

## Endometrite na égua, novos conceitos<sup>1</sup>

*Endometritis in the mare, news concepts*

Eduardo Malschitzky<sup>2,3</sup>, Maria Inês Mascarenhas Jobim<sup>2</sup>, Ricardo Macedo Gregory<sup>2,4</sup>,  
Rodrigo Costa Mattos<sup>2,4,5</sup>

<sup>2</sup>Reprolab, Departamento de Medicina Animal, Faculdade de Veterinária UFRGS, 91570-000 Porto Alegre, RS, Brasil

<sup>3</sup>Curso de Medicina Veterinária, ULBRA, Canoas, RS, Brasil.

<sup>4</sup>Pesquisador do CNPq

<sup>5</sup>Correspondência: [rcmattos@ufrgs.br](mailto:rcmattos@ufrgs.br)

### Resumo

O presente artigo objetivou realizar uma revisão sobre a endometrite equina, descrevendo os mecanismos de defesa uterinos da égua, os mecanismos e mediadores pró-inflamatórios e anti-inflamatórios, a intensidade de resposta à inflamação uterina, as características da égua susceptível, e os possíveis tratamentos para combater esta patologia.

**Palavras-chave:** égua, endometrite, mecanismos de defesa

### Abstract

*The present paper aimed to review the mare endometritis, describing the uterine defense mechanisms involved, the inflammatory and anti-inflammatory mechanisms and mediators, the response intensity to uterine inflammation, the susceptible mare characteristics and also the different methods for treating this pathology.*

**Keywords:** mare, endometritis, defense mechanisms

### Mecanismos de defesa uterina

O útero da égua é mantido livre de contaminantes através de mecanismos físicos, imunológicos e de um sistema linfático funcional. 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 cérvice (LeBlanc *et al.*, 1995).

Na espécie equina, independentemente do método de cobertura, o sêmen é depositado na luz uterina. Portanto, neste momento, as barreiras físicas são ultrapassadas, sendo o espermatozóide, proteínas do plasma seminal e bactérias do sêmen e do pênis do garanhão, responsáveis pela indução de uma resposta inflamatória aguda (Troedsson, 1997).

O útero reage rapidamente à presença do sêmen através de um aporte de neutrófilos, que são identificados no útero 30 minutos após a cobertura (Kotilainen *et al.*, 1994). Esta resposta objetiva a eliminação do excesso de espermatozoides e daqueles defeituosos ou mortos (Troedsson *et al.*, 1998). Quando as coberturas, ou inseminações artificiais, são realizadas com intervalos inferiores a 36 horas, a fertilidade será beneficiada se os espermatozoides viáveis estiverem protegidos da fagocitose no útero, enquanto a eficiência do mecanismo responsável pela eliminação das células inviáveis é mantido (Troedsson *et al.*, 2005).

Um importante mecanismo para a 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.*, 1993a). Durante o estro, ocorrem períodos de atividade contrátil de aproximadamente 5 minutos, alternados com períodos equivalentes de repouso (Jones *et al.*, 1991). O desempenho deste mecanismo requer o funcionamento da cérvice (LeBlanc *et al.*, 1989). A resposta à agressão ocorre rapidamente, com um aumento da intensidade das contrações. A eficiência é tal, que estudos utilizando cintilografia mostram que, em éguas sadias, metade do radiocolóide infundido no útero, em conjunto com colônias de *Streptococcus zooepidemicus*, é eliminado nos primeiros 60 minutos após a inoculação (LeBlanc *et al.*, 1994). A limpeza física do útero tem um papel central na patogenia da endometrite persistente pós-cobertura (Troedsson, 1997). No entanto, induzindo em éguas sadias uma deficiência na contratilidade miometrial com clenbuterol, Nikolakopoulos e Watson (2000) observaram que, apesar do acúmulo de fluido uterino e da presença marcada de neutrófilos ao exame citológico, 60% das éguas não apresentaram 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

<sup>1</sup>Palestra apresentada no XVII Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 31 de maio a 02 de junho de 2007, Curitiba, PR.

destes mecanismos foi bem estudada nas décadas de 80 e 90 (Asbury, 1984; Liu e Cheung, 1986; Watson, 1988; Pycoc e Allen, 1990; Troedsson *et al.*, 1993b, c).

Em situações em que o útero é invadido, é acionado o sistema complemento, em especial os componentes C3 e C5 que, em conjunto com imunoglobulinas produzidas pela mucosa uterina atraem e facilitam a fagocitose por neutrófilos (Troedsson, 1997). O neutrófilo, a mais importante célula de defesa do útero já está presente na luz uterina 30 minutos após a cobertura atingindo o pico inflamatório em 12 horas. (Katila, 1995, Troedsson, 1997).

Alghamdi *et al.* (2004) utilizando éguas com útero inflamado realizaram duas inseminações com intervalo de 24 horas, a primeira com espermatozóides mortos e a segunda com sêmen fresco contendo ou não plasma seminal. Os autores observaram menor taxa de prenhez quando o plasma seminal foi removido (5%), em comparação à taxa obtida das inseminações sem a remoção do plasma seminal (77%). Proteínas presentes no plasma seminal foram sugeridas como responsáveis por uma supressão da fagocitose de espermatozóides vivos pelos neutrófilos, em comparação ao que ocorre com as células mortas e apoptóticas (Troedsson *et al.*, 2006). Um efeito do plasma seminal, igualmente atribuído a proteínas nele presentes, é a inibição da ativação dos componentes C5 e C3 do complemento, que atuam na quimiotaxia de neutrófilos e na opsonização (Troedsson *et al.*, 2000). No trato genital feminino proteínas aderidas à membrana espermática seriam responsáveis pela opsonização seletiva e pelo reconhecimento de diferentes populações de espermatozóides (Troedsson *et al.*, 2006). Entretanto, Fiala *et al.* (2002) observaram aumento significativo na contagem de neutrófilos uterinos, em relação a um grupo controle, 2, 4 e 24 horas após a infusão de plasma seminal.

Apesar do foco de grande parte dos estudos sobre a patogenia da endometrite terem sido as bactérias, atualmente, o espermatozóide é considerado o principal causador da inflamação que ocorre sempre após a cobertura (Kotilainen *et al.*, 1994). Comparando o efeito da inseminação com sêmen congelado e com sêmen fresco e o de diluentes de sêmen Kotilainen *et al.* (1994) demonstraram que, quanto maior o número total de espermatozóides da dose inseminante, mais intensa é a resposta leucocitária. Da mesma forma, Fiala *et al.* (2007b) observaram que a quantidade de neutrófilos na luz uterina foi maior nas éguas inseminadas com 1 bilhão do que naquelas inseminadas com menor número de espermatozóides 2 e 4 horas após a inseminação. Independente da dose utilizada, o número de neutrófilos coletados do útero 24 horas após a inseminação foi menor do que o observado nas coletas realizadas após 4 horas, demonstrando o início da resolução da inflamação, que geralmente está encerrada em 48 horas (Katila, 1995).

Após a ovulação e o fechamento da cérvix o sistema linfático torna-se responsável pela drenagem de subprodutos do processo inflamatório. Entretanto, para que a drenagem linfática exerça sua função é fundamental uma boa contratilidade miométrial (LeBlanc *et al.*, 1995).

### Mecanismos e mediadores pró-inflamatórios e anti-inflamatórios

Uma vez iniciado o processo inflamatório, uma série de mediadores pró-inflamatórios é liberada pelos neutrófilos realizando fagocitose, pelas células do endotélio vascular, por células endometriais lesadas e pelos macrófagos ativadas pela inflamação. 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 colagenases, elastases e gelatinases favorecendo o aporte de células e iniciando imediatamente o processo de reparação. O óxido nítrico (ON) é responsável pela lise de bactérias no interior do neutrófilo (Mackay, 2000).

A atividade de enzimas lisossomais foi demonstrada no endométrio da égua. Como são potentes opsoninas para neutrófilos, são encontradas em altas concentrações em locais de inflamação aguda. A plasmina é uma enzima fibrinolítica, que, ao exercer sua função, libera fragmentos peptídicos que são quimiotáticos para os neutrófilos (Tizard, 1998). Nos granulócitos dos eqüinos, a atividade da N-acetil- $\beta$ -D-glicosaminidase (NAGase) e da fosfatase ácida é alta, enquanto a da enzima  $\beta$ -glicuronidase (B-Gase) é menor, se comparada à dos leucócitos mononucleares. Um aumento da concentração total de proteína foi observado 6 horas após a inoculação uterina com *Streptococcus* sp. (Reilas, 2001). A autora observou um aumento na concentração de plasmina e lisosima, cuja atividade é afetada pelo nível de progesterona, mas não é alterada pela inflamação aguda, entretanto, não verificou elevação nas demais enzimas testadas (NAGase, B-Gase e fosfatase ácida). Uma alta concentração de lisosima foi observada por Katila *et al.* (1990) 12 horas após a inoculação uterina com bactérias, momento em que o número de neutrófilos foi máximo.

Como a inflamação aguda pode causar danos ao tecido, ela deve ser mantida sob controle. O mesmo estímulo que induz a liberação dos mediadores pró-inflamatórios promove o aparecimento de mecanismos e de moléculas que atuam encerrando o processo inflamatório, tão logo ele deixe de ser necessário. Essas moléculas atuam inibindo a produção de citocinas, bloqueando receptores celulares ou induzindo a morte celular. A Interleucina 10 (IL-10) tem a função exclusiva de inibir a produção de mediadores pró-inflamatórios. As células

produzem um subtipo de Interleucina 1 (IL-1), que não age como citocina, mas que bloqueia receptores para a IL-1 $\beta$ , impedindo seus efeitos. A interleucina 6 (IL-6), que logo após a agressão é uma citocina pró-inflamatória, num estágio mais avançado, pode induzir a apoptose dos neutrófilos, que é uma forma de eliminar subprodutos inflamatórios sem o risco de que sejam liberados no próprio tecido (Mackay, 2000).

Gelatinases (Metaloproteinase-9 (MMP-9) e Metaloproteinase 2 (MMP-2)) apresentaram um aumento na atividade 5 horas após a inoculação uterina com *Streptococcus* sp., ou inseminação artificial (Oddsdottir *et al.*, 2006). A atividade das metaloproteinases é controlada por inibidores produzidos pelos tecidos, denominadas inibidores de metaloproteinases (TIMPs). Embora não haja descrição da atividade destas moléculas anti-inflamatórias no endométrio da égua, no endométrio humano sua atividade é evidente e também está sob controle dos esteróides ovarianos (Curry e Osteen, 2001).

### Susceptibilidade à endometrite

Os hormônios esteróides influenciam os mecanismos de defesa uterina. Assim, sob o domínio estrogênico característico do estro, o útero apresenta-se edemaciado, com aumento da produção de muco. A hiperemia favorece o aporte de neutrófilos e as contrações miometriais ocorrem de forma rítmica, favorecendo a evacuação do conteúdo uterino através da cérvix, que nesta fase encontra-se aberta. Por outro lado, com altas concentrações de progesterona, a cérvix encontra-se fechada e a contratilidade miometrial passa a apresentar longos períodos de contração, com baixa amplitude, o que caracteriza o tônus uterino típico da égua nesta fase. Todos estes fatores fazem com que a égua em diestro apresente uma menor capacidade de eliminação de uma possível contaminação e inflamação uterina (Evans *et al.*, 1987; Jones *et al.*, 1991).

Durante o cio, com o favorecimento dos mecanismos de defesa pelo efeito estrogênico, o processo inflamatório está completamente resolvido em 36-48 horas após a cobertura. As éguas nas quais isso ocorre são classificadas como sadias ou resistentes à endometrite persistente pós-cobertura. Porém, se ocorrer uma falha dos mecanismos de defesa, há condições para que as bactérias possam se aderir à mucosa uterina, levando à perda da integridade mucosa e à instalação de uma infecção bacteriana. Nestes casos, a inflamação passa a ser patológica e este quadro é denominado de endometrite persistente pós-cobertura (EPPC). A falha reprodutiva provém de um efeito direto do ambiente uterino incompatível com a sobrevivência do embrião, ou da liberação constante de prostaglandina-F $_{2\alpha}$  (PgF $_{2\alpha}$ ), devido à inflamação, levando à diminuição da progesterona circulante pela lise do corpo lúteo (LeBlanc, 2003).

Éguas nesta condição são denominadas de susceptíveis à endometrite persistente pós-cobertura e se caracterizam pela sua incapacidade de eliminar o processo inflamatório em até 48 horas após a cobertura. De um modo geral, éguas susceptíveis apresentam características em comum, como idade avançada, histórico de falha reprodutiva em várias temporadas, histórico de episódios anteriores de endometrite e de perdas gestacionais (Troedsson, 1997). Além disso, estas éguas 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). Outra característica é o posicionamento do útero, que nestas éguas está projetado para o interior da cavidade abdominal, apresenta uma angulação maior e um nível mais baixo em relação ao assoalho da pelve, se comparado com o de éguas jovens e sadias. Esta posição dificulta a drenagem do conteúdo uterino (LeBlanc *et al.*, 1998). Ainda, a maioria destas éguas apresenta deficiência no fechamento vulvar (Troedsson, 1997).

Porém, o ponto central da susceptibilidade parece ser a menor capacidade de limpeza física uterina destas éguas em relação àquelas classificadas como resistentes. Elas apresentam um retardo de aproximadamente 2 horas para iniciar a resposta contrátil à presença de espermatozóides e bactérias em relação ao observado em éguas sadias. Nas éguas susceptíveis, esta atividade também tem uma duração menor (Troedsson *et al.*, 1993a). 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 susceptíveis 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 susceptíveis é a menor liberação de prostaglandina F $_{2\alpha}$ , após a inseminação artificial 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.*, 1993b), 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).

Fumoso *et al.* (2003), observaram durante o estro que a expressão de mRNA para Interleucina-1-beta

(IL-1 $\beta$ ), Fator de Necrose Tumoral-Alfa (FNT- $\alpha$ ), Interleucina 6 (IL-6) foi maior em éguas susceptíveis do que em éguas resistentes antes de um estímulo antigênico. Um quadro semelhante foi observado para a Interleucina 8 (IL-8) (Fumoso *et al.*, 2006). Pelos resultados obtidos foi sugerido que o estímulo deveria ultrapassar certo limiar para induzir uma transcrição coordenada de citocinas e que este limiar seria menor nas éguas susceptíveis do que nas resistentes (Fumoso *et al.*, 2003). Através de eletroforese bi-dimensional da secreção endometrial coletada antes da cobertura, foi observada densidade óptica superior em 12 proteínas da secreção de éguas susceptíveis, classificadas de acordo com a presença de líquido uterino 36 a 48 horas após a IA, comparada àquela de éguas resistentes (Malschitzky *et al.*, 2007). Os autores sugeriram que essas proteínas estariam relacionadas tanto à contratilidade uterina, quanto ao processo inflamatório, concordando com achados anteriores de que éguas susceptíveis apresentariam um nível exacerbado de resposta inflamatória (Fumoso *et al.*, 2003), mesmo antes do estímulo gerado pela cobertura.

Em éguas com acúmulo de líquido uterino no 2º dia após a ovulação a atividade proteolítica da plasmina, na secreção endometrial, não apresentou diferença em relação à de éguas que não acumularam líquido, enquanto que a capacidade inibitória da tripsina (CIT), método utilizado para verificar a inibição de proteases, foi menor (Reilas, 2001). Por outro lado, a expressão de mRNA para a citocina anti-inflamatória, IL-10, foi menor nas éguas susceptíveis do que nas éguas normais (Fumoso *et al.*, 2006). A IL-6 é considerada uma citocina de atividade tanto pró-inflamatória, numa fase inicial, como anti-inflamatória, num estágio mais tardio da inflamação (Kaplanski *et al.*, 2003; Mackay, 2000). Os autores atribuem parte da susceptibilidade a uma incapacidade dessas éguas em produzir citocinas para controlar a inflamação e à manutenção de um nível mais alto de duas citocinas pró-inflamatórias (IL-1 $\beta$  e FNT- $\alpha$ ), mesmo sem que haja qualquer estímulo. Nas éguas resistentes, foi considerada uma capacidade plena de aumentar a produção de citocinas pró-inflamatórias logo após a IA, e regular seu nível de expressão através do controle por citocinas anti-inflamatórias após a ovulação (Fumoso *et al.*, 2003).

#### *Intensidade da resposta à inflamação.*

Aparentemente, uma reação inflamatória mais intensa favoreceria uma recuperação mais rápida do endométrio. Amostras coletadas 48 horas após a inseminação artificial com 20 bilhões de espermatozoides, através de lavagem uterina com pequeno volume, de éguas resistentes à endometrite, apresentaram menor número de neutrófilos do que aquelas inseminadas com 2 bilhões (Nikolakopoulos e Watson, 2000). Não foi observada a presença significativa de bactérias em nenhum dos grupos, levando à conclusão de que uma dose inseminante maior leva a uma maior estimulação dos mecanismos de defesa uterina, tornando a resolução da inflamação, induzida pelo espermatozoide, mais rápida. Da mesma forma, foi observado que 24 horas após a IA o número de neutrófilos no estrato compacto de éguas inseminadas com 1 bilhão de espermatozoides era semelhante ao de éguas não inseminadas e menor do que o número observado em éguas inseminadas com 100 e 500 milhões (Fiala *et al.*, 2007b).

Verificando por histopatologia a inflamação endometrial após a inoculação de bactérias, Keller *et al.* (2004) observaram, em éguas resistentes, que quanto mais tempo permanecia o processo infeccioso maior era o número de neutrófilos no estrato compacto, em relação ao observado nas biópsias coletadas antes da inoculação. Nas éguas susceptíveis, este padrão não foi observado. Aparentemente, éguas susceptíveis que apresentaram uma endometrite aguda mais intensa, demonstrada por um aumento no número de neutrófilos em relação ao exame pré-infecção, eliminaram a infecção bacteriana em menor tempo. Por outro lado, nas éguas susceptíveis que permaneceram infectadas, não foi observada neutrofilia, mas predomínio de plasmócitos e linfócitos. Isso sugere que uma inflamação aguda é mais eficiente na remoção do agente bacteriano da luz uterina e que a inflamação crônica do endométrio pode influenciar negativamente a resposta aguda.

Estas características permitem concluir que a susceptibilidade é uma condição permanente. Entretanto, há situações na qual a susceptibilidade à EPPC poderia ser considerada um evento temporário, tanto em éguas virgens e jovens, quanto em éguas cobertas no cio do potro.

Durante o cio do potro, o útero está em processo de involução, apresentando um volume aumentado e posicionamento abaixo do nível do assoalho da pelve. A contratilidade uterina também é menor, facilitando o acúmulo de fluido uterino neste período. Estas características desaparecem a partir dos 23 dias após o parto, quando a involução uterina está completa, permitindo considerar o cio do potro como uma situação de susceptibilidade temporária à endometrite persistente pós-cobertura (Schilela *et al.*, 2001). Por outro lado, entre éguas virgens, que geralmente são consideradas resistentes à endometrite (Hughes e Loy, 1975; Evans *et al.*, 1987; LeBlanc, 1994), há algumas que desenvolvem endometrite após a cobertura devido a uma abertura insuficiente, ou um fechamento precoce da cérvix (LeBlanc, 2003). Este quadro foi descrito em éguas virgens com idade acima dos 12 anos por Pycock (1993), que mais tarde o caracterizou como “síndrome da égua virgem e velha” (Pycock, 2000). No entanto, em 16 casos de EPPC em éguas virgens e jovens, 75% apresentaram cérvix fechado à palpação retal 36-48 horas após a cobertura (Malschitzky *et al.*, 2006), concordando com a



observação de LeBlanc (2003) de que o mau funcionamento da cérvix é o principal fator predisponente para a endometrite persistente pós-cobertura em éguas virgens e pode ocorrer em qualquer idade. Este quadro tende a não se repetir depois que a égua tem seu primeiro parto (Pycock, 1993; LeBlanc, 2003).

#### *Identificação clínica da égua susceptível*

O reconhecimento das éguas susceptíveis é um problema, tanto para a pesquisa quanto na rotina clínica, pois não há, ainda, uma forma de classificação definitiva. A importância da identificação destas éguas está na necessidade do tratamento para a obtenção da prenhez.

Tradicionalmente trabalha-se com infecções experimentais com patógenos uterinos e considera-se que éguas que são incapazes de resolver o quadro inflamatório induzido pela bactéria, responderiam da mesma maneira à cobertura (Troedsson *et al.*, 1993c). O acompanhamento é geralmente feito através de citologia, bacteriologia e histopatologia do endométrio e, em alguns casos, através da observação da atividade contrátil do útero por eletromiografia e cintilografia (Troedsson, 1997). Em condições experimentais, a égua é considerada susceptível quando não é capaz de debelar o processo inflamatório em até 96 horas após a inoculação (Troedsson, 1995). No entanto, em rebanhos comerciais, este método é impraticável.

A presença de fluido uterino 48-96 horas após a cobertura, pode ser considerado como um parâmetro diagnóstico de EPPC. Éguas com acúmulo neste momento, apresentam taxa significativamente menor de prenhez e maior taxa de morte embrionária (Newcombe, 1997). No entanto, o diagnóstico neste momento, embora definitivo, pode resultar em menos tempo, maior custo e em menor sucesso na realização de tratamentos pós-cobertura (Malschitzky *et al.*, 2002).

Clinicamente, a presença de acúmulo de líquido uterino antes da cobertura, especialmente quando a altura ultrapassa dois centímetros, é o melhor indicativo de susceptibilidade. Embora este líquido geralmente não seja de origem inflamatória, ele indica que a égua apresenta alguma deficiência em sua capacidade de limpeza física, tendo-se observado que, dentre os demais parâmetros, este é o que apresentou maior concordância com a EPPC (Pycock *et al.*, 1997; Brinsko *et al.*, 2003).

Em éguas falhadas, Knutti *et al.* (2000) obtiveram êxito realizando lavagens uterinas em até 12 horas após a cobertura, quando classificaram as éguas como susceptíveis na presença de mais de dois centímetros de fluido endometrial antes da cobertura. Por outro lado, o exame e o tratamento de éguas com líquido intra-uterino 12 horas após a cobertura (Troedsson, 1997) nem sempre é viável na prática da clínica reprodutiva. Trabalhando com éguas no cio do potro, Schilela *et al.* (2001) observaram presença de líquido uterino 36-48 horas após a cobertura numa proporção significativamente maior nas éguas que apresentavam acúmulo de líquido pré-cobertura, do que naquelas sem líquido durante os exames prévios ao serviço. Utilizando o líquido pré-cobertura como critério para a seleção das éguas a serem submetidas à lavagem uterina entre 6 e 12 horas após a monta, Malschitzky *et al.* (2002), observaram uma redução na taxa de morte embrionária nas éguas tratadas, em relação às éguas do grupo controle. Em outro experimento, Malschitzky *et al.* (2003) demonstraram que a presença de líquido antes da realização do serviço, sem a realização de tratamento pós-cobertura, levou a uma taxa de morte embrionária superior do que a observada em éguas que não apresentavam líquido pré-cobertura.

Assim, a identificação do líquido antes da cobertura, além de servir como critério para seleção das éguas a serem examinadas 12 horas após a cobertura, pode ser utilizado para selecionar aquelas que devem ser submetidas a tratamentos pós-cobertura. Uma vez determinadas as éguas susceptíveis, pode-se adotar alguma estratégia para garantir o sucesso reprodutivo.

Partindo-se da premissa de que apenas éguas sadias serão cobertas, a expectativa é de que a citologia pré-cobertura deverá ser negativa. O resultado do exame histopatológico, por sua vez, pode ser um bom indicador de susceptibilidade apenas para os grupos extremos da classificação tradicional de Kenney e Doig (1986). Assim, éguas classificadas como grupo 1 (sem alterações inflamatórias ou degenerativas) são em sua maioria resistentes, enquanto éguas classificadas no grupo 3 são, em geral, susceptíveis. Nas categorias intermediárias, onde se encontram a maioria das éguas de um rebanho, este exame não é um bom indicador. Especialmente nestes casos, o histórico de episódios de endometrite pode servir de alerta, sendo mais indicativo que a classificação do exame histopatológico.

### **Tratamentos**

Deve-se buscar a realização de uma única cobertura, preferencialmente antes da ovulação, o que pode ser obtido com um bom controle reprodutivo, e com a utilização de agentes indutores de ovulação. Embora o espermatozoide seja o principal causador da inflamação pós-cobertura, é fundamental um controle da higiene da região perineal da égua, seja antes da monta natural ou da inseminação artificial. Esta, quando permitida, pode beneficiar éguas susceptíveis. Em éguas vazias do ano anterior, grupo no qual se encontra a maioria das éguas susceptíveis e em éguas no cio do potro, grupo com predisposição à EPPC, a utilização da inseminação artificial resultou em taxas superiores de prenhez em comparação àquela obtida com a monta natural (Mattos *et al.*, 1996).

Quando a inseminação artificial foi utilizada em éguas com potro, a prenhez obtida após tratamentos pós-cobertura não se diferenciou da observada em éguas com potro não tratadas. Entretanto, nas éguas servidas por monta natural a realização de tratamentos pós-cobertura resultou em melhora na taxa de prenhez em relação às não tratadas. (Mattos *et al.*, 1999).

A utilização de tratamentos pós-cobertura, sem prejuízo da fertilidade, é possível devido a particularidades anatômicas da égua, como a posição do oviduto em relação ao útero, que fica em um nível mais baixo, e à existência de um esfíncter na junção útero-tubárica. Além disso, os espermatozóides capazes de realizar a fertilização estão protegidos no istmo da tuba uterina. Trinta minutos após a IA já são observados espermatozóides nas trompas (Fiala *et al.*, 2007a), estando o transporte completo após 4 horas. Durante o intervalo entre a ovulação e a chegada do embrião ao útero, em torno do 5º dia após a ovulação, o corpo lúteo ainda não está maduro, o que garante que a PgF2 $\alpha$ , liberada pela manipulação do útero não induza sua lise.

Lavagens uterinas são, provavelmente, a melhor forma de realizarmos a limpeza física do útero. Não há necessidade de se trabalhar com sistemas fechados, podendo-se utilizar sifonagem simples (Asbury e Lyle, 1993). Em lavagens realizadas nas primeiras 12 horas após a cobertura, pode-se esperar a retirada de material purulento, já que esse período coincide com o pico da inflamação induzida pelo espermatozóide. Em tratamentos pós-cobertura, recomenda-se a utilização de soluções tamponadas, ou ringer com lactato. Geralmente volumes de 2 litros por lavagem são suficientes para obter uma boa distensão da parede uterina e permitir o contato da solução infundida com toda a superfície mucosa. Recomenda-se a realização de pelo menos 3 a 4 sifonagens, uma vez que foi demonstrado que a maior quantidade de debris é retirada entre a 2ª e a 3ª repetição (Mattos *et al.*, 1997a).

Lavagens uterinas realizadas entre 6 e 12 horas após a cobertura resultaram em melhores taxas de prenhez em éguas com histórico de endometrite persistente pós-cobertura em vários ciclos consecutivos (Knutti *et al.*, 2000). Infusões de antibióticos realizadas antes de passadas 12 horas da cobertura, não apresentaram vantagens em relação a tratamentos com lavagens uterinas ou a aplicação de ocitocina. Por outro lado, a taxa de prenhez de éguas com fluido uterino e submetidas a lavagens uterinas, 36 a 48 horas após a cobertura, foi inferior à de éguas que não apresentaram EPPC (Malschitzky *et al.*, 2002). Lavagens uterinas realizadas 24 horas após uma infecção experimental não foram eficientes na eliminação bacteriana (Mattos *et al.* 1997a), possivelmente devido à aderência bacteriana à parede do endométrio. Portanto, os tratamentos devem ser sempre realizados tendo como referência o momento da cobertura e não o da ovulação, preferencialmente entre 6 e 12 horas após o serviço, antes do estabelecimento de uma infecção bacteriana e sem prejuízo para o transporte espermático e para a sobrevivência do corpo lúteo.

Uma alternativa à utilização da lavagem uterina é a administração de drogas ecbólicas, como a ocitocina (LeBlanc, 1994) ou a prostaglandina F2 $\alpha$  (Cadario *et al.*, 1995). A ocitocina é tradicionalmente utilizada na dose de 10 a 20 UI, entre 6 e 12 horas após a cobertura. Tratamentos realizados no momento da cobertura demonstraram prejudicar o transporte espermático (Mattos *et al.*, 1999). Estudos demonstram um melhor efeito na evacuação mecânica do útero com doses menores (2,5 a 5 UI), enquanto que com doses mais altas, o efeito obtido é de uma contração única e de longa duração, que não resulta na drenagem eficiente do conteúdo uterino. A prostaglandina, embora resulte em um período mais longo de atividade mioelétrica (Troedsson *et al.*, 1995), tem um efeito semelhante ao obtido com altas doses de ocitocina. Além disso, a utilização de cloprostenol, com maior resposta em termos de contração miométrial que a ocitocina e a PGF2 $\alpha$ , resultou em uma redução do nível de progesterona circulante entre o 3º e o 5º dia após a ovulação. O reflexo desta redução no nível de progesterona foi uma queda na taxa de prenhez em éguas tratadas em comparação à do grupo controle (Nie *et al.*, 2002).

Quando o diagnóstico de EPPC é realizado após 36-48 horas da cobertura, um intervalo comumente utilizado para a reavaliação das éguas cobertas em grandes criatórios, os tratamentos devem considerar, além da limpeza física, a necessidade de combater uma provável infecção bacteriana. Os tratamentos mais utilizados são infusões com antibióticos, infusões com plasma sanguíneo e plasma enriquecido com leucócitos. Os tratamentos podem ser combinados entre si e com a utilização de lavagens uterinas, ou ocitocina. Além do efeito direto do material infundido, a distensão gerada pela infusão induz também contrações uterinas e leva a uma diluição da secreção uterina, o que facilita a sua evacuação.

Tratamentos com infusões de antibiótico após a cobertura são realizados há mais de 13 anos, com relatos clínicos de bons resultados (Zent, 1993). Pascoe (1995) demonstrou que a adição de plasma homólogo à infusão com antibióticos, realizadas 36-48 horas após a cobertura, melhorou a taxa de prenhez e parição das éguas tratadas em relação à observada nas éguas não tratadas ou que receberam somente a infusão de antibióticos. O autor atribuiu a melhora observada a uma fagocitose mais eficiente pelos neutrófilos uterinos, auxiliados por componentes do sistema complemento e imunoglobulinas presentes no plasma sanguíneo. Nesta mesma linha, Mattos *et al.* (1997b, 1999) observaram melhora significativa na taxa de prenhez em éguas falhadas e com potro ao pé, recebendo infusões de plasma enriquecido com leucócitos, 12 a 36 horas após a cobertura. Através desta técnica mais de 80% dos leucócitos coletados no sangue total são mantidos no plasma,

sendo que mais de 95% deles são viáveis (Castilho *et al.*, 1997). Com a utilização desta infusão, os autores concluíram que, além dos fatores de opsonização presentes no plasma, um número extra de neutrófilos capazes de realizar fagocitose era adicionado ao ambiente uterino. Em éguas susceptíveis a utilização de leucócitos heterólogos e congelados, resultou na cura da endometrite induzida pela infecção experimental com *Streptococcus* num tempo similar àquele observado em éguas tratadas com plasma homólogo acrescido de leucócitos frescos (Neves *et al.*, 2007).

Em éguas susceptíveis, a administração de imuno-moduladores no momento da inseminação, alterou a expressão de mRNA para citocinas em resposta à presença do espermatozóide. Após o tratamento, não foi observada diferença entre éguas susceptíveis e resistentes quanto à IL-1 $\beta$ , FNT- $\alpha$ , IL-6 e IL-8, tanto 24 horas após a IA como no 7º dia do diestro. Entretanto, nas éguas susceptíveis após a IA, mas sem tratamento com o imuno-modulador, uma redução de expressão de mRNA para a IL-1 $\beta$  e um aumento da expressão mRNA para a IL-10 foi observada nas amostras coletadas 24 horas após a IA em relação às éguas resistentes. Nas amostras do diestro, não foram observadas diferenças entre éguas resistentes e susceptíveis, quanto à expressão de mRNA para a IL-10 (Fumoso *et al.*, 2003, 2006). A conclusão dos autores é de que é possível reduzir a diferença quanto à transcrição de citocinas entre éguas resistentes e susceptíveis, com a administração de um imuno-modulador.

Embora o efeito do imuno-modulador sobre a expressão de importantes citocinas tenha sido bem caracterizado, um efeito sobre a fertilidade de éguas susceptíveis ainda não foi demonstrado. Não foram observadas diferenças na taxa de prenhez em éguas susceptíveis à EPPC tratadas e não tratadas (Rohrbach *et al.*, 2006). Da mesma forma, não se observaram diferenças na taxa de prenhez, de éguas com inflamação uterina diagnosticada através de citologia endometrial, em comparação à de éguas não tratadas, embora tenham apresentado uma melhora do quadro citológico com o tratamento, (Zingher, 1996). Por outro lado os melhores resultados de prenhez obtidos por Dell'Aqua Jr *et al.* (2006) com o uso de corticóides no período peri-ovulatório, podem ser um indicativo de que o efeito imuno-modulador pode ter efeitos positivos na fertilidade. Com base no histórico de acúmulo de fluido uterino, éguas resistentes e susceptíveis foram submetidas a tratamento com acetato de prednisolona a cada 12 horas, iniciando 2 dias antes e continuando até 1 dia após a ovulação. Todas as éguas foram inseminadas com sêmen congelado em dois ciclos reprodutivos, sendo o primeiro sem tratamento e o segundo com a utilização de corticóide. Enquanto em éguas sadias não se observou diferença nas taxas de prenhez de éguas tratadas e não tratadas (40% vs. 48%), em éguas com histórico de episódios sucessivos de EPPC, uma taxa de prenhez superior foi obtida nas éguas tratadas (67%) em relação ao controle (5%). Embora tenha sido observada uma redução na função dos neutrófilos coletados 2 horas após a IA no grupo tratado, uma redução no volume de fluido uterino e um aspecto mais límpido do fluido coletado foi descrito. Provavelmente, a melhora no aspecto da secreção uterina e na taxa de prenhez observada por Dell'Aqua Jr *et al.* (2006) possam ser explicadas pela redução na expressão gênica de várias citocinas, como IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-4, IL-3, IL-5, IL8, causada pelos corticóides, diminuindo assim a inflamação. Outros efeitos, causados pela administração de glicocorticóides, são a menor síntese de óxido nítrico (ON) e das enzimas responsáveis pela síntese de prostaglandinas e leucotrienos, além de diminuir a atividade de moléculas de adesão, o que reduz a migração dos leucócitos dos vasos sanguíneos (Janeway *et al.*, 1999).

Proteínas da secreção uterina poderiam ser utilizadas como marcadores de susceptibilidade. No entanto, devido à grande interação entre as moléculas inflamatórias e suas diferentes funções (Tizard, 1998), deve-se ter precaução ao eleger proteínas isoladas como marcadoras de susceptibilidade. A utilização de inibidores de algumas enzimas e citocinas para o tratamento de éguas reconhecidamente susceptíveis à EPPC, pode ser testada a exemplo do que ocorre em doenças inflamatórias de humanos (Dinarello, 2004).

Finalmente, embora seja possível, com novas tecnologias, conhecer mais profundamente os eventos moleculares que ocorrem no útero da égua, é fundamental, conforme recomenda Rossdale (1997), não deixar que este órgão passe a ser primariamente um assunto para pesquisa, mais do que um órgão central à reprodução.

## Referências

- Alghamdi AS, Foster DN, Troedsson MHT.** Equine seminal plasma reduces sperm binding to polymorphonuclear neutrophils (PMNs) and improves the fertility of fresh semen inseminated into inflamed uteri. *Reproduction*, v.127, p.593-600, 2004
- Alghamdi AS, Troedsson MHT.** Concentration of nitric oxide in uterine secretion from mares susceptible and resistant to chronic post-breeding endometritis. *Theriogenology*, v.58, p.445-448, 2002.
- Asbury AC.** Uterine defense mechanisms in the mare: the use of plasma in the management of endometritis. *Theriogenology*, v. 21, p.387-393, 1984.
- Asbury AC, Lyle SK.** Infectious causes of infertility. In: Mckinnon AO, VOSS JL (Ed.). *Equine reproduction*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. p.381-391.
- Brinsko SP, Rigby SL, Varner DD, Blanchard TL.** A practical method for recognizing mares susceptible to post-breeding endometritis. In: Annual Convention of the AAEP, 49, 2003, New York. New York: IVIS, 2003.



www.ivis.org. Document N° P0657.1103

**Cadario M.E, Thatcher MJD, LeBlanc MM.** Relationship between prostaglandin and uterine clearance of radiocolloid in the mare. *Biol Reprod Mono*, n.1, p.495-500, 1995.

**Caslick EA.** The vulva and the vulvo-vaginal orifice and its relation to genital health of the Thoroughbred mare. *Cornell Vet*, v.27, p.178-187, 1937.

**Castilho LFF, Zerbe H, Rabe U, Leibold W, Klug E.** Isolierung und Gefrierkonservierung von immunokompetenten polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten zur Endometritisbehandlung beim Pferd. *Pferdeheilkunde*, v.13, p.437-444, 1997.

**Curry Jr TE, Osteen KG.** Cyclic Changes in the Matrix Metalloproteinase System in the Ovary and Uterus. *Biol Reprod*, v.64, p.1285-1296, 2001.

**Dell'Aqua Jr JA, Papa FO, Lopes MD, Alvarenga MA, Macedo LP, Melo CM.** Modulation of acute uterine inflammatory response after artificial insemination with equine frozen semen. *Anim Reprod Sci*, v.94, p.270-273, 2006.

**Dinarelo CA.** Therapeutic strategies to reduce IL-1 activity in treating local and systemic inflammation. *Curr Opin Pharmacol*, v.4, p.378-385, 2004.

**Evans MJ, Hamer JM, Gason LM, Irvine AC.** Factors affecting uterine clearance of inoculated materials in mares. *J Reprod Fertil Suppl*, v.35, p.327-342, 1987.

**Fiala SM, Jobim MIM, Gregory RM, Mattos RC.** Sperm transport in the oviduct and uterus after AI in different times. *Pferdeheilkunde*, 2007a. Aceito para publicação,

**Fiala SM, Pimentel CA, Mattos ALG, Gregory RM, Mattos, RC.** Effect of sperm numbers and concentration on sperm transport and uterine inflammatory response in the mare *Theriogenology*, v.67, p.556-562, 2007b.

**Fiala SM, Pimentel CA, Steiger K, Mattos ALG, Gregory RM, Mattos RC.** Effect of skim milk and seminal plasma uterine infusions in mares. *Theriogenology*, v.58, p.491-494, 2002.

**Fumoso E, Giguère S, Wade J, Rogan D, Videla-Dorna I, Bowden RA.** Endometrial IL-1 $\beta$ , IL-6 and TNF- $\alpha$ , mRNA transcriptions in mares resistant or susceptible to persistent post-breeding endometritis. Effects of estrous cycle, artificial insemination and immunomodulation. *Vet Immunol Immunopathol*, v.96, p.31-41, 2003.

**Fumoso E, Aguilar J, Giguère S, David O, Wade J, Rogan D.** Interleukin-8 (IL-8) and 10 (IL-10) mRNA transcriptions in the endometrium of normal mares and mares susceptible to persistent post-breeding endometritis. *Anim Reprod Sci*, v.94, p.282-285, 2006.

**Hinrichs K, Cummings MR Sertich PL, Kenney RM.** 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.

**Hughes JP, Loy RG.** The relation of infection and infertility in the mare and stallion. *Equine Vet. J*, v.7, p.155-159, 1975.

**Jones DM, Fielden ED, Carr DH.** Some physiological and pharmacological factors affecting uterine motility as measured by electromyography in the mare. *J Reprod. Fertil Suppl*, v.44, p.357-358, 1991.

**Janeway CA, Travers P, Walport M (Ed.).** *Immunobiology*. 4<sup>th</sup> Ed. London: Current Biol Publishers, 1999, 635pp.

**Kaplanski G, Marin V, Montero-Julian F, Mantovani A, Franarier C.** IL-6: a regulator of the transition from neutrophil to monocyte recruitment during inflammation. *Trends Immunol*, v.24, p.25-29, 2003.

**Katila T.** Onset and duration of uterine inflammatory response in mares after insemination with fresh semen. *Biol Reprod Mono*, n.1, p.515-518, 1995.

**Katila T, Lock TF, Hoffmann WE, Smith AR.** Lysozyme alkaline phosphatase and neutrophils uterine secretions of mares with differing resistance to endometritis. *Theriogenology*, v.33, p.723-732, 1990.

**Keller A, Neves AP, Aupperle H, Steiger K, Schoon H-A, Klug E, Gregory RM, Mattos RC.** Exame histopatológico do endométrio da égua após infecções experimentais repetidas e cinco diferentes tratamentos: aspectos inflamatórios. *Acta Sci Vet*, v.32, p.215-223, 2004.

**Kenney RM, Doig PA.** *Equine endometrial biopsy*. In: Morrow DA. (Ed.). *Current therapy in theriogenology*. 2<sup>nd</sup> ed. Philadelphia: WB Saunders, 1986. p.723-729.

**Knutti B, Pycocock JF, Van der Wijden GC, Küpfer U.** The influence of early postbreeding uterine lavage on pregnancy rate in mares with intrauterine fluid accumulations after breeding. *Equine Vet Educ*, v.12, p.276-270, 2000.

**Kotilainen T, Huhtinen M, Katila T.** Sperm-induced leucocytosis in the equine uterus. *Theriogenology*, v.41, p.629-636, 1994.

**LeBlanc MM.** Oxytocin – the new wonder drug for treatment of endometritis? *Equine Vet Educ*, v.6, p.39-43, 1994.

**LeBlanc MM.** Persistent mating induced endometritis. In: Robinson, N.E. (ed.) *Current therapy in equine medicine* 5. Philadelphia: WB Saunders, 2003. p.234-237.

**LeBlanc MM, Asbury AC, Lyle SK.** Uterine clearance mechanisms during the early postovulatory period in mares. *Am J Vet Res*, v.50, p.864-867, 1989.



- LeBlanc MM, Johnson RD, Calderwood MB, Valderrama C.** Lymphatic clearance of india ink in reproductively normal mares and mares susceptible to endometritis. *Biol Reprod Mono*, n.1, p.501-506, 1995.
- LeBlanc MM, Neuwirth L, Asbury AC, 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 MM, Neuwirth L, Jones L, Cage C, Mauragis D.** Differences in uterine position of reproductively normal mares and those with delayed uterine clearance detected by scintigraphy. *Theriogenology*, v.50, p.49-54, 1998.
- Liu IKM, Cheung ATW.** 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.
- Mackay RJ.** Inflammation in horses. *Vet Clin North Am Equine Pract*, v.16, p.15-27, 2000.
- Malschitzky E, Fiala SM, Jobim MIM, Esmeraldino AMT, Garbade P, Gregory R M, Mattos RC.** Perfil protéico da secreção endometrial pura em éguas resistentes e susceptíveis á endometrite persistente pós-cobertura. In: Malschitzky E. *Artigo 4: Avaliação do perfil protéico da secreção endometrial da égua.* 2007. 131f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2007. p.78-93
- Malschitzky E, Schilela A, Mattos ALG, Garbade P, Gregory RM, Mattos RC.** 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.
- Malschitzky E, Schilella A, Mattos ALG, Garbade P, Gregory R M, Mattos R C.** Pregnancy and embryo loss rates in non-lactating mares bred in the first or in other estrus cycles during the breeding season. *Pferdeheilkunde*, v.19, p.641-645, 2003.
- Malschitzky E, Trein CR, Bustamante Filho IC, Garbade P, Gregory RM, Mattos RC.** Young maiden mares can also be susceptible to persistent mating-induced endometritis. *Pferdeheilkunde*, v.22, p.201-204, 2006.
- Mattos R, Castilho LFF, Malschitzky E, Keller A, Gregory RM, Mattos RC.** Uterine lavage with saline in mares as treatment for endometritis. *Pferdeheilkunde*, v.13, p.521-524, 1997a
- Mattos RC, Cavalheiro EP, Mattos R, Gregory RM.** Monta natural e inseminação artificial com sêmen fresco diluído em éguas árabe. *Arq Fac Vet UFRGS*, v.24, p.57-64, 1996.
- Mattos RC, Malschitzky E, Gregory RM.** Effect of different postbreeding treatments on fertility of Thoroughbred mares. *Pferdeheilkunde*, v.13, p.512-515, 1997b.
- Mattos RC, Meirelles L S, Malschitzky E, Neves AP, Mattos ALG, Vieira MJ, Keller, A, Hött AK, Gregory RM.** Oxytocin, plasma containing leukocytes or combination of both as treatment of postbreeding endometritis. *Pferdeheilkunde*, v.15, p.584-587, 1999.
- Neves AP, Keller A, Trein CR, Möller G, Jobim MIM, Castilho LFF, Cardozo MI, Leibold W, Klug E, Gregory RM, Mattos RC.** Use of leukocytes as treatment for endometritis in mares experimentally infected with *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus*. *Anim Reprod Sci*, v.97, p.314-322, 2007.
- Newcombe JR.** The effect of the incidence and depth of intra-uterine fluid in early dioestrus on pregnancy rate in mares. *Pferdeheilkunde*, v.13, p.545, Resumo, 1997.
- Nie GJ, Johnson KE, Wenzel JGW, Braden TD.** Effect of periovulatory ecbolics on luteal function and fertility. *Theriogenology*, v.58, p.461-463, 2002.
- Nikolakopoulos E, Watson ED.** Effect of infusion volume and sperm numbers on persistence of uterine inflammation in mares. *Eq Vet J*, v.32, p.164-166, 2000.
- Nikolakopoulos E, Kindahl H, Watson ED.** Oxytocin and PGF-2 alpha release in mares resistant and susceptible to persistent mating induced endometritis. *J Reprod Fertil Suppl*, n.56, p.363-372, 2000.
- Oddsottir C, Riley SC, Leask R, Watson ED.** Activities of matrix metalloproteinases-9 and -2 are increased in acute equine endometritis. *Anim Reprod Sci*, v.94 p.280-281, 2006.
- Pascoe DR.** Effect of adding autologous plasma to an intrauterine antibiotic therapy after breeding on pregnancy rates in mares. *Biol Reprod Mono*, n.1, p.539-543, 1995.
- Pascoe DR.** 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.
- Pycock JF.** Cervical function and uterine fluid accumulation in mares. *Equine Vet J*, v.25, p.191, Resumo, 1993.
- Pycock JF.** Breeding management of the problem mare. In: Samper JC (Ed.). *Equine breeding management and artificial insemination*. Philadelphia: WB Saunders, 2000. p.195-228
- Pycock JF, Allen WE.** Inflammatory components in uterine fluid from mares with experimentally induced bacterial endometritis. *Equine Vet J*, v.22, p.422-425, 1990.
- Pycock JF, Paccamonti D, Jonker H, Newcombe J, Van Der Weijden G, Taverne, M.** Can mares be classified as resistant or susceptible to recurrent endometritis? *Pferdeheilkunde*, v.13, p.431-436, 1997.
- Reilas T.** *Uterine luminal environment of the mare.* 2001. 391f. Academic Dissertation – Väterinary Medicine Faculty, University of Helsinki, Finlândia, 2001.
- Reitzenstein M, Callahan MA, Hansen P, LeBlanc MM** Aberrations in uterine contractile patterns in mares with delayed uterine clearance after administration of detomidine and oxytocin. *Theriogenology*, v.58, p.887-



898, 2002.

**Rohrbach B, Sheerin P, Steiner J, Matthews P, Cantrell C, Dodds L.** Use of *Propionibacterium acnis* as adjunct therapy in treatment of persistent. *Anim Reprod Sci.* v.94, p.259-260, 2006.

**Rossdale PD.** The uterus, an organ of many roles. *Pferdeheilkunde*, v.13, p.427-439, 1997.

**Schilela A, Malschitzky E, Mattos ALG, Garbade P, Gregory RM, Mattos RC.** Effect of accumulation of intra-uterine fluid before and after the first postpartum ovulation on pregnancy rates in the mare. *Pferdeheilkunde*, v.17, p.639-643, 2001.

**Schoon HA, Schoon D, Klug E.** Vascular lesions in the equine endometrium. *Pferdeheilkunde*, v.13, p.546, 1997.

**Tizard I.** *Imunologia veterinaria*. São Paulo: Roca, 1998. 545p.

**Troedsson MHT.** Therapeutic considerations for mating-induced endometritis. *Pferdeheilkunde*, v.13, p.516-520, 1997.

**Troedsson MHT.** Uterine response to semen deposition in the mare. *In: Annual Meeting of Society for Theriogenology, 1995, San Antonio, TX. Proceedings ... San Antonio, TX: Society for Theriogenology, 1995.* p.130-134.

**Troedsson MHT, Desvougues A, Alghamdi AS, Dahms B, Dow CA, Hayna J, Valesco R, Collahan PT, Macpherson ML, Pozor M.** Components in seminal plasma regulating sperm transport and elimination. *Anim Reprod Sci.* v.89, p.171-186, 2005.

**Troedsson MHT, Desvougues AL, Hansen PJ, Buhi WC.** Equine seminal plasma proteins protect live spermatozoa from PMN-binding and phagocytosis, while providing a mechanism for selective sperm elimination of apoptotic and dead spermatozoa. *Anim Reprod Sci.* v.94, p.60-61, 2006.

**Troedsson MHT, Lee CS, Franklin RD, Crabo BG.** The role of seminal plasma in post-breeding uterine inflammation. *J Reprod Fertil Suppl.* v.56, p.341-349, 2000.

**Troedsson MHT, Liu IKM, Crabo BG.** Sperm transport and survival in the mare: a review. *Theriogenology*, v.50, p.807-818, 1998.

**Troedsson MHT, Liu IKM, Ing M, Pascoe J.** Smooth muscle electrical activity in the oviduct, and the effect of oxytocin and prostaglandin F2 $\alpha$  and prostaglandin E2 on the myometrium and the oviduct of the cycling mare. *Biol Reprod Mono.* n.1, p.475-488, 1995.

**Troedsson MHT, Liu IKM, Ing M, Pascoe J, Thurmond MJ.** Multiple site electromyographic 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, 1993a.

**Troedsson MHT, Liu IKM, Thurmond M.** Function of uterine and blood-derived polymorphonuclear neutrophils in mares susceptible and resistant to chronic uterine infection: phagocytosis and chemotaxis. *Biol Reprod.* v.49, p.507-514, 1993b.

**Troedsson MHT, Liu IKM, Thurmond M.** Immunoglobulin (IgG and IgA) and Complement (C3) concentrations in uterine secretion following an intrauterine challenge of *Streptococcus zooepidemicus* in mares susceptible to versus resistant to chronic uterine infection. *Biol Reprod.* v.49, p.502-506, 1993c.

**Watson ED.** Uterine defense mechanisms in mares resistant and susceptible to persistent endometritis: a review. *Equine Vet J.* v.20, p.397-400, 1988.

**Zent W.** Post-ovulation antibiotics. *Equine Vet. J.* v.25, p.191, Resumo, 1993.

**Zingher AC.** Effects of immunostimulation with *Propionibacterium acnis* (EqStim®) in mares cytologically positive for endometritis. *J Equine Vet Sci.* v.16, p.100-103, 1996.

---