



Ozonioterapia, PRP, fitoterapia, misoprostol e imunomodulação: Novas abordagens terapêuticas para a solução de velhos problemas

Ozone therapy, PRP, phytotherapy, misoprostol and immunomodulation: New therapeutic approaches to solving old problems

Gustavo Ferrer Carneiro^{1*}, Gabriela Reis Xavier¹, Gustavo de Oliveira Alves Pinto¹, Lucas Facundo Moura Tobal¹, Antonio Brito da Silva Filho¹, Eveline de Fátima Lima Catão¹, Gilvannya Gonçalves de Sobral¹

¹Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE, Rua Dom Manoel de Medeiros, S/N, Dois Irmãos, Recife-PE, Brasil

Resumo

A resistência aos antimicrobianos representa uma ameaça sanitária global crescente, que deve ser abordada com urgência na saúde pública, na produção animal, agrícola e no meio ambiente. Essa circunstância põe em risco a eficiência do tratamento e diminui a eficácia contra infecções causadas pelos mais diversos agentes etiológicos, resultando em enfermidades mais prolongadas afetando diretamente os índices de fertilidade. Dessa forma, o objetivo dessa revisão foi abordar diferentes formas terapêuticas para sub/infertilidade em equinos, com o intuito de minimizar os problemas acarretados pelo uso indiscriminado de fármacos, relatando novas terapias alternativas, tais como ozonioterapia, plasma rico em plaquetas, uso de prostaglandina E1 e imunomoduladores na tentativa de solucionar velhos problemas.

Palavras-chave: equino, subfertilidade, resistência antimicrobiana,

Abstract

Antimicrobial resistance represents a growing global health threat that must be urgently addressed in public health, animal production, agriculture and the environment. This circumstance jeopardizes the efficiency of the treatment and decreases the effectiveness against infections caused by the most diverse etiological agents, resulting in more prolonged illnesses, directly affecting fertility rates. Thus, the objective of this review was to address different therapeutic forms for sub/infertility in horses, with the aim of minimizing the problems caused by the indiscriminate use of drugs, reporting new alternative therapies, such as ozone therapy, platelet-rich plasma, use of prostaglandin E1 and immunomodulators in an attempt to solve old problems.

Keywords: equine, subfertility, antimicrobial resistance

Introdução

O sistema profilático moderno enfrenta uma grande ameaça na saúde única global, a resistência antimicrobiana, que vem dificultando os métodos tradicionais de tratamento (Ferri, et al., 2017). Dados recentes sobre a resistência antimicrobiana demonstram os fatores de risco, a prevalência e as características etiológicas que conferem multirresistência de patógenos na espécie equina em diferentes países (Steinman & Venezia, 2020). A ocorrência desses patógenos aumenta a preocupação e os desafios na instituição de terapias antimicrobianas tradicionais (Raidal, 2019).

O objetivo desse trabalho foi realizar uma revisão sistemática sobre a utilização de novas abordagens terapêuticas visando a otimização clínica frente as enfermidades, levando em consideração todos os obstáculos encarados com a resistência bacteriana.

Ozonioterapia

A resistência antimicrobiana aos diversos tipos de fármacos tem se tornado um problema cada vez mais emergente tanto na medicina humana, como na medicina veterinária (Willyard, 2017). Tendo em vista, que o uso excessivo de agentes antibióticos e antifúngicos promovem o surgimento de cepas bacterianas e



fúngicas cada vez mais resistentes (Wollheim *et al.* 2020). Entre as enfermidades infecciosas que acometem as fêmeas equinas e influenciam diretamente em sua fertilidade a endometrite é a mais prevalente (Nascimento Júnior *et al.* 2021) e consiste em um processo inflamatório que atinge as camadas mais superficiais do endométrio em resposta a presença de agentes estranhos como o plasma seminal, espermatozoides, proteínas e microrganismos (Marth *et al.*, 2015).

A endometrite é comumente tratada por infusão intrauterina de um antibiótico apropriado em um período de 3 a 7 dias, dependendo do grau de infecção, durante o estro (Leblanc & Causey, 2009). O volume de fluido usado para antibiótico depende do tamanho do útero. Um volume total de 30 a 60 mL geralmente é o suficiente (Troedsson, 2011). Os antibióticos mais comumente utilizados nas infusões intrauterinas são o Ceftiofur, seguido da Gentamicina, Ticarcilina com Ácido Clavulânico, Ampicilina, Penicilina Procaína, Amicacina, Penicilina Potássica e Ticarcilina isolada (Dascanio, 2011). Sendo que a grande maioria desses fármacos, com exceção da Amicacina, não apresentam indicação para uso tópico intrauterino (Viana, 2014).

A resistência a antimicrobianos dentro da reprodução equina está associada principalmente a exposição dos microrganismos a esses fármacos em subdoses ou em doses terapêuticas por tratamentos prolongados em casos de endometrite crônica bacteriana ou fúngica. Além disso, a adição de antibióticos em diluidores de sêmen, promove uma exposição constante da microbiota comensal dos órgãos reprodutivos, o que favorece o desenvolvimento de resistência contrariando as recomendações atuais sobre o uso prudente de antibióticos (Malaluang *et al.*, 2021).

Silva Filho *et al.* (2021), observaram em um estudo 95,24% das amostras resistentes a Penicilina, com 100% das bactérias Gram-negativas resistentes, das quais 70% foram resistentes para Ampicilina.

Segundo Canisso *et al.* (2020), a busca por alternativas não antibióticas para o tratamento de endometrites em éguas é uma tendência emergente para prevenir o desenvolvimento de resistência. Desta forma, a ozonioterapia apresenta lugar de destaque principalmente em casos de endometrite na medicina veterinária (Duricic *et al.* 2015). O Ozônio ajuda na estimulação de linfócitos e monócitos que por sua vez estimulam a liberação de citocinas melhorando a regeneração tecidual, bem como o ozônio tem a capacidade de romper a membrana celular dos microrganismos através de sua afinidade pelas duplas ligações das camadas fosfolipídicas (Durrani, 2017). Assim, o tratamento intrauterino com ozônio proporciona um ambiente mais favorável para inseminação e fertilização, pois age na redução dos efeitos espermicidas como também da inflamação decorrente da resposta intrauterina inata (Campos, 2018).

Tormin *et al.* (2016), demonstram que a infusão gasosa de ozônio medicinal na concentração de 10 µg/ml apresenta efeito bactericida sobre bactérias multirresistentes, tais como *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, sendo esse efeito proporcional a concentração e ao tempo de exposição. Já Polat *et al.* (2015) ao compararem o efeito do tratamento com ozônio intrauterino com a aplicação de antibiótico (Rifaximina) em vacas com endometrite subclínica diagnosticada através de ultrassonografia, observaram que não houve diferença significativa entre os grupos testados no que diz respeito ao intervalo entre o período de tratamento e a taxa de prenhez, o intervalo de parto à prenhez e o número de inseminações até a concepção, o que segundo o autor, demonstra que a ozonioterapia é uma importante alternativa em casos de endometrite subclínica na espécie bovina.

Um dos grandes impasses para realização de um tratamento eficaz de endometrites bacterianas está associado à ocorrência de infecções ocasionadas por bactérias produtoras de biofilme, essas bactérias se mostram muito mais resistentes ao tratamento com antibioticoterapia do que as não produtoras, devido às espessas camadas de exopolissacarídeos, DNA, RNA, lipídeos e proteínas que formam o biofilme impedirem a penetração dos antibióticos para o interior dessas comunidades. Assim, quando um determinado agente antimicrobiano entra em contato com a mucosa uterina provoca a morte dos microrganismos que se encontram livres no útero, sendo estes patogênicos e não patogênicos, e apenas uma pequena quantidade do antibiótico consegue penetrar o biofilme e atingir as colônias de microrganismos que vivem em latência nas comunidades favorecendo o desenvolvimento de resistência a antimicrobianos (Ferris, 2017).

Vargas *et al.* (2019) ao avaliarem o efeito da aplicação intrauterina de óleo de girassol ozonizado, na remoção de biofilme uterino, de éguas doadoras de embriões consideradas susceptíveis, observaram que 100% dos animais submetidos ao protocolo com óleo ozonizado apresentaram lavados sem turbidez após infusão do óleo, destas 91,6% foram positivas na coleta de embrião ou apresentaram gestação positiva, após o tratamento, o que mostra eficiência do uso da ozonioterapia em casos de endometrites por bactérias causadoras de biofilme.

Já Ferris (2017) não observou resultados efetivos na diminuição de UFCs ou biofilme em colônias de *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, e *S. zooepidemicus* após o uso de terapia com ozônio por 6 horas.



Porém observou-se diminuição relevante quando realizado a terapia com ozônio associado a antibioticoterapia. No entanto, como o ozônio medicinal apresenta diversos métodos de aplicação, seus resultados estão diretamente relacionados ao protocolo adotado (Orlandín *et al.* 2021).

As propriedades terapêuticas do ozônio ocorrem devido ao seu mecanismo de ação que é diretamente proporcional a concentração utilizada, podendo o mesmo reagir com todas as macromoléculas das membranas celulares, incluindo lipídios, proteínas, carboidratos, DNA e RNA (Bocci, 2006). Porém, devido as suas propriedades oxidantes, sua ação ocorre predominantemente com as duplas ligações entre as moléculas de carbono, presente nos ácidos graxos poli-insaturados que fazem parte da composição das membranas celulares animal e microbiana, gerando espécies reativas do oxigênio (ROS) e os produtos de oxidação dos lipídeos, chamados de lipoligopeptídeos (LOP), dentre eles o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e o 4-Hidroxinoneal (4-HNE), respectivamente (Bocci *et al.*, 2011; Clavo *et al.*, 2019). Esses subprodutos são responsáveis pelo mecanismo de ação do ozônio, onde os ROS estimulam a síntese de proteínas essenciais para o metabolismo celular e os LOP que estimulam a liberação de uma cascata antioxidante pelo organismo (Wang *et al.*, 2018; Clavo *et al.*, 2019).

Plasma Rico em Plaquetas – PRP

O plasma rico em plaquetas (PRP) atua como imunomodulador da resposta inflamatória, e tem sido empregado como método adjuvante no tratamento de endometrite em fêmeas, promovendo regeneração do endométrio lesado (Monteiro *et al.*, 2019). O uso do PRP no tratamento de afecções em diversas especialidades médicas humana e veterinária foi introduzido desde a década de 1970, devido às suas propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias e de proliferação celular (Bielecki *et al.*, 2007).

O PRP age por vários mecanismos, aumentando a apoptose de células pró-inflamatórias, a expressão de moléculas anti-inflamatórias, incluindo o antagonista do receptor da interleucina 1 e o receptor do fator de necrose tumoral (TNFR), e diminuindo a expressão de prostaglandinas e citocinas pró-inflamatórias (IL-1, TNF α) (Dg Greenhalgh, 1996).

O PRP é preparado através da retirada de sangue periférico após centrifugação para atingir uma alta concentração de plaquetas (Marx, 2004). As plaquetas transportam citocinas, macrófagos e neutrófilos, responsáveis por várias modificações pós-traducionais de diversos fatores bioativos (Qureshi *et al.*, 2009). Também carregam inúmeros fatores de crescimento de grande importância devido à sua capacidade de reparar tecidos, bem como seus efeitos mitogênicos, quimiotáticos, neovasculares e anti-inflamatórios.

A aplicação de fatores derivados de plaquetas em áreas de tecidos danificados ou envelhecidos pode provocar ativação celular e regeneração local (Kon *et al.*, 2010). Além disso, a suplementação de culturas celulares com PRP tem sido sugerida por vários grupos de pesquisa devido à sua capacidade de induzir a proliferação celular (Martinez *et al.*, 2012).

A utilização do PRP para auxiliar na integridade de células espermáticas tem sido objeto de estudo no tratamento à infertilidade e na adição aos diluidores de sêmen. Estudos desenvolvidos em nosso laboratório têm sugerido que o PRP potencializa os espermatozoides, tanto na cinética quanto na integridade das membranas por meio da liberação de mediadores biológicos.

A função protetora do PRP se atribui à presença de múltiplos componentes bioativos, de acordo com Saucedo *et al.* (2015) que relataram que o FGF, componente do concentrado plaquetário, aumenta a fosforilação de seus receptores no flagelo ativando as vias de sinalização reguladas por sinal extracelular quinase e proteína quinase B, promovendo um aumento significativo na motilidade espermática progressiva. A estabilidade das membranas, correlaciona-se ao efeito tampão do PRP que evita o choque osmótico, pois seu componente proteico protege mecanicamente as membranas espermáticas, diminuindo o risco de cristalização ou fusão durante as várias etapas do processo de criopreservação (Taher-Mofrad *et al.* 2020).

Os principais fatores de crescimento envolvidos no metabolismo espermático comprovadamente presentes nas plaquetas são o fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), fator de crescimento transformador β (TGF β), fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) e fator de crescimento epitelial (EGF) (Marx, 2004). Autores relatam o fator de crescimento fibroblástico (FGF) (Hernández-Corredor *et al.* 2020) e o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF) (Miah *et al.* 2008), promovendo aumento da motilidade dos espermatozoides. Além disso, reduz os danos induzidos pela criopreservação por meio da manutenção das proteínas da membrana do espermatozoide, como calmodulina, e proteínas associadas à membrana acrossomal (Selvaraju *et al.* 2016).

Reghini *et al.* (2016), examinando éguas com endometrite crônica degenerativa, mostrou que a infusão uterina de PRP pode modular a resposta inflamatória local, reduzindo o número de neutrófilos



polimorfonucleares no lúmen uterino e prevenindo a retenção de líquido intrauterino.

Carneiro *et al.* (2020) avaliaram os principais microrganismos envolvidos na endometrite, bem como sua virulência, resistência antimicrobiana e formação de biofilme por microrganismos patogênicos do útero equino, tendo concluído que o PRP pode ser utilizado como adjuvante às terapias de suporte na tentativa de modular a resposta inflamatória pós-cobertura em éguas e com isso melhorar as taxas de fertilidade através da ativação das plaquetas, com liberação de fatores de crescimento.

Em mulheres, o tratamento intrauterino com PRP demonstrou promover o crescimento endometrial, melhorando o resultado da gravidez de pacientes que apresentam endométrio com espessura fina devido aos fatores de crescimento presentes nos trombócitos (Chang *et al.*, 2015).

Sfakianoudis *et al.* (2019), demonstraram que o PRP pode ser empregado como tratamento de primeira linha para endometrite crônica persistente em mulheres, especialmente para pacientes que não respondem a antibióticos convencionais, aumentando assim a taxa de gravidez. Os resultados *in vitro* de um estudo sobre o potencial do PRP para atuar como promotor do desenvolvimento folicular fortalecem a hipótese de que o PRP é uma fonte mais dinâmica de fatores de crescimento que suportam efetivamente a regeneração e o crescimento tecidual (Hosseini *et al.*, 2017).

Os mecanismos pelos quais o PRP atua como um modulador anti-inflamatório são endossados por estudos *in vitro* de tratamento com PRP em modelos animais. A proliferação e a expressão gênica de células endometriais já foram demonstradas e confirmadas por estudos *in vitro* em bovinos. (Marini *et al.*, 2016).

Além disso, há estudos que comprovam a eficácia do PRP para a terapia antimicrobiana, entretanto seus mecanismos são pouco elucidados, porém, sabe-se que a atividade microbiana é determinada pela liberação dos membros da família das cinocidinas, o fator plaquetário 4 (PF-4) (Yeaman *et al.*, 2007). A endometrite crônica em éguas, associada a agentes microbiológicos, é uma condição responsiva ao tratamento com PRP, podendo ser instaurada em casos nos quais não se apresenta sucesso em terapias convencionais (Sfakianoudis *et al.*, 2019).

O PRP demonstrou-se uma vantajosa ferramenta no tratamento adjuvante por seus efeitos antimicrobiano e imunomodulador (Bielecki *et al.*, 2007), além de ter fácil aplicação e baixo custo (Yamada *et al.*, 2012), ocupando desta forma crescente posição de interesse nos estudos da clínica veterinária reprodutiva.

Fitoterapia

A Fitoterapia é uma palavra derivada do grego *Phytos therapeia* e significa a cura pelas plantas. Os fragmentos comumente utilizados na técnica são: raízes, cascas, folhas, frutos e sementes. No Brasil, foi criada uma Lista de Registro Simplificado de Fitoterápicos, no qual é encontrada a nomenclatura e o nome popular, formas de uso, indicações e ações terapêuticas, a parte utilizada, dose diária, a via de administração e até restrição de uso (Albuquerque, 1989).

O uso das propriedades curativas das plantas tem um grande potencial para produção de novos fármacos devido à sua diversidade estrutural, com evidências na literatura sobre sua eficácia na ação antimicrobiana no biofilme (Nascimento Júnior *et al.*, 2019).

Dentre as plantas testadas, a *Schinus terebinthifolius*, árvore pertencente à família Anacardiaceae, com propriedades adstringente, antiséptica e anti-inflamatória com usos na medicina popular e em preparações cosméticas (Agra *et al.*, 2008) foi testada na reprodução equina. Seu extrato contém flavonóides com propriedades antioxidantes potenciais (Carvalho *et al.*, 2003), e ação terapêutica eficaz em cervicite e cérvico-vaginites crônicas, utilizando tampões intravaginais, em contato com a cérvix durante 24 horas (Lima *et al.*, 2006).

Nascimento Júnior *et al.* (2020) relataram a capacidade inibidora do *Schinus terebinthifolius* no crescimento bacteriano, assim como a capacidade de quebra de biofilme em bactérias provenientes de útero de éguas susceptíveis, demonstrando uma possibilidade alternativa no uso de fitoterápicos combatendo os problemas relacionados a resistência aos antimicrobianos.

Outros autores relataram o efeito da suplementação de *Lepidium meyenii* na dieta constatando melhoria na concentração e longevidade espermática em sêmen de garanhões (Del Preti *et al.*, 2018).

Misoprostol

O oviduto é a estrutura responsável pela seleção, armazenamento de espermatozoides, sendo o local onde ocorre a fecundação e o desenvolvimento embrionário inicial (Hafez *et al.*, 2004). Obstruções



no oviduto foram observadas pela primeira vez por Van Niekerk e Gerneke (1966), que, após alguns estudos relataram a presença de um número variável de massas globulares na região da junção ampular-istmica na maioria das éguas.

O acúmulo excessivo dessas massas no oviduto na região ampulo-istmica podem se tornar uma obstrução física, não só para o espermatozoide - que apresenta menor tamanho - mas principalmente para o zigoto muito maior após a fertilização (Liu *et al.* 1991).

A Prostaglandina E2 (PGE 2) tem diversas atividades biológicas e muitas funções reprodutivas essenciais. Também demonstrou desempenhar um papel na ovulação, parto e específico para a égua, na modulação do transporte do embrião através oviduto para o útero. A síntese de PGE2 por embriões de equinos induzem relaxamento do músculo liso circular do oviduto, permitindo o transporte do embrião da ampola, local de fecundação, para o útero (Checura, 2020).

O misoprostol é um análogo metílico da PGE1, desenvolvido para tratamento e prevenção de úlceras gastroduodenais. Posteriormente, foi descoberta sua ação abortiva, estimulando o útero induzindo a contrações e o alargamento do colo uterino. Ao longo do tempo, foi comprovado um uso estável, seguro, eficaz, e de fácil administração na área obstétrica (Corrêa, 2012).

Alvarenga e Segabinazzi (2018) relataram o uso de misoprostol (200 mcg) no tratamento de obstrução de oviduto em éguas. Fertilidade foi restaurada em 15 de 22 éguas tratadas nos dois primeiros ciclos após o tratamento. E concluíram que, a terapia com misoprostol pode ser realizada via intrauterina como um potencial tratamento para éguas com infertilidade inexplicada.

Bezerra *et al.* (2020) relataram o uso do misoprostol em égua com infertilidade idiopática presumidamente com obstrução de oviduto. Foi utilizado o misoprostol (400mcg) com aplicação profunda no corno uterino visando a aplicação o mais próximo possível da junção útero-tubárica. Foi recuperado um embrião degenerado no ciclo subsequente. O tratamento foi repetido e três embriões grau I foram recuperados em quatro lavagens subsequentes. E levantaram a hipótese que o uso uterino do misoprostol levou ao relaxamento da musculatura da tuba uterina desobstruindo-a.

Robinson *et al.* 2000 analisaram o efeito de uma única aplicação local de PGE2 no transporte ovidutal. Para isso foram examinadas 22 éguas inseminadas em dias alternados durante o estro. No dia 4 após a ovulação, o ovário ipsilateral, o oviduto e a ponta do corno uterino foram visualizados por laparoscopia, e uma preparação comercial de PGE2 suspensa em um gel à base de triacetina ou um gel de controle não contendo PGE2 foi gotejado ao longo da superfície externa do oviduto. Não houve diferença na taxa de recuperação embrionária em éguas tratadas com PGE2 e controle (65 e 63%, respectivamente). Entretanto, a taxa de recuperação de embriões no dia 5 foi significativamente maior para éguas tratadas com PGE2 do que para éguas controle (60 versus 0%; $P < 0,01$), indicando aumento na taxa de transporte de embriões em éguas tratadas com PGE2. Além disso, oócitos não fertilizados foram recuperados de nove das éguas tratadas com PGE2 no dia 5, mas de nenhuma das éguas controle. Todos os embriões recuperados no dia 5 eram mórulas compactas, enquanto todos aqueles recuperados nos dias 7 ou 8 eram blastocistos expandidos. Os resultados do presente estudo suportam o papel da PGE2 embrionário no transporte ovidutal em éguas. Os resultados também demonstram que uma única aplicação local de PGE2 é eficaz para acelerar a passagem de embriões pelo oviduto para o útero.

Imunomodulação

Visando a melhoria da nutrição animal, a suplementação alimentar é uma prática comum na equideocultura. Dentre os suplementos, destacam-se os probióticos, que têm sido usados com o objetivo de estimular o sistema imunológico em muitas espécies animais. Dentre eles o *Saccharomyces cerevisiae* demonstrou ser um imunostimulante geral. Sabe-se que a parede celular de *S. cerevisiae* é uma importante fonte de β -glucana. Nas últimas décadas estes polímeros vêm recebendo especial atenção por sua bioatividade, principalmente no que se refere a imunomodulação. A β -glucana é designada como um modificador da resposta biológica pois, ao ser reconhecida pelo organismo desencadeia uma série de eventos na resposta imune (Barsanti *et al.*, 2011).

Sabe-se as β -glucanas atuam estimulando respostas imunes específicas e não específicas no hospedeiro. A capacidade do sistema imunológico de reconhecer e responder imediatamente à infecção depende de Receptores de Reconhecimento Padrões (PRRs). Os PRRs reconhecem Padrões Moleculares Associados a Patógenos (PAMPs) em microorganismos que, embora não sejam exclusivos dos patógenos, são críticos para a sobrevivência dos microorganismos e não são encontrados nos hospedeiros (Novak & Vetricka, 2009)



Os PAMPs incluem ácido lipotécico (bactérias Gram-positivas), LPSs (bactérias Gram-negativas) e β -glucanas (bactérias e fungos) (Novak & Vetvicka, 2009). Esses mecanismos permitem que um pequeno conjunto de receptores reconheçam uma ampla variedade de microorganismos e produtos microbianos. Os PAMPs podem desencadear respostas imunes de forma isolada e tem havido muito interesse em seu desenvolvimento como adjuvantes e como agentes imunoterapêuticos (Barsanti *et al.*, 2011).

São os PRRs que reconhecem microorganismos invasores ou seus produtos tóxicos. Os PRRs são expressos em células do sistema imunológico inato, mas não se limitam a elas. As consequências do reconhecimento de β -glucanas está ligada aos tipos de células envolvidas e do(s) receptor(es) envolvido(s) (Barsanti *et al.*, 2011).

Foi estabelecido que o β -glucano possui um padrão molecular chave reconhecido pelos neutrófilos (ou leucócitos polimorfonucleares - PMNs) (Lavigne *et al.*, 2006). Esse mecanismo, para reconhecer e responder aos componentes estruturais dos fungos, particularmente os β -glucanos, evoluiu nos mamíferos como defesa contra patógenos fúngicos (Akramiené *et al.*, 2007).

A ligação de β -glucanos a receptores de macrófagos e de outros fagócitos ativa várias funções incluindo o aumento na quimiotaxia, a desgranulação, a expressão de moléculas adesivas nos macrófagos que em consequência aumenta a sua adesão ao endotélio (Novak & Vetvicka, 2009).

Portanto, a ativação da função dos macrófagos pelos β -glucanos aumenta a defesa imunológica do hospedeiro (Kim *et al.*, 2004). Foi sugerido que a capacidade dos polissacarídeos na regulação positiva dessas moléculas de superfície envolvidas nos processos de apresentação de antígenos pode, por inferência, ativar a imunidade mediada por células T (Akramiené *et al.*, 2007).

O primeiro passo da interação glucano-macróforo é a ligação com os receptores específicos (PRRs) presentes na superfície dos macrófagos. Para reconhecimento de β -glucanas, os macrófagos possuem vários receptores à sua disposição: TLR-2, dectina-1, CR3, lactosilceramida e provavelmente outros. No entanto, a interação entre as β -glucanas e o receptor CR3 é estabelecida de forma mais eficaz do que nos outros receptores (Novak & Vetvicka, 2009).

Quando um antígeno ultrapassa as barreiras epiteliais, os macrófagos desempenham um importante papel através da fagocitose. Os antígenos fagocitados são destruídos pelas enzimas presentes no lisossomo e, além disso, os macrófagos liberam citocinas como IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α e mediadores da inflamação como óxido nítrico e peróxido de hidrogênio. Desta forma, a ativação dos macrófagos pelos β -glucanos aumenta a ação da resposta imunológica de defesa (Akramiené *et al.*, 2007).

Sobral *et al.* (2023) demonstraram efeitos significativos na qualidade do colostro em éguas tanto com a utilização da suplementação com β -glucana, aumentando a concentração de IgG, quanto com a do *Saccharomyces cerevisiae*, melhorando a transferência de imunidade passiva em potros. Este estudo forneceu evidências claras que a manipulação da dieta com a adição de β -glucana e *Saccharomyces cerevisiae* melhoram efetivamente a qualidade do colostro e consequentemente melhorando o estado imunológico dos potros, potencialmente mantendo a saúde do neonato e ajudando na proteção de doenças neonatais.

Considerações Finais

Diante do exposto, as medidas terapêuticas alternativas ao uso de antimicrobianos podem ser empregadas na rotina clínica, visto que apresentam eficácia comprovada frente a alguns patógenos de impacto na medicina veterinária. Essa, por sua vez, vive um impasse significativo no que consiste a resistência antimicrobiana, sendo assim, a utilização das técnicas supracitadas são meios possíveis de se alcançar o sucesso clínico no combate das mais diversas enfermidades infecciosas reprodutivas.

Bibliografia

- Agra MF, Silva KN, Basílio IJLD, França PF, Barbosa Filho JM. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. *Rev Bras de Farmacognózia*, v.18, p.472-508, 2008.
- Akramiené D, Kondrotas A, Didziapetriene J, Kevelaitis E. Effects of beta-glucans on the immune system. *Medicina (Kaunas)*, v. 43, n. (8), p. 597-606, 2007.
- Albuquerque JM. Plantas medicinais de uso popular. Ministério da Educação. Brasília, 1989. p.96.
- Alvarenga MA. Inflammatory response in chronic degenerative endometritis mares treated with platelet-rich plasma. *Theriogenology*, v.86, p.516-522, 2016.



- Alvarenga MA, Segabinazzi L.** Application of Misoprostol as a Treatment of unexplained Infertility in Mares. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 71, p. 46–50, 2018.
- Barsanti L, Passarelli V, Evangelista V, Frassanito AM, Gualtieri P.** Chemistry, physico-chemistry and applications linked to biological activities of β -glucans. *Nat Prod Rep* 2011;28:457–66.
- Bezerra DGN, Gomes Neto OC, Silva AM, Sanchez JJV, Liu IKM, Santana BB, Sobral GG, Carneiro GF.** Effect of PGE1 (Misoprostol) for the treatment of a mare with idiopathic infertility. *J. Equi Vet Science*, v. 89, p. 103096, 2020.
- Bielecki TM, Gazdzik TS, Arendt J, Szczepanski T, Krol W, Wielkoszynski T.** Antibacterial effect of autologous platelet gel enriched with growth factors and other active substances: an in vitro study. *J. of Bone and Joint Surgery. British Volume*, v.89(3), p.417–420, 2007.
- Bocci V.** Is it true that ozone is always toxic? The end of a dogma. *Toxicology and Applied Pharmacology*. (216), p.493–504, 2006.
- Bocci V.** Retinal degenerative disorders, Ozone. A new medical drug, 2nd edition. Springer, Dordrecht, The Netherlands, p. 133–145. 2011.
- Canisso IF, Stewart J, Coutinho da Silva MA.** Endometritis: Managing Persistent Post-Breeding Endometritis. *Veterinary Clin N. Am Equine Practice*, v.32, p.465-480, 2016.
- Campos DG, Sá NMB, Testa AC, Pinna AE.** Uso do ozônio no tratamento da endometrite em éguas: relato de caso. *Rev Bras de Medicina Equina*. v.13, p.24-26, 2018.
- Canisso IF, Segabinazzi LGTM, Fedorka CE.** Persistent Breeding-Induced Endometritis in Mares-a Multifaceted Challenge: From Clinical Aspects to Immunopathogenesis and Pathobiology. *Int J. of molecular sciences*, v. 21, p.1432, 2020.
- Carneiro GF, Silva Filho AB, Carneiro LC.** Endometrite em éguas: diagnóstico e tratamentos convencionais e/ou alternativos. *Ciência Animal*, v. 30, n. 4, p. 113–122, 2020.
- Carvalho MC, Barca FN, Agnez-Lia LF, Medeiros SR.** Evaluation of mutagenic activity in an extract of pepper tree stem bark (*Shinus terebinthifolius* Raddi). *Environ Mol Mutagen*, v.42, p.185-191, 2003.
- Chang Y, Li J, Chen Y, Wei L, Yang X, Shi Y, Liang X.** Autologous platelet-rich plasma promotes endometrial growth and improves pregnancy outcome during in vitro fertilization. *Int J Clin Exp Med.*, v.8(1), p.1286-90, 2015.
- Checura CM, Momont HW, Castañeira C, Flores-Bragulat A, Losinno L.** Oral misoprostol does not hasten oviductal transport of day-5 horse embryos. *Anim Reprod Science*, v. 223, p. 106626, dez. 2020.
- Clavo, B, Rodríguez EF, Rodríguez AD, Martínez SG, Llontop P, Aguiar BD, Fernández PL, Santana RN.** Modulation of oxidative stress by ozone therapy in the prevention and treatment of chemotherapy-induced toxicity: review and prospects. *Antioxidants*. v.8, p.1–20, 2019.
- Corrêa, MCDV, Mastrella, M.** Aborto e misoprostol: usos médicos, práticas de saúde e controvérsia científica. *Ciência e Saúde Coletiva*, Rio de Janeiro RJ, 17(7): 1777-1748, 2012.
- Dascanio J.** How and When to Treat Endometritis With Systemic or Local Antibiotics. *AAEP Proceedings*, vol.57, pp. 24–31, 2011.
- Del Prete C, Tafuri S, Ciani F, Pasolini MP, Ciotola F, Albarella S, Carotenuto D, Peretti V, Cocchia N.** Influences of dietary supplementation with *Lepidium meyenii* (Maca) on stallion sperm production and on preservation of sperm quality during storage at 5 °C. *Andrology*, 2018, 6, 351–361.
- Duricic D, Valpotic H, Samardzija M.** Prophylaxis and therapeutic potential of ozone in buiatrics: Current knowledge. *Anim Reprod Science*. v.159, p. 1–7, 2015.
- Durrani AZ, Raza MU, Channa AA.** An Alternative Therapy with Ozone to Avoid Antimicrobial Resistance (AMR) in Uterine Infections in Dairy Cattle. *Biom J. Scientific & Technical Research*. v.1, p.774-778, 2017.
- Ferri M, Ranucci E, Romagnoli P, Giaccone V.** Antimicrobial resistance: A global emerging threat to public health systems. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 57(11), p. 2857–2876, 2017.
- Ferris RA.** Current understanding of bacterial biofilms and latent infections: A clinical perspective. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* v.41, n.1, p.74-80, 2017.
- Greenhalgh DG.** The role of growth factors in wound healing. *J Trauma*, v.41(1), p.159-67, 1996.
- Hafez B, Hafez ESE.** Reprodução animal. 7nd. ed. Barueri-SP: Manole, 2004.5013p.
- Hernández-Corredor L, León-Restrepo S, Bustamante-Cano J, BáezSandoval G, Jaramillo X.** Effect of the incorporation of plasma rich of platelets on the spermatozoa. *J Dairy Vet Anim Res*. 2020;9(1):34-38.
- Hosseini L, Shirazi A, Naderi MM, Shams-Esfandabadi N, Boroujeni SB, Sarvari A, Sadeghnia S,**



Behzadi B, Akhondi MM. O plasma rico em plaquetas promove o desenvolvimento de folículos primordiais e primários humanos isolados até o estágio pré-antral. *Reprod Biomed Online.*, v.35, p.343-350, 2017.

macrophages

Kim GY, Choi GS, Lee S, Park YM. Acidic polysaccharide isolated from *Phellinus linteus* enhances through the up-regulation of nitric oxide and tumor necrosis factor- α from peritoneal macrophages. *J. of Ethnopharmacology*, v. 95, n. 1, p. 69–76, 2004.

Kon E, Buda R, Filardo G, Di Martino A, Timoncini A, Cenacchi A, Fornasari PM, Giannini S, Marcacci M. Platelet-rich plasma: intra-articular knee injections produced favorable results on degenerative cartilage lesions. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy*, v. 18, p. 472-479, 2010.

Lavigne LM, Albina JE, Reichner JS. β -Glucan Is a Fungal Determinant for Adhesion-Dependent Human Neutrophil Functions. *J. of Immunology*, v. 177, n. 12, p. 8667–8675, 2006.

Leblanc MM, Causey RC. Clinical and subclinical endometritis in the mare: both threats to fertility. *Reprod. Domest. Anim.* v.44, p.10–22, 2009.

Lima MR, Luna JS, Santos AF, Andrade MC, Santana AE, Genet JP, Marquez B, physiology of ram semen. *J Dairy Vet Animal Res.* 9:34–38, 2020.

Liu IKM, Lantz KC, Schlafke MA, Bowers JM, Enders AC. Clinical observations of oviductal masses in the mare. *Am Assoc Equine Practitioners.* 41-45. 1991.

Malaluang P, Wilén E, Lindahl J, Hansson I, Morrell JM. Antimicrobial Resistance in Equine Reproduction. *Animals.* v. 11, p. 1-13, 2021.

Marini MG, Perrini C, Esposti P, Corradetti B, Bizarro D, Riccaboni P, Fantinato E, Urbani G, Gelati G, Cremonesi F. Effects of platelet-rich plasma in a model of bovine endometrial inflammation in vitro. *Reprod Biol Endocrinol.*, v.14, p.58-58, 2016.

Marth CD, Young ND, Glenton LY, Noden DM, Browning GF, Krekeler N. Deep sequencing of the uterine immune response to bacteria during the equine oestrous cycle. *BMC Genomics*, v. 16, n. 1, p. 934, 2015.

Martínez OG, Botella CR, Rodríguez LD, Bertos EL, Torrecillas JR, Capilla MFV, Ruiz C. Effect of platelet-rich plasma on growth and antigenic profile of human osteoblasts and its clinical impact. *J. of oral and Maxillofacial Surgery*, v. 70, n. 7, p. 1558-1564, 2012.

Marx, RE (2004). Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J oral and maxillofacial surgery*, 62(4), 489-496, 2004.

Miah AG, Salma U, Takagi Y, Kohsaka T, Hamano K-I, Tsujii H. Effects of relaxin and IGF-1 on capacitation, acrosome reaction, cholesterol efflux and utilization of labeled and unlabeled glucose in porcine spermatozoa. *Reprod Med Biol* 7:29–36, 2008.

Monteiro AT, Tongu EA, Segabinazzi LGTM, Alvarenga MA. Plasma rico em plaquetas uma nova alternativa para o tratamento da endometrite fúngica. *Rev Bras de Med Equina*, n.81, p.48, 2019

Nascimento Júnior JAA, Correia MTS, Maciel NGP, Carneiro GF. Derivados de produtos naturais são capazes de romper biofilme in vitro de bactérias isoladas de útero de éguas. *Rev Bras Reprod Anim*, v. 43, n.2, p.571, 2019.

Nascimento Jr JAA, Arruda LCP, Silva AM, Correia MTS, Carneiro LC, Freire LQB, Carneiro GF. Efeito do *Schinus terebinthifolius* na inibição do crescimento e quebra de biofilme in vitro: resultados preliminares. *Ciência Animal*, v.30, 4:322-326, 2020.

Nascimento Júnior JAA, Oliveira Filho EF, Melo AGP, Correia MTS, Carneiro GF. Caracterização fúngica e formação de biofilme em éguas com endometrite. *Rev Bras Reprod Anim* v.45, n1, p.33-38. 2021.

Neuville L, Moreau N. Anti-bacterial activity of some Brazilian medicinal plants. *J of Ethnopharmacology*, v.105, p.137-147, 2006.

Novak M, Vetvicka V. Glucans as Biological Response Modifiers. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets*, v. 9, n. 1, p. 67–75, 2009.

Oguri N, Tsutsumi Y. Studies on lodging of the equine unfertilized ova in fallopian tubes. *Research Bulletins of the Livestock Hokkaido University.*6, 32-43, 1972.

Orlandin JR, Machado LC, Ambrósio CE, Travagli V. Ozone and its derivatives in veterinary medicine: A careful appraisal. *Vet and Anim Science.* v.13, p.1-10, 2021.

Polat B, Cengiz M, Çolak A, Cannazik O. Comparison of Intrauterine Ozone and Rifaximine Treatment in Cows with Subclinical Endometritis. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* v.21 n.5, p.773-776, 2015.

Qureshi A, Chaoji V, Maignel D, Faridi MH, Barth CJ, Salem SM, Singhal M, Stoub D, Krastins B, Ogihara M, Zaki MJ, Gupta V. Proteomic and phospho-proteomic profile of human platelets in basal,



- resting state: insights into integrin signaling. *PLoS One*, v. 4, n. 10, p. e7627, 2009.
- Raidal SL.** Antimicrobial stewardship in equine practice. *Australian Vet Journal* 97(7), p. 238-242, 2019.
- Reghini MFS, Ramires Neto C, Segabinazzi LG, Castro Chaves MM, Dell'Aqua CP, Bussiere MC, Dell'Aqua JA, Papa FO, Alvarenga MA.** Inflammatory Response in Chronic Degenerative Endometritis Mares Treated with Platelet-Rich Plasma. *Therio*. Jul 15;86(2):516-22, 2016.
- Robertson S, Chin PY, Femia JG, Brown HM.** Embryotoxic cytokines-Potential roles in embryo loss and fetal programming. *J. Reprod. Immunol.*, v.125, p.80-88, 2017.
- Robinson SJ, Neal H, Allen WR.** Modulation of oviductal transport in mares by local application of prostaglandin E2. *J Reprod Fertil Suppl.* 2000;(56):587-92. PMID: 20681173.
- Saucedo L, Bufa GN, Rosso M, Guillardoy T, Gongora A, Munuce MJ, Vazquez-Levin MH, Marín-Briggiler C (2015)** Fibroblast growth factor receptors (FGFRs) in human sperm: expression, functionality and involvement in motility regulation. *PLoS ONE* 10:e012729,2015.
- Sfakianoudis K, Simopoulou M, Nitsos N, Lazaros L, Rapani A, Pantou A, Koutsilieris M, Nikas Y, Pantos K.** Successful Implantation and Live Birth Following Autologous Platelet-rich Plasma Treatment for a Patient with Recurrent Implantation Failure and Chronic Endometritis. *In Vivo.*, v.33, p.515-521, 2019.
- Silva Filho AB, Freire LQB, Moraes WS, Brandão ISL, Batista TN, Mendonça M, Silva ER, Carneiro GF.** Perfil microbiológico e de resistência antimicrobiana in vitro de bactérias isoladas do útero de éguas subfêrteis. *Rev Bras Reprod Anim*, v.45, n.2, p.82-90. 2021.
- Sobral GG, Gomes Neto OC, Carneiro GF.** Effect of Supplementation with *Saccharomyces cerevisiae* and β -glucans to Mares During Late Gestation on Colostrum Quality and Passive Transfer of Immunity in Foals. *J Equine Vet Sci* Feb;121:104168, 2023.
- Steinman A, Venezia, SN.** Antimicrobial Resistance in Horses. *Animals* (10)7, p. 2-3, 2020.
- Taher-Mofrad SMJ, Topraggaleh TR, Ziarati N, Bucak MN, Nouri M, Seif S, Esmaili V, Rahimizadeh P, Shahverdi A.** Knockout serum replacement is an efficient serum substitute for cryopreservation of human spermatozoa. *Cryobiology* 92:208–214, 2020.
- Tormin SC, Navarini A, Almeida JOCF, Travassos LHR, y Negri MVG, Silva RA.** Análise do efeito bactericida do ozônio sobre bactérias multirresistentes. *Arq Med Hosp Fac Cienc Med Santa Casa São Paulo*. v.61, p.138-141, 2016.
- Troedsson MHT.** Endometritis. In: Mckinnon AO, Squires EL, Vaala WE, Varner DV. editors. *Equine Reproduction, Second Edition*. U.K: Wiley- Blackwell; 2011.
- Vargas H, Carneiro GF, Silva Filho AB, Nascimento Júnior JAA.** Identificação de endometrite subclínica em éguas doadoras de embriões. *Rev Academi Ciência Animal*, v.1, p.281-282, 2019.
- Van Niekerk CH, Gerneke WH.** Persistence and parthenogenetic cleavage of tubal ova in the mare. *Onderstepoort J Vet Res.* 1966 Jun;33(1):195-232. PMID: 6007779.
- Viana, FAB.** Guia terapêutico veterinário. 3º ed. Lagoa Santa – MG. Gráfica e Editora CEM, 2014.
- Wang X.** Emerging roles of ozone in skin diseases. *J of Central South University. Medical Science.* 43(2), p.114-123. 2018.
- Weber JA, Woods GL, Lichtenwalner AB.** Relaxatory effect of prostaglandin E2 on circular smooth muscle isolated from the equine oviductal isthmus. *Biol Reprod Monograph Series* 1 1995;52:125–130;
- Willyard, C.** The drug-resistant bacteria that pose the greatest health threats. *Nature*, v.15, p.543, 2017.
- Wollheim C, Gonçalves ES, Lopes KC, Bega A.** Efeito microbicida do ozônio gasoso em *pseudomonas aeruginosa*, *staphylococcus aureus* e *candida albicans*. *Revista ibero-americana de podologia*. v.2, n.1, p.122-125, 2020.
- Yamada ALM, Carvalho AM, Oliveira PGG, Felisbino SL, Queiroz DL, Watanabe MJ, Alves ALG.** Plasma rico em plaquetas no tratamento de lesões condrais articulares induzidas experimentalmente em equinos: avaliação clínica, macroscópica, histológica e histoquímica. *Arq Bras de Med Vet e Zootecnia*, v.64, p.323–332, 2012.
- Yeaman MR, Yount NY, Waring AJ, Gank KD, Kupferwasser D, Wiese, R; Bayer AS, Welch WH.** Modular determinants of antimicrobial activity in platelet factor-4 family kinocidins. *Biochimica et Biophysica Acta*, (1768)3, p.609–619, 2007.
-