se ressaltar que o PRP atua aumentando os níveis de Lipoxinas A4 (LPX4) e RANTES (reguladores da ativação de células T expressadas e secretadas) (EI-SHARKAWY *et al.*, 2007). Essas moléculas são lipídicas oriundas do ácido hialurônico e atuam na modulação da reação inflamatória, diminuindo a quimiotração de neutrófilos (BANNENBERG *et al.*, 2005), já os RANTES, é uma quimiocina expressa principalmente em células T, mas que também é sintetizada nos α -grânulos plaquetários (HOLME *et al.*, 1998) e pode ter um efeito benéfico no controle da inflamação, pois inibem a liberação de histamina pelos basófilos (ALAM *et al.*, 1992), o que conduz a redução do processo inflamatório e reparação tecidual (EL-SHARKAWY *et al.*, 2007).

O plasma contém o sistema complemento, elemento essencial para o sistema imunológico, agindo nos mecanismos de defesa humoral contra agentes infecciosos, lise de células bacterianas e leucócitos, tendo o recrutamento associado à ativação da cascata do complemento e, aparentemente, os componentes do plasma (fatores do complemento) desempenham um papel importante para o agente antimicrobiano atividade de concentrados de plaquetas (DRAGO *et al.*, 2014).

Para o tratamento de endometrite em éguas, um estudo determinou que a administração de PRP no momento da cobertura diminuía a resposta inflamatória uterina em éguas com endometrite crônica, apesar de não ter afetado a produção de ON (REGHINI *et al.*, 2016). Este concorda com outro estudo que reportou que o PRP diminuiu a expressão endometrial de COX-2, diminuindo o número de PMN no lúmen uterino e aumenta os índices gestacionais (SEGABINAZZI *et al.*, 2017). Também foi demonstrado por agir como um tratamento anti-inflamatório em éguas suscetíveis, levando a diminuição endometrial da expressão de IL1 β , IL6, e CXCL8 (METCALF; SCOGGIN; TROEDSSON, 2012; METCALF, 2014; REGHINI *et al.*, 2016; SEGABINAZZI *et al.*, 2017).

A infusão intrauterina com PRP foi responsável por reduzir a resposta inflamatória pós-cobertura e aumentar os índices gestacionais de éguas (METCALF; SCOGGIN; TROEDSSON, 2012; METCALF, 2014; REGHINI *et al.*, 2016; SEGABINAZZI *et al.*, 2017; PASCH; SCHMIDT; KING, 2020). Além disso, outros componentes do sangue atuam junto ao PRP, como os leucócitos e células brancas, que vão promover uma resistência natural aos processos infecciosos e alérgicos, pois esses atuam diretamente na defesa do organismo contra agentes estranhos (GARCIA, *et al.* 2005). Esse concentrado tem como objetivo atenuar ou em alguns casos, interromper um processo inflamatório e promover a recuperação do endométrio lesado, através de sua atividade mitogênica e neovascular (MONTEIRO *et al.*, 2019).

3. DESCRIÇÃO DO CASO

Para realização desse estudo foi utilizada uma égua da raça Brasileiro de Hipismo (BH), com 9 anos de idade, 600 kgs, levada à Central Monte Verde para ser submetida ao programa de TE, com sêmen congelado, no ano de 2021.

Durante levantamento do histórico reprodutivo do animal foi relatado um episódio de aborto, sem causa evidente, no ano de 2017, no 7^o mês de gestação. Desde então, foram adotados procedimentos reprodutivos na tentativa de nova prenhez, porém, todos sem sucesso.

Na Central, a égua foi submetida à avaliação ginecológica, não sendo encontrado nenhum sinal de anormalidade foi encaminhada ao programa de Transferência de Embriões. Após alguns dias, o animal apresentou cio, com detecção de folículo de 38 mm e edema uterino grau IV, sendo então induzida à ovulação com aplicação intramuscular (IM) 3 ml de deslorelina (análogo de GnRH).

No dia seguinte após a indução, o folículo estava com 41 mm e o edema uterino permaneceu o mesmo. Cerca de 36 horas após a indução da ovulação, o edema uterino estava grau III, a égua apresentava um pouco de fluido uterino com

características anecóicas, sendo acompanhada por Ultrassom, onde foi observado o momento exato da ovulação. Nesse momento a égua foi inseminada com duas palhetas de sêmen congelado do garanhão A. Nove dias após a ovulação (D9), foi realizada a lavagem uterina para a coleta do embrião, sendo essa negativa. Após a lavagem foi aplicado por via IM 2 ml de PGF2 α .

Após 21 dias a égua apresentava um folículo pré-ovulatório de 57 mm, dessa forma foi decidido não realizar a inseminação com sêmen congelado, nesse ciclo. Pois, além de ser um sêmen de difícil aquisição e alto custo, o oócito liberado por esse folículo pré-ovulatório seria de baixa qualidade, dessa forma, decidiu-se esperar o próximo ciclo. Sendo esse iniciado 15 dias após, onde foi realizada a indução da ovulação com o mesmo protocolo, e nesse momento a égua apresentava dois folículos, um de 37 mm e outro de 36 mm, no ovário direito e esquerdo, respectivamente, e edema uterino IV. Cerca de 36 horas após a indução a égua estava pronta para a IA, e apresentava um pouco de fluido uterino com características anecóicas. Na ocasião a égua foi inseminada com quatro palhetas de sêmen congelado do garanhão B. No D9 foi realizada a lavagem uterina para coleta de embrião, sendo essa negativa. Após o procedimento foi aplicado por via IM 2 ml de PGF2 α .

Alguns dias depois a égua estava em um novo ciclo, apresentando dois folículos de 34 mm e edema uterino IV, sendo realizado o protocolo de indução da ovulação, com aplicação intramuscular (IM) 3 ml de deslorelina (análogo de GnRH). No dia seguinte optou-se por realizar infusão intrauterina do PRP baseados no estudos de REGHINI., 2016. Após 24 horas, a égua apresentou redução do edema uterino, grau II e pouco de fluido intrauterino, na noite do mesmo dia foi observada a ovulação, sendo inseminada com quatro palhetas do garanhão B. No D9 foi realizada a lavagem uterina para coleta de embrião, sendo essa positiva. Logo após a coleta do embrião, esse foi inovulado na receptora, a prenhez foi confirmada com 15 dias.

3.1 METODOLOGIA

O protocolo de transferência de embrião utilizado nesse caso, seguiram os protocolos usados por Meira (2017), onde foram utilizados análogos da prostaglandina associados à aplicação de GnRH. Além disso, era realizada a seleção das éguas doadoras e receptoras, em seguida elas eram sincronizadas, sendo por ovulação espontânea, indução da ovulação e terapia hormonal das receptoras (SILVA, 2014).

No caso descrito foi utilizado o PRP autólogo, assim como técnica descrita por (SEGABINAZZI, 2016). Foi realizada a antisepsia do local com algodão e álcool a 70°, em seguida foi procedida a venopunção da jugular e coletado cerca de 60 ml de sangue, sendo este distribuído em 15 tubos contendo citrato de sódio a 3% (**Figura 11**). Após a coleta, foi utilizada a técnica adaptada de (SEGABINAZZI *et al.*, 2015), onde, os tubos foram armazenados em lugar sem luminosidade e em temperatura ambiente. Após três horas, foi realizada a separação do PRP, utilizando-se uma pipeta, sendo esse material armazenado em um tubo Falcon, gerando cerca de 20 ml de PRP (**Figura 11C**). Para a infusão do PRP a égua teve o reto limpo e foi realizada a lavagem de toda a área perianal e vulvar com clorexidine 5%. Logo após foi utilizada uma pipeta de inseminação, e então foi realizada a infusão do PRP intrauterino (**Figura 12**).

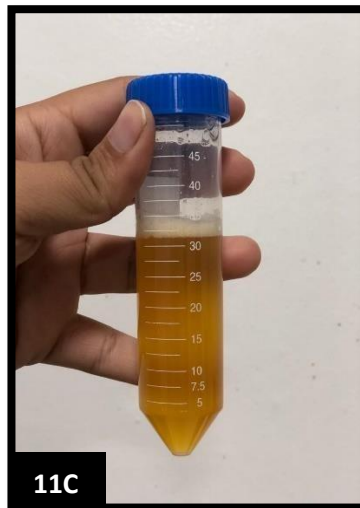
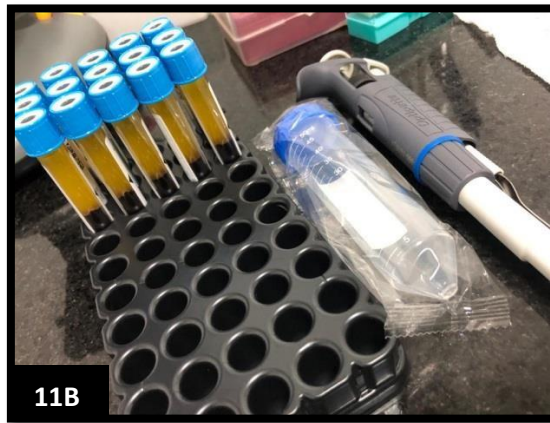


Figura 11- Material utilizado para coleta de sangue e PRP. (**Figura 11A-** Seringa de 20 ml, agulha estéril, algodão com álcool e tubos contendo citrato. **Figura 11B-** Após a sedimentação, material utilizado para a separação do PRP. **Figura 11C-** PRP separada em tubo Falcon). **Fonte:** Arquivo pessoal.

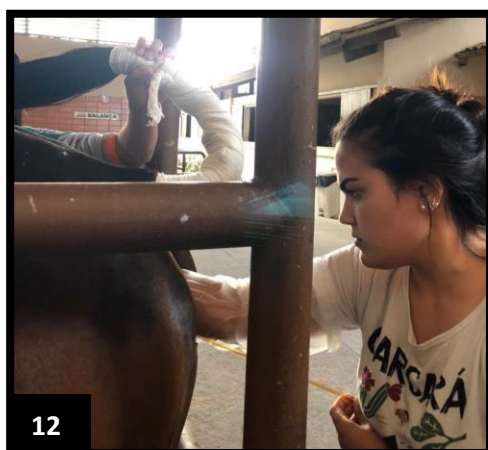


Figura 12- Infusão com pipeta de inseminação do PRP intrauterino. **Fonte:** Arquivo pessoal.

3.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a infusão do PRP intrauterino na égua, foi possível obter um resultado positivo na recuperação embrionária (**Figura 12**). Dessa forma sugere-se que o uso do PRP foi efetivo no animal, visto que, na inseminação anterior o resultado para a taxa de recuperação embrionária, foi negativo, sendo utilizado o sêmen do mesmo garanhão (ganhão B).

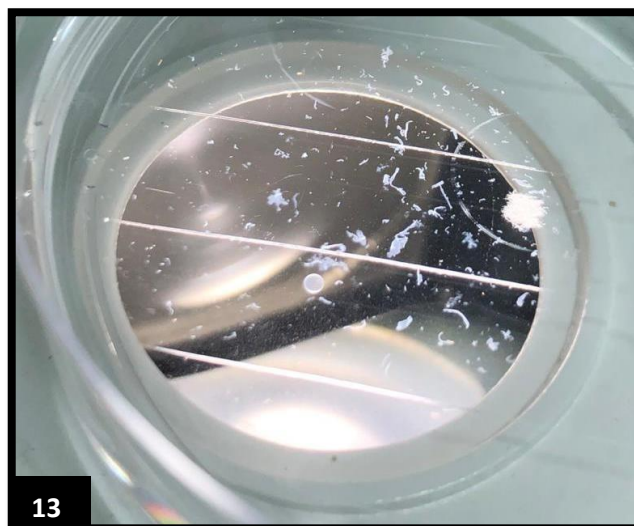


Figura 13- Embrião recuperado após o uso do PRP. **Fonte:** Arquivo pessoal.

Outros trabalhos obtiveram sucesso utilizando uma metodologia semelhante. SEGABINAZZI *et al.* (2021), realizou um estudo onde foi administrado PRP intrauterino em éguas doadoras de embriões, suscetíveis a EPPC, resultando em menos problemas uterinos pós IA e uma redução da resposta inflamatória. Especificamente, o uso de PRP reduz a duração e a intensidade da resposta inflamatória pós-IA, assim, reduzindo as chances de infecção uterina, levando a maiores taxas de recuperação embrionária em éguas suscetíveis a EPPC.

Nesse estudo, Segabinazzi concluiu que, a recuperação embrionária foi maior em ciclos onde foi utilizado o PRP. Assim como as éguas tinham maiores taxas de fertilidade após a terapia de plasma do que o controle atribuído grupo. Dessa forma, os tratamentos com PRP aumentou 1,5 vezes, as taxas de recuperação embrionária em comparação com os ciclos obtidos do grupo controle. Além disso, também houve o aumento no número de ovulações por ciclo e aumento na taxa de recuperação embrionária.

De forma geral, a terapia intrauterina com PRP aumentou a porcentagem de embriões recuperados por lavagem e por número de ovulações, provavelmente devido à sua imunomodulação e ação antimicrobiana, também devido as propriedades das plaquetas, que transformam o ambiente hostil uterino em um ambiente favorável ao embrião, em éguas suscetíveis a EPPC. Ainda não é claro que as infusões com PRP melhoram a receptividade endometrial e a fertilidade das éguas (SEGABINAZZI *et al.*, 2021). Porém, estudos em humanos afirmam que o PRP aumenta a migração e a proliferação de células endometriais, dessa forma, promovendo uma neo-angiogênese no endométrio de mulheres inférteis, regulando positivamente os genes envolvidos na implantação (TANDULWADKAR *et al.*, 2017). Esses estudos com éguas doadoras de embriões corroboram com estudos anteriores em éguas reprodutoras, destacando os benefícios do PRP para a imunidade uterina e desempenho reprodutivo (SEGABINAZZI *et al.*, 2021). Segundo REGHINI (2016) e PASCH (2021), na prática reprodutiva com éguas, grande parte dos estudos estão relacionados a infusão intrauterina de PRP na melhora das taxas de prenhez

Em 2016, um estudo realizado por Reghini *et al.*, constatou que éguas com endometrite crônica degenerativa (ECD) apresentam alta resposta inflamatória pós-IA, elevada concentração de PMNs e acúmulo de fluido intrauterino 24 horas após a cobertura. Nesse estudo, foram comparados dois grupos, o primeiro de éguas com endometrite crônica degenerativa (ECD) tratadas com PRP, e o segundo de éguas com ECD sem o uso do PRP, relatando redução de fluido intrauterino e número de neutrófilos pós-IA no primeiro grupo citado. Além disso, concluíram que, a ECD está presente em um alto percentual de éguas reprodutoras em programas de reprodução assistida. Portanto, o PRP, torna-se uma alternativa complementar para essa categoria de égua. Pois, através da modulação da inflamação, reduz o número de neutrófilos e a retenção de líquidos intrauterina.

CONCLUSÃO

Em conclusão, o caso relatado aponta que o PRP apresenta propriedades na modulação da inflamação intrauterina em éguas doadoras de embriões, melhorando assim a taxa de recuperação embrionária e diminuindo as perdas econômicas. É possível reconhecer também a viabilidade do método no tratamento de éguas suscetíveis, por ser acessível e de fácil realização. Além disso, baseado nesses resultados, pode-se observar que é possível a obtenção do PRP com concentrações adequadas de plaquetas, através do método de sedimentação. Mais estudos serão necessários para se entender melhor o modo de ação do PRP.

REFERÊNCIAS

- ALVARENGA, M.A.; CARMO, M.T. Biotecnologias em reprodução equina: o que há de novo para o veterinário de campo?
- ALVARENGA, M.A., LOSINNO, L. Fatores críticos em programas de transferência de embrião em equinos no Brasil e Argentina. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34, p. 39-49, 2006.
- ALVARENGA, M. A.; TONGU, E. A. O. Estratégias para melhorar a eficiência reprodutiva em programas de transferência de embrião de equinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.41, n.1, p.19-24, 2017.
- ALVARENGA, M.A. Problems and solutions in equine embryo transfer programs in Brazil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 38, p. 319-333, 2010.
- 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.
- ÁLVAREZ M, LÓPEZ C, GIRALDO C, SAMUDIO I, CARMONA J. In vitro bactericidal activity of equine platelet concentrates, platelet poor plasma, and plasma against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Arch Med Vet**, v. 43, p. 155-61, 2011.
- ALAM, R., FORSYTHE, P.A., LETT-BROWN, M.A., GRANT, J. A. Interleukin-8 and RANTES inhibit monocyte chemotactic-induced basophil histamine release and activation chemoattractant peptide-1/monocyte factor and histamine releasing factor. **American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology**, v. 7, p. 427-233
- ARISTIZÁBAL, V.H.V. et al. Transferência de embriões em éguas receptoras anovulatórias. **Revista de Medicina Veterinária**, n. 33, p. 137-147, 2017.
- ASBURY, A.C. Uterine defense mechanisms in the mare: the use of plasma in the management of endometritis. **Theriogenology**, v. 21, p.387-393, 1984.
- ASBURY, A.C.; et al. Immunoglobulins in uterine secretions of mares with differing resistance to endometritis. **Theriogenology**, v.4. p. 299-308, 1980.
- BANNENBERG, G. L.; CHIANG, N.; ARIEL, A.; TJONAHEN, E., GOTLINGER, K. H., HONG, S., SERHAN, C. N. Molecular circuits of resolution: Formation and actions of resolvins and protectins. **The Journal of Immunology**, v. 174, p. 4345-4355, 2005.
- BECK, S. L., CINTRA, A. G. Manual de gerenciamento equestre, 2011.
- BIELECKI, T. M. et al. Antibacterial effect of autologous platelet gel enriched with growth factors and other active substances. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v. 89-B, n. 3, p. 417-420, 2007.
- BENKO, T. et al. Incidence of bacterial pathogens in equine uterine swabs, their antibiotic resistance patterns, and selected reproductive indices in English thoroughbred mares during the foal heat cycle. **Veterinari Medicina**, v. 60, n. 11, p. 613-620, 2015.

BENDINELLI P, MATTEUCCI E, DOGLIOTTI G, CORSI MM, BANFI G, MARONI P, DESIDERIO MA. Molecular basis of anti-inflammatory action of platelet-rich plasma on human chondrocytes: mechanisms of NF- κ B inhibition via HGF. **J Cell Physio**, v. 225, n. 3, p-757-66, 2010.

BRENDEMUEHL, J. P. Effect of oxytocin and PGF 2α on luteal formation, function and pregnancy rates in mares. **Theriogenology**, v. 58, p. 623-626, 2002.

BRINSKO, S. P.; VARNER, D. D.; BLANCHARD, T. L. The effect of uterine lavage performed four hours post insemination on pregnancy rate in mares. **Theriogenology**, v. 35, n. 6, p. 1111- 1119, 1991.

BRINSKO, S.P., RIGBY, S.L., VARNER, D.D., BLANCHARD, T.L. A practical method for recognizing mares susceptible to post-breeding endometritis. Annual Convention of the AAEP, v. 49, 2003.

BRINSKO, S.P.; RIGBY, S.L.S.L.; VARNER, D.D.; BLANCHARD, T.L. A practical method 889 for recognizing mares susceptible to post-breeding endometritis Annual **Conference of the American Association of Equine**, v. 49, p. 363-365, 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, n. 7, p. 1093-1100, 2008.

CAMPOS, D. G., SÁ, N. M. B., TESTA, A. C., PINNA, A. E. Uso do ozônio no tratamento da endometrite em éguas: relato de caso. **Revista Brasileira de Medicina Equina**, v.13, p. 24-26, 2018.

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

CARMONA, J.U.; ARGÜELLES, D.; CLIMENT, F.; PRADES, M. Autologous platelet 805 concentrates as a treatment of horses with osteoarthritis: a preliminary pilot clinical study. **J. Equine Vet. Sci**, v. 27, p. 167-170, 2007.

CANISSO, I.F., SEGABINAZZI, L.G.T.M., FEDORKA, C.E. Persistent Breeding-Induced Endometritis in mares – A multifaceted: from clinical aspects to immunopathogenesis and pathobiology. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 21, p. 1432, 2020.

CANISSO, I. F.; STEWART, J.; COUTINHO DA SILVA, M. A. Endometritis: Managing 46 Persistent Post-Breeding Endometritis. **Veterinary Clinics of North America; Equine Practice**, v. 32, n. 3, p. 465-480, 2016.

CAMOZZATO G.C. Endometrite em éguas. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

CAMARGO, Paulo M. et al. Platelet rich plasma and bovine porous bone mineral combined with guided tissue regeneration in the treatment of intrabony defects in humans. **Journal of Periodontal Research**, v. 37, n. 4, p. 300-306, 2002.

CARD, C. Post-breeding inflammation and endometrial cytology in mares. **Theriogenology**, v. 64, p. 580-588, 2005.

CRUZ, J.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.

COOK, V. L.; BLIKSLAGER, A. T. The use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in critically ill horses. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 25, n. 1, p. 76-88, 2015.

DASCANIO, J. J. How and When to Treat Endometritis With Systemic or Local Antibiotics. **Clinical Theriogenology**, 2009.

DURRANI, A. Z., RAZA, M. U., CHANNA, A. A. An Alternative Therapy with Ozone to Avoid Antimicrobial Resistance (AMR) in Uterine Infections in Dairy Cattle. **Biomedical. Journal os Scientific & Technical Research**, 2017.

DYCE, et al. Tratado de Anatomia Veterinária, e. 5, 2019.

EISENBERG, R. C.; DOBROGOSZ, W. J. Gluconate metabolism in Escherichia coli. **Journal of bacteriology**, v. 93, n. 3, p. 941-949, 1967.

EL-SHARKAWY, H.; KANTARCI, A.; DEADY, J.; HASTURK, H.; LIU, H.; ALSHAHAT, M.; VAN DYKE, T.E. Platelet-Rich Plasma: growth factors and anti-inflammatory properties. **Journal of Periodontology**, v. 78, p. 661-669, 2007.

EVANS, M. J.; HAMER, J. M.; GASON, L. M.; IRVINE, A. C. Factors affecting uterine clearance of inoculated materials in mares. **Journal of Reproduction and Fertility suppl.**, v. 35, p. 327-342, 1987.

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

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 endometrit persistente pós cobertura e endometrose em éguas. Monografia apresentada ao curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

FLEURY, J.J., PINTO, A.J., MARQUES, A., LIMA, C.G. & ARRUDA, R.P. Fatores que afetam a recolha embrionária e os índices de prenhez após transferência transcervical em equinos da raça Mangalarga. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 38, n. 1, p. 29- 31, 2001.

FRANDSON, R. D. Anatomia e fisiologia dos animais domésticos, e. 2, p. 301-304, 1979.

FUMUSO, E.A.; AGUILAR, J.; GIGUÈRE, S.; RIVULGO, M.; WADE, J.; ROGAN, D. Immune parameters in mares resistant or susceptible to post-breeding endometritis:

Effects of immunomodulation. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 118, p. 30-39, 2007.

GEORG, R.; MARIA, C.; GISELA, A.; BIANCA, C. Autologous conditioned plasma as therapy of tendon and ligament lesions in seven horses. **J. Vet. Sci**, v. 11, p. 173-175, 2010.

GINTHER, O. Reproductive biology of the mare: basic and applied aspects, 1979.

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. **Medical Physiology**, cap. 16, p.180-184, 1991.

HAFEZ, B.; HAFEZ, E. S. E. **Reprodução animal**, e. 7 p. 21-24, 36 59, 193-210, 2004.

HINRICHS, K., CUMMINGS, M.R., SERTICH, P.L., KENNEY, R.M. Clinical significance of aerobic bacterial flora of the uterus, vagina, vestibule, and clitoral fossa of clinically normal mares. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.193, p.72-75, 1988.

HOFFMANN, C.; ELLENBERGER, C.; MATTOS, R.C.; AUPPERLE, H.; DHEIN, S.; STIEF, B.; SCHOON, H. The equine endometrosis: New insights into the pathogenesis. **Animal Reproduction Science**, 2008.

JACOB, J.C.F., SANTOS, G.O., OLIVEIRA, J.P., GASTAL, M.O. Evaluation of reproductive parameters in a commercial equine embryo transfer program. **Anim. Reprod. Sci.**, v.121, p.305-306, 2010.

JENSEN, E. T. et al. Human polymorphonuclear leukocyte response to *Pseudomonas aeruginosa* grown in biofilms. **Infection and immunity**, v. 58, n. 7, p. 2383-2385, 1990.

KAINER, R.A. Internal Reproductive Anatomy. **Equine Reproduction. Blackwell Publishing Ltd.**, p. 1582-1597, 2011.

KATILA, T. Lysosyme, alkaline phosphatase and neutrophils in uterine secretions of mares with differing resistance to endometrites. **Theriogenology**, v.33, n.3, p.723-732, 1990.

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

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., DOIG, P.A. Equine endometrial biopsy. **Current therapy in Theriogenology**, p. 723-729, 1986.

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, n. 5, p. 267-270, 2010.

KIM, H.J., YEOM, J.S., KOH, Y.G., YEO, J.E., KANG, Y.M., CHANG, B.S., LEE, C.K. Antiinflammatory effect of platelet-rich plasma on cells of the nucleus pulposus with response to TNF- α e IL-1. **Journal of Orthopaedic**, v. 32, p. 551-556, 2014.

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, n. 5, p. 267-270, 2010.

KOTILAINEN, T.; HUHTINEN, M.; KATILA, T. Sperm-induced leucocytosis in the equine uterus. **Theriogenology**, v. 41, p. 629-636, 1994.

KNUTTI, B., PYCOCK, J. F., VAN DER WIJDEN, G. C., KÜPFER, U. The influence of early postbreeding uterine lavage on pregnancy rate in mares with intrauterine e fluid accumulations after breeding. **Equine veterinary education**, v. 12, p. 276-270, 2000.

LEBLANC, M. M.; MAGSIG, J.; STROMBERG, A. J. Use of a low-volume uterine flush for diagnosing endometritis in chronically infertile mares. **Theriogenology**, v. 68, n. 3, p. 403-412, 2007.

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

LEBLANC, M.M., NEUWIRTH, L., ASBURY, A.C., TRAN, T., MAURAGIS, D., KLAPSTEIN, E. Scintigraphic measurements of uterine clearance in normal mares and mares with recurrent endometritis. **Equine Vet J.**, v.26, p.109-113, 1994.

LEBLANC, M., CAUSEY, R. Clinical and subclinical endometritis in the mare: Both threats to fertility. **Reprod. Domest. Anim.**, v. 44, p. 10-22, 2009.

LEBLANC, M.M., JOHNSON, R.D., CALDERWOOD, M.B., VALDERRAMA, C. Lymphatic clearance of india ink in reproductively normal mares and mares susceptibles to endometritis. **Biol. Reprod. Mono.**, n.1, p.501-506, 1995.

LEBLANC, M.M. Persistent mating induced endometritis. **Current therapy in equine medicine**, p.234-237, 2003.

LEY, W.B. Reprodução em Éguas para Veterinários de Eqüinos. 1ª ed., São Paulo: Roca, p.240, 2006.

LIRA, R. A., PEIXOTO, G.C.X., SILVA, A.R. Transferência de embrião em eqüinos: Revisão. **Acta Veterinária Brasília**, v.3, n.4, p.132-140, 2009.

LIMA, R.A.S., SHIROTA, R., BARROS, G.S.C., Estudo do complexo do agronegócio cavalo no Brasil. CEPEA-ESALQ/USP, Piracicaba, p. 250, 2006.

LIU, I.K.M., CHEUNG, A.T.W. Immunoglobulin and neutrophil defense against uterine infection in mares resistant and susceptible to chronic endometritis: a review. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 189, p. 700-702, 1986.

LOSINNO, L., UROSEVIC, I.M. Equine embryo transfer. Technical and practical

considerations for application on horse production programs. International Congress on Biotechnology in Animal Reproduction (ICBAR). Novi Sad, Serbia, p.23-30, 2015.

LYLE, S.K. Immunological Considerations. **Equine Reproduction**, cap 268, p. 2587-2596, 2011.

MAIA, L. Plasma rico em plaquetas no tratamento de tendinite em equinos: avaliação clínica, ultrassonográfica e histopatológica. Tese (Mestrado), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, 2008.

MALSCHITZKY, E.; TREIN, C. R.; BUSTAMANTE, FILHO I. C.; GARBADE, P.; GREGORY, R. M.; MATTOS, R. C. Young maiden mares can also be susceptible to persistent mating-induced endometritis. **Pferdeheilkunde**, v. 22, p. 201-204, 2006.

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

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2016. Revisão do Estudo do Complexo do Agronegócio Cavalos.

MADILL, S. Reproductive considerations: mare and stallion. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 18, n. 3, p.591-619, 2002.

MADILL, S. Management of the Geriatric Mare. **Equine Reproduction**, p. 2803-2819, 2011.

MACKAY, R.J. Inflammation in horses. **Vet. Clin. North Am Equine Pract.**, v. 16, p. 15-27, 2000.

MARIZ, T. M. A., ANJOS, A.G., FLOR, J. M., FLOR, L. M. A. M., LIMA, C. B., GIVISIEZ, P. E. N., AZEVEDO, P. S. Influências do clima sobre a atividade reprodutiva de éguas da Raça Mangalarga Machador no Estado de Sergipe. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 2, p. 39-43, 2008.

MATTOS, R.C.; MALSCHITZKY, E.; JOBIM, M.I.M. Endometrite na égua. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.27, n.2, p.150-157, 2003.

MALSCHITZKY, E. et al. Endometrite na égua, novos conceitos. **Vet. Bras. Reprod. Anim.**, v.31, n.1, p.17-26, 2007.

MALSCHITZKY, E., SCHILELA, A., MATTOS, A.L.G., GARBADE, P., GREGORY, R.M., MATTOS, R.C. 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.

MAZZOCCA, A. D. et al. An in vitro evaluation of the anti-inflammatory effects of platelet-rich plasma, ketorolac, and methylprednisolone. **Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery**, v. 29, n. 4, p. 675-683, 2013.

MCKINNON, A.O., SQUIRES, E.L. (2007). Embryo transfer and related technologies.

Current Therapy in Equine Reproduction, p. 319-334, 2007.

MEIRA, C. Endocrinologia da Reprodução, Dinâmica Folicular, Superovulação e Transferência de Embriões na Espécie Equina. (Área da Reprodução) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Botucatu, SP, 2007.

METCALF, E. S. The effect of Platelet-Rich Plasma (PRP) on intraluminal fluid and pregnancy rates in mares susceptible to Persistent Mating-Induced Endometritis (PMIE). **J. Equine Vet. Sci**, v. 34, p. 128, 2014.

MOREIRA, J. F. E. Avaliação histopatológica e imuno histoquímica de células inflamatórias no endométrio de éguas sadias e repetidoras de cio em programas de transferência de embriões. (Tese) - Programa de pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro, 2011.

MOOJEN, D. J. F. et al. Antimicrobial activity of platelet-leukocyte gel against *Staphylococcus aureus*. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 26, n. 3, p. 404-410, mar. 2008.

MONTECHIESI, D. F. Transferência de embriões em equinos e os fatores relacionados as taxas de prenhez. **Ciência Animal**, v. 25, n.1, p. 187-194, 2015.

NEWCOMBE, J.R. The effect of the incidence and depth of intra-uterine fluid in early dioestrus on pregnancy rate in mares. **Pferdeheilkunde**, v.13, p.545, 1997.

NIKOLAKOPOULOS, E., WATSON, E.D. Effect of infusion volume and sperm numbers on persistence of uterine inflammation in mares. **Eq. Vet. J.**, v.32, p.164-166, 2000.

PAIVA, J.O.L. Endometrite na égua. Monografia submetida ao curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, p. 40, 2008.

PAVLOVIC, V. et al. Platelet Rich Plasma: A short overview of certain bioactive components. **Open Medicine (Poland)**, v. 11, n. 1, p. 242-247, 2016.

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

PASCH L, SCHMIDT A, KING W. Clinical Observations After Prebreeding Intrauterine Plasma Infusion in 18 Mares Inseminated With Thawed Frozen Semen. **J Equine Vet Sci**, v. 99, 2021.

PAGLIOSA, GEANE MACIEL; ALVES, GERALDO ELENO SILVEIRA. Considerações sobre a obtenção e o uso do plasma rico em plaquetas e das células mesenquimais indiferenciadas em enxertos ósseos. **Ciência Rural**, v. 37, n. 4, p. 1202-1205, 2007.

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

PARADIS, M. Demographics of health and disease in the geriatric horse. *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*, p.391-401, 2002.

PRADES M, ABELLANET I, CARMONA JU, ARGÜELLES D, MASRI M. Platelet rich plasma: a realistic alternative in tissue repair. In: Proceedings of the 15th **Annual Meeting European College of veterinary Surgeons**, p. 211-216, 2006.

PEREIRA, R.C., DA, F., DE LA CÔRTE, F.D., BRASS KE, D.A., SILVA, M. A., GALLIO, M., CANTARELLI, C., et al. Evaluation of three methods of platelet-rich plasma for treatment of equine distal limb skin wounds. **J. Equine Vet Sci**, v. 72, p. 551, 2019.

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, 2014.

PRADES, M., ABELLANET, I., CARMONA, J.U., ARGÜELLES, D., MASRI, M. Platelet-rich plasma: a realistic alternative in tissue reduction. Procedimentos da 15ª Reunião Anual Colégio Europeu de Cirurgiões Veterinários, p. 211-216, 2006.

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

PYCOCK, J., 2006. How to maximize the chances of breeding successfully from the older maiden mare. In **Proceedings of American Association of Equine Practice**, p. 245-249, 2006.

RASCH, K. et al. Histomorphological endometrial status and influence of oxytocin on the uterine drainage and pregnancy rate in mares. **Equine Veterinary Journal**, v. 28, n. 6, p. 455-460, 1996.

ROJER, H.; AURICH, C. Treatment of persistent mating-induced endometritis in mares with the non-steroid anti-inflammatory drug vedaprofen. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 45, n. 6, p. 2009-2011, 2010.

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

REGHINI MFS, RAMIRES NETO C, SEGABINAZZI LG, CASTRO CHAVES MMB, DELL'AQUA CPF, BUSSIÈRE MCC, DELL'AQUA JR JÁ, PAPA FO, ALVARENGA MA. Inflammatory response in chronic degenerative endometritis mares treated with platelet-rich plasma. **Theriogenology**, v. 86, p. 516-522, 2016.

RECALDE, E. C. S. Influência da qualidade do sêmen criopreservado equino sobre a taxa de prenhez, hemodinâmica uterina e endometrite pós-cobertura. Dissertação (Mestrado) – 54 Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

REGHINI, M.F.S. Fatores que interferem nas taxas de recuperação embrionária em éguas. Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Medicina Veterinária) -

Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, 2009.

RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; MENDÉZ, M.C.; LEMOS, R. A. Doenças de ruminantes e equinos, v. 2, p. 574, 2001.

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**, v. 35, n.1, p. 25-28, 1998.

RYAN, A. F. Bacterial endometritis: a focus on biofilms. **Clinical Theriogenology**, v. 6, p. 315-319, 2014.

SAMPER, J., Breeding the problem mare by artificial insemination. In Proceedings of the 54th annual convention of the AAEP. San Diego, California, USA, p. 408-413, 2008.

SALES, A.A.S. O complexo do agronegócio do cavalo: uma análise sistêmica da equideocultura e tendências de mercado, 2018.

SEGABINAZZI, LORENZO GARRIDO TEIXEIRA MARTINI. 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, Botucatu, São Paulo, 2016.

SEGABINAZZI, LORENZO GARRIDO TEIXEIRA MARTINI; AIME, F. Comparação entre diferentes protocolos de única centrifugação e diferentes tempos de sedimentação para produção de plasma rico em plaquetas: XVI Conferência anual ABRAVEQ, p. 204, 2015.

SEGABINAZZI, L.G.T.M., CANISSO, I.F., PODICO, G., LEAL, L.C., NOVELLO, G., ROSSER, M.F., et al. Intrauterine administration of platelet-rich or -poor plasma mitigates persistent breeding induced endometritis in mares. **AAEP Proc.**, v. 66, p. 136-137, 2020.

SEGABINAZZI, L.G.T.M.; CANISSO, I.F.; PODICO, G.; CUNHA, L.L.; NOVELLO, G.; ROSSER, M.F.; LOUX, S.C.; LIMA, F.S.; ALVARENGA, M.A. Intrauterine Blood Plasma Platelet-Therapy Mitigates Persistent Breeding-Induced Endometritis, Reduces Uterine Infections, and Improves Embryo Recovery in Mares. **Antibiotics**, v. 23, n. 10. p. 490, 2021.

SCHOON, H.A., SCHOON, D., KLUG, E. Vascular lesions in the equine endometrium. **Pferdeheilkunde**, v. 13, p. 546, 1997.

SCOGGIN, C.F. Endometritis: Nontraditional Therapies. **Vet. Clin. North Am. Equine Pract.**, v. 32, p. 499-511, 2016.

SCHRAMME, A. R. et al. Pharmacokinetics of carbetocin, a long-acting oxytocin analogue, following intravenous administration in horses. **Equine veterinary journal**,

v. 40, n. 7, p. 658-61, 2008.

SHARKAWY, H., KANTARC, I. A., DEADY, J., HASTURK, H., LIU, H., ALSHAHAT, M., VANDYKE, T.E. Platelet-rich plasma: growth factors and anti-inflammatory properties. **Diário de Periodontology**, v. 78, p. 661-669, 2007.

STOUT, T.A.E. Equine embryo transfer: review of developing potential. **Equine Veterinary Journal**, v. 38, n. 5, p. 467-478, 2006.

STOODLEY, P. et al. Biofilms as Complex Differentiated Communities. **Annual Review of Microbiology**, v. 56, n. 1, p. 187-209, 2002.

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.

SQUIRES, E.L. Factors affecting embryo recovery and pregnancy rates after embryo transfer. In SIVE, XII Congresso Multisala, Bologna, Italy, 2006.

SQUIRES, E.L., CARNEVALE EM, MCCUE, P.M, BRUEMMER, J.E. Embryo technologies in the horse. **Theriogenology**, v.59, p.151-170, 2003.

SUNDMAN, E. A. et al. The anti-inflammatory and matrix restorative mechanisms of platelet-rich plasma in osteoarthritis. **The American journal of sports medicine**, v. 42, n. 1, p. 35-41, 2014.

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.

TANDULWADKAR, S.; NARALKAR, M.; SURANA, A.; SELVAKARTHICK, M.; KHARAT, A. Autologous intrauterine platelet-rich plasma instillation for suboptimal endometrium in frozen embryo transfer cycles: A pilot study. **J. Hum. Reprod. Sci**, v.10, p.208-212, 2017.

THOMASSIAN, A. Enfermidade dos cavalos. e. 4, p. 258-259, 2005.

TROEDSSON, M.H.T. Therapeutic considerations for mating-induced endometritis. **Pferdeheilkunde**, v. 13, p. 516- 520, 1997.

TRAUB-DARGATZ, J.L., SALMAN, M.D., VOSS, J.L. Medical problems of adult horses, as ranked by equine practitioners. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** v. 198, p. 1745-1747, 1991.

TEZZA, L., DITTRICH, J. **Reprodução em Equinos**. p.1-13, 2006.

TIZARD, I. Trapping and processing of foreign material. **Vet Immunology**, e. 3, p.11-24, 1987.

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., DESVOUGES, A., ALGHAMDI, A.S., DAHMS, B., DOW, C.A.,

- HAYNA, J., VALESCO, R., COLLAHAN, P.T., MACPHERSON, M.L., POZOR, M. Components in seminal plasma regulating sperm transport and elimination. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 89, p. 171-186, 2005.
- TROEDSSON, M.H.T.; Uterine Clearance and resistance to persistent endometritis in the mare. **Theriogenology**, v. 52. n. 3. p. 461-471, 1999.
- TRIPATHI, P.; Nitric oxide and immune response. **Indian J. Biochem. Biophysiology**, v. 44. n. 5. p. 310-319, 2007.
- TROWBRIDGE, C. C. et al. Use of platelet gel and its effects on infection in cardiac surgery. **The journal of extra-corporeal technology**, v. 37, n. 4, p. 381-6, 2005.
- VALENTE, M., UNANIAN, M. M., VILLARROEL, A. B. S., GOMES, F. F. F. Duração da gestação e do parto em éguas Puro Sangue Árabe. **Arquivo brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 4, p. 668-671, 2006.
- VANDERWALL, D. K.; WOODS, G. L. Effect on fertility of uterine lavage performed immediately prior to insemination in mares. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 222, n. 8, p. 1108-1110, 2003.
- VIEIRA, M. C. Percepções e práticas de manejo em estabelecimentos equestres quanto à influência dessas práticas para o bem-estar de equinos. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas). Universidade Federal de Santa Catarina, p. 100, 2015.
- WAELCHI, R.O.; WINDER, N.C. Immunohistochemical evaluation of the equine endometrium during the oestrus cycle. **Equine Veterinary Journal**, v. 19, n. 4, p. 299-301, 1987.
- WIDDERS, P.R., STOKES, C.R., DAVID, J.S., BOURNE, F.J. Specific antibody in the equine genital tract following systemic and local immunization. **Immunology**, v. 54, e. 4, p. 763-769, 1985.
- WOODELL-MAY, J.; MATUSKA, A.; OYSTER, M.; WELCH, Z.; O'SHAUGHNESSEY, K.; HOEPPNER, J. Autologous protein solution inhibits MMP-13 production by IL-1b and TNF-a stimulated human articular chondrocytes. **J. Orthop. Res.**, v. 29, p. 1320-1326, 2011.
- WOODALL JR. J, TUCCI M, MISHRA A, ASFOUR A, BENGHUZZI H. Cellular effects of platelet rich plasma interleukin1 release from PRP treated macrophages. **Biomedical Sciences Instrumentation**, v. 44, p. 489-494, 2008.
- 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.
- WU, C.-C. et al. Regenerative potentials of platelet-rich plasma enhanced by collagen in retrieving pro-inflammatory cytokine-inhibited chondrogenesis. **Biomaterials**, v. 32, n. 25, p. 5847-54, 2011.

ZENT, W. W.; TROEDSSON, M. H. T.; XUE, J.-L. Postbreeding uterine fluid accumulation in a normal population of Thoroughbred mares: A field study. In: Proceedings of the 44th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, 1998.

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.