



Endométrio da égua pós-cobertura – ênfase na resposta inflamatória

Post-breeding endometrium of the mare – emphasis on inflammatory response

Sandra Fiala Rechsteiner¹

HISTOREP- Departamento de Morfologia- Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil.

¹Correspondência: sandrafiala@yahoo.com.br

Resumo

O útero da égua, após a cobertura ou inseminação artificial é invadido por espermatozoides, bactérias e debris e se torna um ambiente adverso, consequência de uma reação inflamatória fisiológica. Este processo tem como objetivo remover o excesso de espermatozoides, plasma seminal, diluentes e contaminantes antes da entrada do embrião no útero. O objetivo deste trabalho é revisar alguns dos fatores que afetam a resposta inflamatória após a cobertura no endométrio de éguas.

Palavras-chave: égua, reação inflamatória, útero.

Abstract

The mare's uterus, after artificial insemination or breeding is invaded by sperm cells, bacteria and debris and becomes an adverse environment as a consequence of a physiological inflammatory reaction. This process aims to remove excess spermatozoa, seminal plasma, extenders and contaminants before the embryo enters the uterus. The objective of this work is to review some of the factors that affect the endometrial inflammatory response after breeding in the mare.

Keywords: mare, inflammatory reaction, uterus.

Introdução

Estudos prévios demonstram que o sêmen possui grande importância na regulação da inflamação pós-cobertura, em éguas (Troedsson, 1995). A quimiotaxia de neutrófilos polimorfonucleares (PMNs) é induzida por espermatozoides, do sangue para o lúmen uterino, através da ativação do sistema do complemento (Troedsson et al., 1995a), o pico da reação inflamatória ocorre entre 8 a 24 horas após a introdução do sêmen com a detecção dos primeiros neutrófilos no lúmen uterino em torno de 30 minutos após a inseminação (Katila, 1995).

Além dos espermatozoides, a infusão de plasma seminal e de diluente provoca uma resposta inflamatória (Fiala, 2004; Palm et al., 2006; Palm et al., 2008). Há diferença no padrão da resposta inflamatória, uma vez que os componentes da dose inseminante, espermatozoides, plasma seminal e diluente, influenciam, de diferentes maneiras, a característica e o grau da reação inflamatória (Sieme et al., 1997). A inseminação de pequenos volumes provoca menor drenagem mecânica do útero e as altas concentrações de espermatozoides causam maior irritação pelo contato destes com o endométrio, predispondo às reações inflamatórias mais intensas (Kotilainen et al., 1994).

O plasma seminal inibe a ativação do complemento e a quimiotaxia dos leucócitos polimorfonucleares, além de suprimir temporariamente a fagocitose dos espermatozoides pelos PMNs, o que possibilitaria que um número suficiente de espermatozoides atingisse os ovidutos antes da ocorrência da resposta inflamatória, sem serem fagocitados, permitindo a fertilização (Troedsson et al., 1998; Troedsson et al., 1999) e poderia atrasar a eliminação dos espermatozoides do trato feminino após a cobertura (Palm et al., 2008). Espermatozoides também podem ser observados dentro das glândulas uterinas 1 hora após a inseminação, período corresponde ao início da resposta inflamatória (Fiala et al., 2008).

A adição de diluentes ao sêmen é fundamental para a preservação do mesmo, aumentando a sobrevivência dos espermatozoides e protegendo-os de condições desfavoráveis (Pickett e Amann, 1987). O leite é um dos ingredientes mais utilizados em diluentes de sêmen equino (Ebertus, 1963). Quando infundido no útero de éguas, provoca uma menor resposta inflamatória, em comparação à provocada pelos espermatozoides (Kotilainen et al., 1994; Bergman e Kruijff, 1997).

O objetivo deste trabalho foi revisar os principais fatores relacionados a resposta inflamatória pós-cobertura no útero da égua.

Efeito do espermatozoide no útero

A introdução de espermatozoides no trato reprodutor feminino produz uma forte resposta neutrofilica em várias espécies animais (Cohen, 1984), inclusive em éguas (Kotilainen et al., 1994). A endometrite pós-cobertura é

uma resposta inflamatória transitória contra os espermatóides que são depositados dentro do da égua no momento da cobertura (Fedorka et al., 2017).

Espermatozoides equinos, tanto *in vivo* como *in vitro*, são capazes de induzir quimiotaxia de PMNs através da ativação do complemento, sendo a atividade do complemento previamente identificada no útero da égua (Asbury et al., 1982; Watson et al., 1987; Troedsson et al., 1993).

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 a fim de evitar a ação de anticorpos, ou a resposta imune celular contra os espermatozoides no trato reprodutivo da fêmea.

A resposta neutrofílica é muito rápida. Katila (1995) encontrou os primeiros neutrófilos 30 minutos após a IA, sendo que os níveis mais altos foram observados entre quatro e 24 horas, com ponto máximo às oito horas. Bergmann & de Kruiff (1997) também observaram uma maior resposta oito horas após a inseminação com sêmen fresco ou sêmen fresco diluído.

Kotilainen et al. (1994), observando uma maior reação inflamatória após a inseminação com sêmen congelado, sugeriram que esta poderia ter sido causada pelo grande número de espermatozoides mortos. Katila (1997) não verificou diferença na resposta inflamatória após inseminação com 1×10^9 espermatozoides vivos ou mortos. Reilas (2001) sugeriu que as taxas de prenhez mais baixas, após a inseminação com sêmen congelado, foram causadas pela maior reação inflamatória, já que a inseminação com sêmen congelado é realizada perto da ovulação e que o período de tempo antes do fechamento da cérvix é curto, o que impediria que éguas susceptíveis eliminassem o material inflamatório em tempo hábil. Güvenc et al., (2005) não observaram uma inflamação maior quando o sêmen congelado era depositado na ponta do corno uterino comparada a inseminação no corpo do útero, enquanto Cazales et al., (2016) verificaram uma maior reação inflamatória no corpo do útero independente do volume e dose utilizados. Neste estudo a inflamação diminuiu com o aumento da dose e volume inseminado, levando os autores à conclusão de que o local da deposição do sêmen e número total de espermatozoides afetam a reação inflamatória após a inseminação com sêmen congelado.

Kotilainen et al., (1994) observaram que a reação inflamatória é maior quando o sêmen está mais concentrado, assim como observado por Cazales et al., (2016), devido ao efeito irritante do espermatozoide no útero, porém essa resposta inflamatória, sendo mais severa, apresenta resolução mais rápida, quanto maior for esta concentração espermática (Fiala, 2004; Cazales et al., 2016), fato que corrobora com os achados de Nikolakopoulos e Watson (2000) que detectaram números maiores de PMNs 48 horas após a infusão de 40 ml de sêmen diluído contendo apenas 2×10^9 espermatozoides do que após inseminação de 20×10^9 espermatozoides. O volume a ser inseminado também provoca alterações na resposta inflamatória, uma vez que um volume pequeno resultaria em prejuízo na drenagem mecânica, enquanto volumes maiores (100 ml) provocariam maior refluxo de espermatozoides através da cérvix (Kotilainen et al., 1994).

A perfusão uterina também se encontra aumentada após a inseminação artificial (Ferreira et al., 2015).

Efeito do plasma seminal no útero

O plasma seminal participa da resposta imunológica fisiológica que ocorre após a inseminação (Kotilainen et al., 1994) e contém fatores envolvidos na capacitação e na reação acrossômica (Calvete et al., 1997; Brandon et al., 1999), necessários para a fertilidade normal.

Troedsson et al. (1999) observaram que o plasma seminal equino ao contrário dos espermatozoides, inibe a ativação do complemento e suprime a quimiotaxia dos PMNs, além de suprimir temporariamente a fagocitose dos espermatozoides pelos PMNs (Troedsson et al., 1998; Troedsson et al., 1999).

Kotilainen et al. (1994), observaram que a adição de plasma seminal ao sêmen congelado provocou um acréscimo no número de neutrófilos, semelhante ao causado pela inseminação com sêmen congelado. Estes autores também encontraram PMNs em lavados uterinos após infusão de plasma seminal congelado. Enquanto que Troedsson (1995) sugeriu que a remoção do plasma seminal do sêmen congelado aumentaria a reação inflamatória depois da inseminação com sêmen congelado. Verificando o efeito dos espermatozoides, do plasma seminal e do diluente no útero de éguas, e a dinâmica da resposta inflamatória depois da inseminação, Parlevliet et al. (1997) não encontraram diferença na concentração de PMNs 24 horas após inseminação com sêmen resfriado ou após infusão com plasma seminal.

A infusão de plasma seminal também provoca um aumento na perfusão uterina similar ao obtido com sêmen fresco, o que sugere que não só a inflamação uterina, mas outros fatores podem estar relacionados a um aumento da perfusão sanguínea no útero (Bollwein et al., 2003).

Efeito dos diluentes

Não é possível preservar o sêmen por muito tempo sem o uso de um diluente. Embora o resfriamento do sêmen equino permita aumentar a longevidade da motilidade espermática, através da redução da atividade metabólica, o emprego de apenas este processo é ineficaz.

Vários trabalhos descreveram a importância dos diluentes de sêmen na resposta inflamatória do útero de



éguas (Kotilainen et al., 1994; Quetin, 2001, Fiala et al., 2002, Fiala 2004, Palm et al., 2008). Kotilainen et al. (1994) verificaram que, após a diluição de sêmen congelado equino com diluente à base de leite desnatado, a magnitude da reação inflamatória foi grandemente reduzida, enquanto que a infusão de apenas leite desnatado causou uma resposta inflamatória semelhante à observada após monta natural ou inseminação com sêmen fresco diluído.

Para determinar a duração da resposta inflamatória em éguas, Quetin (2001) realizou biópsias endometriais seis e 48 horas após a infusão de INRA 82 e após inseminação com $0,3 \times 10^6$ espermatozoides móveis. Foi verificado que o diluente à base de leite causou uma resposta inflamatória menor, mas foi o menos eficaz na redução da concentração de PMNs.

A infusão de plasma seminal ou de leite promoveu um aumento do número de leucócitos no lúmen uterino a partir das duas horas após a infusão, mantendo-se constante até as 24 horas (Fiala, 2004).

Palm et al., (2008) verificaram uma resposta inflamatória fraca após a infusão de um diluente a base de gema de ovo, que não diferiu de éguas em estro não tratadas e foi menor quando comparada a reação causada por diluente a base de leite, sendo que os autores concluíram que esta reação menor pode ser dever a uma menor reação inflamatória ou uma alteração no curso da resposta, que pode ter acontecido mais cedo, ou poderá ocorrer mais tarde, além do fato que alguns componentes da gema de ovo poderiam modular a reação imune do endométrio e induzir um padrão de resposta diferente do observado com diluentes a base de leite.

Referências

- Asbury AC, Schultz KT, Kleisius PH, Foster GW, Washburn SM.** Factors affecting phagocytosis of bacteria by neutrophils in the mare's uterus. *J Reprod Fertil Suppl*, v.32, p.151-159, 1982.
- Bergmann HJ, De Kruiff A.** Preliminary evaluation of the inflammatory response of the endometrium on semen, extender and its components in mares. *Pferdeheilkunde*, v.13, p.543, 1997.
- Brandon CI, Heusner GL, Caudle AB, Fayer-Hosken RA.** Two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis of equine seminal plasma proteins and correlation with fertility. *Theriogenology*, v.52, p.863-873, 1999.
- Bollwein H, Sowade C, Stolla R.** The effect of semen extender, seminal plasma and raw semen on uterine and ovarian blood flow in mares *Theriogenology*, v.60, p.607-616, 2003.
- Calvete J, Raida M., Gentzel M, Urbanke C, Sanz L, Topfer-Petersen E.** Isolation and characterization of heparin-and phosphorilcholine-binding proteins of boar and stallion seminal plasma. Primary structure of porcine pB1. *FEBS Lett*, v.407, p.201-206, 1997.
- Cazales N, Hauret P, Cavestany D, Mattos RC.** Effect of insemination site on uterine inflammatory response of mares. *J of Eq Vet Sci*, v.43 p.70-71, 2016.
- Cohen J.** Immunological aspects of sperm selection and transport. In Crighton DB (ed.), *Immunological Aspects of Reproduction in Mammals* Kent: Butterworths; p.77-89, 1984.
- Ebertus R.** The dilution of stallion semen with whole cow milk. *An Breed*, v.31, p.313, 1963. Abstract.
- Fedorcka CE, Scoggin KE, Woodward EM, Squires EL, Ball BA, Troedsson M.** The effect of select seminal plasma proteins on endometrial mRNA cytokine expression in mares susceptible to persistent mating-induced endometritis. *Reprod Domest Anim*, v.52, p.89-96, 2017.
- Ferreira, JC Ignacio FS, Rocha NS, Thompson DL, Meira C.** Real-time characterization of the uterine blood flow in mares before and after artificial insemination *Anim Reprod Sci*, v.160, p. 90-96, 2015.
- Fiala SM, Pimentel CA, Steiger K, Mattos ALG, Gregory RM, Mattos RC.** Effect of skim milk and seminal plasma uterine infusion in mares. *Theriogenology*, v.58 p.491-494, 2002.
- Fiala SM.** Transporte espermático e resposta inflamatória uterina na égua após inseminação com diferentes concentrações de espermatozoides 2004 73p Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Porto Alegre, 2004.
- Mascarenhas Jobim MI, Katila T, Gregory RM, Mattos RC.** Sperm distribution in the oviduct and uterus of mares within two hours after artificial insemination. *Pferdeheilkunde* v.24(1), p.96-98, 2008.
- Güvenc K, Reilas T, Katila T.** Effect of insemination dose and site on uterine inflammatory response of mares *Theriogenology*, v.63, p.2504-2512, 2005
- Katila T.** Onset and duration of uterine inflammation response of mares with fresh semen. *Biol Reprod Mono*, v.1, p.515-517, 1995.
- Katila T.** Interactions of the uterus and semen. *Pferdeheilkunde*, v.13, p.508-511, 1997.
- Kotilainen T, Huhtinen M, Katila T.** Sperm-induced leucocytosis in the equine uterus. *Theriogenology*, v.41, p.629-636, 1994.
- Nikolakopoulos E, Watson ED.** Effect of infusion volume and sperm numbers on persistence of uterine inflammation in mares. *Equine Vet J*, v.32, p.164-166, 2000.
- Palm F, Walter I, Budik S, Aurich C.** Influence of different semen extenders and seminal plasma on the inflammatory response of the endometrium in oestrous mares *Anim Reprod Sci*, v.94, p.286-289, 2006.
- Palm, F. Walter I, Budik S, Kolodziejek, J, Nowotny N, Aurich, C.** Influence of different semen extenders



and seminal plasma on PMN migration and on expression of IL-1b, IL-6, TNF-a and COX-2 mRNA in the equine endometrium. *Theriogenology*, v.70, p.843-851, 2008.

Parlevliet JM, Tremoleda JM, Cheng FP, Pycock JF, Colenbrader B. Influence of semen, extender and seminal plasma on the defence mechanisms of the mare's uterus. *Pferdeheilkunde*, v.13, p.540, 1997. Abstract.

Pickett BW, Amann RP. Extension and storage of stallion spermatozoa: a review. *J Equine Vet Sci*, v.7, p.289-302, 1987.

Quetin M. Klinisch. gynäkologische und histopathologische Untersuchungen zur Beurteilung der endometrialen Reaktion auf besamungsrelevante Medien (Samenverdünner, Seminalplasma, Spermien) bei Warmblutstuten. 2001, 113p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária), Escola Superior de Veterinária de Hannover, Alemanha, 2001.

Reilas T. Uterine environment in the mare. 2001. 78p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária), Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Helsinki, Helsinki, 2001.

Sieme H, Klug E, Schoon H-A. Critical evaluation of practical methods to term ovulation and AI in relation to endometrial reaction in the mare. *Pferdeheilkunde* v.13, p.499, 1997.

Troedsson MHT, Liu IKM, Thurmond M. Function of uterine and blood-derived polymorphnuclear neutrophils in mares susceptible and resistant to chronic uterine infection: Phagocytosis and chemotaxis. *Biol Reprod*,v49, p.507-514, 1993.

Troedsson MHT. Uterine response to semen deposition in the mare. *Proc Soc Theriogenol*, p.130-134, 1995.

Troedsson MHT, Steiger BN, Ibraihm NM, Foster DN, Crabo BG. Mechanism of sperm-induced endometritis in the mare. *Biol Reprod*, v.52, p.307, 1995.

Troedsson MHT, Liu IKM, Crabo BG. Sperm Transport and survival in the mare. *Theriogenology*, v.49, p.905-915, 1998.

Troedsson MHT, Franklin RK, Crabo BG. Suppression of PMN-chemotaxis by different molecular weight fractions of equine seminal plasma. *Pferdeheilkunde*, v.15, p.568-573, 1999.

Watson ED, Stokes CR, Bourne FJ. The influence of administration of ovarian steroids on the function of neutrophils isolated from the blood and uterus of ovariectomized mares. *J Endocrinol*, v.112, p.443-448, 1987.
