

RESPOSTA LEUCOCITÁRIA DE ÉGUAS COM ENDOMETRITE PERSISTENTE PÓS COBERTURA TRATADAS COM PLASMA RICO EM PLAQUETAS

LOPES, Lucas Braga¹; NOGUEIRA, Andressa Francisca Silva²

Na espécie equina problemas reprodutivos relacionados a infecções em éguas como a endometrite são considerados uma das causas importantes de infertilidade, representando perdas econômicas na criação de cavalos.

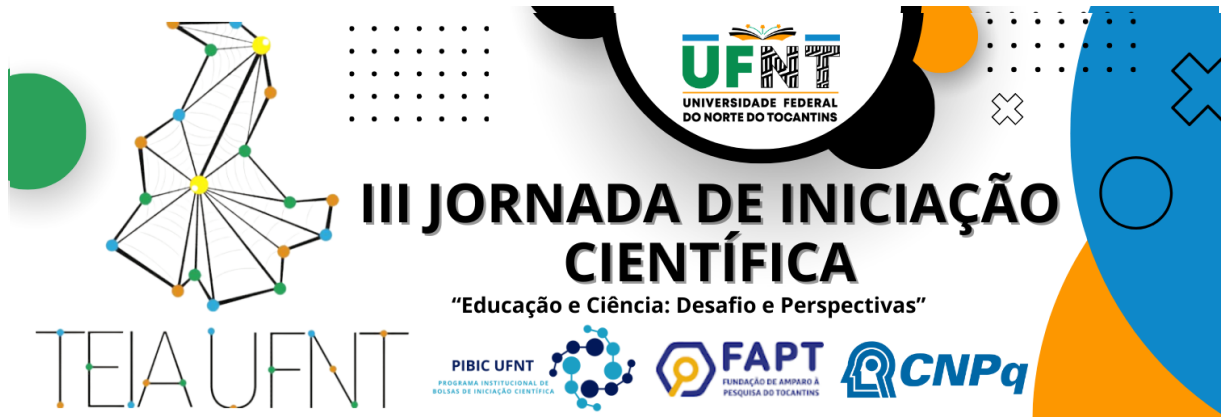
A inflamação do endométrio uterino, chamada endometrite, pode ser considerada uma doença multifatorial, de acordo com a sua etiologia e fisiopatologia, sendo considerada como a principal causa de subfertilidade e infertilidade em éguas. Animais sadios eliminam o processo inflamatório muito rápido, mas algumas éguas não são capazes de fazê-lo rapidamente. Essas éguas são consideradas susceptíveis quando não eliminam o processo inflamatório em até 48 horas após cobertura.

O estudo da disposição leucocitária é importante nas investigações da reação do organismo animal, principalmente frente a agentes tóxicos e infecciosos, sendo o resultado leucocitário dado por meio do leucograma, conferindo a evolução e a gravidade de um processo patológico, sistêmico ou localizado, pois reflete o estado de saúde dos animais. Para debelar o processo patológico a literatura descreve a administração de antibióticos administrados por via tópica e parenteral, conforme a natureza do agente causador.

Apresentação e Justificativa

Na espécie equina os problemas relacionados a infecções, como por exemplo a endometrite, são o principal motivo de perda econômica para os produtores, devido à queda na concepção, morte embrionária, gerando grande infertilidade no rebanho.

As éguas podem apresentar inflamações no útero pós-cobertura, pós-inseminação, pós-parto ou através de manipulação intrauterina. Em animais sadios, o processo inflamatório é resolvido rapidamente, entretanto, algumas éguas não são capazes de fazê-lo rapidamente, sendo consideradas susceptíveis quando não eliminam o processo inflamatório em até 48



horas. De maneira geral, essas fêmeas apresentam características em comum como idade avançada, histórico de falha reprodutiva em várias temporadas, histórico de episódios anteriores de endometrite e de falhas gestacionais (TROEDSSON, 1997).

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. O neutrófilo, a mais importante célula de defesa do útero, já se encontra presente na luz uterina 30 minutos após a cobertura atingindo o pico inflamatório em 12 horas (TROEDSSON, 1997).

Os exames hematológicos estão entre os mais práticos, econômicos e de maior utilidade na prática clínica. Isto porque o tecido sanguíneo tem por função principal manter a homeostasia corpórea; configurando um ótimo parâmetro de avaliação. Na hematologia clínica o leucograma destaca-se como importante recurso auxiliar no estabelecimento do diagnóstico, na dedução do prognóstico e na conduta clínica, permitindo inclusive a avaliação das enfermidades e orientação de tratamentos (CARVALHO, 2008).

O estudo da disposição leucocitária é muito importante nas investigações da reação do organismo animal, principalmente quando relacionados a agentes tóxicos e infecciosos. A análise do resultado leucocitário, por meio do leucograma dá-nos ideia da evolução e gravidade de um processo patológico, sistêmico ou localizado, nos animais domésticos, pois reflete o estado de saúde do animal, como nos processos infecciosos bacterianos ou viróticos, além dos processos neoplásicos e traumas teciduais (CARVALHO, 2008).

As múltiplas opções para tratar endometrites infecciosas visam a eliminação do agente causador e a expulsão dos debris inflamatórios. Para debelar o processo patológico a literatura descreve a administração de antibióticos conforme a natureza do agente causador e também associação a terapias alternativas como o plasma rico em plaquetas autólogo (PRP) (TAKAKURA, 2020).

I. BASE TEÓRICA

Para o tratamento de endometrite em éguas, um estudo determinou que a administração de plasma rico em plaquetas (PRP) no momento da cobertura diminuía a resposta inflamatória uterina em éguas com endometrite crônica (REGHINI et al., 2016). Este



corroborar com outro estudo onde o PRP diminuiu a expressão endometrial de COX-2, diminuindo o número de polimorfonucleares no lúmen uterino e aumentando os índices gestacionais (SEGABINAZZI et al., 2017). Também foi demonstrado por agir como um tratamento anti-inflamatório em éguas susceptíveis, levando a diminuição endometrial da expressão de mediadores inflamatórios (REGHINI ET AL., 2016; SEGABINAZZI ET AL., 2017).

II. OBJETIVOS

Verificar o comportamento dos leucócitos de éguas no pré e pós tratamento com PRP;

Correlacionar a resposta leucocitária com o uso de PRP como tratamento para éguas com endometrite.

III. METODOLOGIA

O presente trabalho foi desenvolvido em propriedades rurais e no Laboratório de Patologia Clínica da Clínica Veterinária Universitária da Universidade Federal do Norte do Tocantins, Centro de Ciências Agrárias, Campus Araguaína, localizado no município de Araguaína – TO.

No presente estudo foram avaliadas 8 éguas, sem distinção de raça ou idade, com histórico de acúmulo de líquido intrauterino e dificuldade para prenhez atendidas em propriedades rurais localizadas no município de Araguaína-TO e arredores, no período de outubro de 2023 a maio de 2024.

As éguas classificadas como susceptíveis a EPPC foram divididas de forma aleatória em 4 grupos contendo 2 animais: grupo um (G1), aplicação de 20 mL de PRP fresco 24 h antes e 4h após a realização da IA; grupo dois (G2), aplicação de 20 mL de PRP fresco 24 h antes da realização da IA e no mesmo momento congelado 20 mL de PRP a -5 °C, que foi descongelado em banho maria a 37°C, 4 h após a IA e aplicado; grupo três (G3), aplicação de 20 mL de PRP 4 h após a IA; grupo quatro (G4), aplicação de 40 mL de PRP 4h após a IA.

Foram coletadas amostras de sangue dos animais diagnosticados com EPPC em seis



momentos; M0: antes da aplicação do PRP, que ocorreu 24 h antes da IA; M1: 1 hora da aplicação do PRP, 4 h após da IA; M2: 24 horas após a aplicação do PRP; M3: 72 horas após o tratamento; M4: 96 horas após o tratamento; M5: 15 dias após o tratamento.

Foram coletados 4 mL de sangue por meio da punção da veia jugular, acondicionados em tubos contendo anticoagulante EDTA para realização do leucograma, conservados sob refrigeração até o encaminhamento ao Laboratório de Patologia Clínica para análise.

Para a contagem global de leucócitos foi realizada em câmara de Neubauer, segundo técnica descrita por THRALL et al (2015).

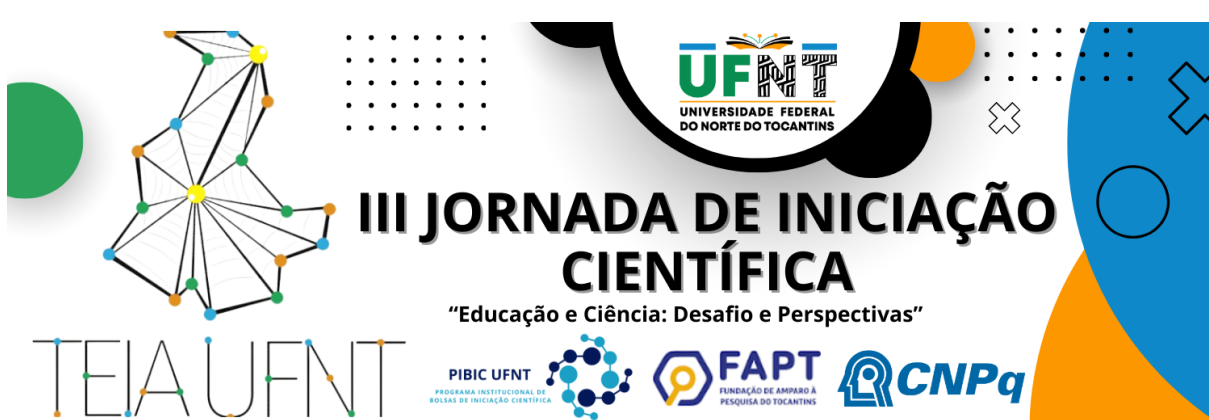
Para a contagem diferencial, foi confeccionado esfregaço com o sangue total contendo EDTA, corado com corante rápido tipo Panótico. Em microscopia óptica de imersão foram contadas 100 células, diferenciando-as entre os tipos leucocitários para obtenção do valor relativo (%). Para obtenção do valor absoluto foi realizado o cálculo do percentual sob o valor total de leucócitos, em cels/uL.

Para os valores de leucócitos totais e diferencial, nos diferentes momentos e grupos de éguas, foram realizados os cálculos das médias e desvio padrão, e os dados comparados por meio do teste T para os grupos tratamento com PRP. O nível de significância considerado foi de 5% (FISHER & BELLE, 1993).

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta os resultados da contagem total e diferencial do leucograma das 8 éguas sugestivas de EPPC submetidas a diferentes tratamentos com PRP.

Tabela 1: Valores médio do leucograma de éguas susceptíveis à endometrite persistente pós cobertura (EPPC) e submetidas a diferentes tratamentos com plasma rico em plaquetas (PRP). (n = 8)



Grupo	Leucograma	LT x 10 ³ (7 – 14)	NS x 10 ³ (2,1 – 9,0)	NB x 10 ³ (0 – 0,2)	Linf x 10 ³ (1,75 – 9,8)	Mon x 10 ³ (0,03 – 0,9)	Eos x 10 ³ (0,03 – 1,5)	Baso x 10 ³ (0 – 0)
	Momento							
G1	M0	12,3 a	6,3 a	0,1 a	5,2 a	0,5 a	0,2 a	0,0 a
	M1	12,6 a	6,0 a	0,1 a	5,9 a	0,4 a	0,2 a	0,0 a
	M2	13,3 a	6,1 a	0,0 a	6,3 a	0,6 a	0,3 a	0,0 a
	M3	11,9 a	5,6 a	0,1 a	5,5 a	0,4 a	0,3 a	0,0 a
	M4	12,9 a	5,9 a	0,0 a	5,7 a	0,5 a	0,6 a	0,0 a
	M5	13,4 a	6,8 a	0,0 a	5,8 a	0,3 a	0,4 a	0,1 a
G2	M0	13,2 a	7,8 a	0,0 a	4,7 a	0,2 a	0,5 a	0,0 a
	M1	12,4 a	7,4 a	0,0 a	4,0 a	0,4 a	0,6 a	0,0 a
	M2	12,9 a	7,6 a	0,1 a	4,6 a	0,3 a	0,3 a	0,0 a
	M3	12,7 a	6,9 a	0,0 a	5,1 a	0,3 a	0,3 a	0,1 a
	M4	13,4 a	7,1 a	0,1 a	5,6 a	0,1 a	0,5 a	0,0 a
	M5	13,1 a	6,8 a	0,0 a	5,7 a	0,2 a	0,4 a	0,0 a
G3	M0	12,4 a	5,1 a	0,0 a	6,2 a	0,5 a	0,6 a	0,0 a
	M1	11,8 a	4,9 a	0,0 a	6,0 a	0,4 a	0,5 a	0,0 a
	M2	11,9 a	5,0 a	0,0 a	5,9 a	0,5 a	0,5 a	0,0 a
	M3	12,6 a	5,2 a	0,1 a	6,3 a	0,4 a	0,6 a	0,0 a
	M4	12,7 a	5,1 a	0,0 a	6,4 a	0,5 a	0,7 a	0,0 a
	M5	12,1 a	5,4 a	0,0 a	5,9 a	0,3 a	0,5 a	0,0 a
G4	M0	12,6 a	4,7 a	0,0 a	6,5 a	0,7 a	0,6 a	0,1 a
	M1	12,9 a	5,1 a	0,0 a	6,7 a	0,5 a	0,6 a	0,0 a
	M2	12,3 a	4,9 a	0,0 a	6,3 a	0,4 a	0,7 a	0,0 a
	M3	11,7 a	4,7 a	0,0 a	5,9 a	0,6 a	0,5 a	0,0 a
	M4	12,9 a	5,2 a	0,1 a	6,6 a	0,4 a	0,6 a	0,0 a
	M5	13,5 a	5,5 a	0,0 a	6,8 a	0,5 a	0,7 a	0,0 a

LT: leucócitos totais; NS: neutrófilos segmentado; NB: neutrófilos bastonetes; Linf: linfócitos; Mon: monócitos; Eos: eosinófilos; Baso: basófilos.

G1: aplicação de 20 mL de PRP fresco 24 h antes e 4 h após a realização da IA; G2: aplicação de 20 mL de PRP fresco 24 h antes da realização da IA e no mesmo momento congelado 20 mL de PRP a -5 °C, que foi descongelado em banho maria a 37°C, 4 h após a IA e aplicado; G3: aplicação de 20 mL de PRP 4 h após a IA; G4: aplicação de 40 mL de PRP 4h após a IA.

M0: antes da aplicação do PRP, que ocorreu 24 h antes da IA; M1: 1 hora da aplicação do PRP, 4 h após da IA; M2: 24 horas após a aplicação do PRP; M3: 72 horas após o tratamento; M4: 96 horas após o tratamento; M5: 15 dias após o tratamento.

a: letras iguais na mesma coluna representam que não houve diferença estatística ao nível de significância de 5%.

Os valores médios de leucócitos totais e da contagem diferencial das éguas dos 4 grupos apresentaram-se dentro dos valores de referência para espécie e não houve diferença significativa entre os grupos e os momentos dentro de cada grupo.

Esses resultados sugerem que a EPPC, mesmo na fase anterior ao tratamento, estava restrita ao trato reprodutivo dos animais, não alcançando a circulação sanguínea e impacto sistêmico suficiente para modificar os parâmetros laboratoriais dos leucogramas avaliados nos diferentes tratamentos e tempos. De acordo com Stockham & Scott (2008), quando há doença



e os resultados do hemograma encontram-se dentro dos valores de normalidade, isso indica que a doença teve pouco impacto sob o sistema hematopoiético.

Corroborando com os resultados encontrados neste trabalho, Liu et al., (1985); Watson et al., (1987); apud Camozzato, (2010) demonstraram que éguas susceptíveis à EPPC possuem neutrófilos com menor capacidade de migração e fagocitose de agentes. Por outro lado, de acordo com Thrall et al. (2015), o número de neutrófilos pode se alterar rapidamente em resposta a uma doença em razão da sua rápida taxa de renovação no sangue.

Este aspecto também pode ser justificado por Troedson et al. (1997) que demonstrou que as éguas susceptíveis possuíam influência negativa de secreções uterinas, contendo menor quantidade de opsoninas, que são importantes no processo de quimiotaxia dos leucócitos, dificultando o recrutamento de células da corrente sanguínea, alterando os parâmetros laboratoriais.

Concomitante a isso, as interações dos leucócitos com o endotélio vascular durante a inflamação dependem de cascatas de engajamento de moléculas de adesão, particularmente durante o rolamento de leucócitos mediado por selectina. O rolamento de leucócitos também é facilitado por membros das famílias integrina e imunoglobulinas (D. STEEBER *et al.* 1999). Devido os animais susceptíveis a EPPC possuírem baixa quantidade de opsoninas, que são responsáveis pela cascata que desencadeia a reações sistêmicas de combate a inflamação, há uma inibição das respostas sistêmicas que seriam vistas no leucograma.

V. CONCLUSÃO/CONSIDERAÇÕES FINAIS

O leucograma de éguas com Endometrite Persistente Pós-Cobertura não apresentou alterações antes e após o tratamento com diferentes abordagens na aplicação do PRP, sugerindo que este parâmetro não deve ser utilizado isoladamente para avaliação de quadros de EPPC, acompanhamento de tratamento e avaliação do PRP para o tratamento dessa enfermidade em éguas.

VI. REFERÊNCIAS

CAMOZZATO, G. C. **Endometrite na égua**. Monografia (Graduação)- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Porto Alegre, 2010. Disponível em:<

<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/38780/000791946.pdf?sequence=1>>.

Acesso em: 06 de Maio de 2022.

CARVALHO, C. C. D. **Avaliação da proteína C reativa, fibrinogênio e leucograma em cadelas com piometra.** Dissertação (mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2008. Disponível em:<

<http://www.tede2.ufrpe.br:8080/tede2/bitstream/tede2/5305/2/Cleyton%20Charles.pdf>>.

Acesso em: 06 de Maio de 2022.

D. Steeber; M. L. K. Tang; N. E. Green; X. Zhang; J. E. Sloane; T. F. Tedder; "A entrada de leucócitos em locais de inflamação requer interações sobrepostas entre as vias L-selectina e ICAM-1." *J Immunol* 15 August 1999; 163 (4): 2176–2186. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.163.4.2176>

OLIVEIRA, R.A. **Endometrite.** Goiás: 2011. Disponível em:< <https://abqm.com.br/noticias/endometrite>>. Acesso em: 06 de Maio de 2022.

REGHINI, M. F. S. **Efeito do tratamento com plasma rico em plaquetas em égua resistentes e susceptíveis à endometrite persistente após inseminação artificial.**

Dissertação (mestrado) em Reprodução Animal - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu-SP. 2013. Disponível em:< <https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/43accb5c-c158-4b42-9b5a-e6d4a0989504/content>; Acesso em: 09 de Maio de 2022

STOCKHAM, S. L & SCOTT, M. A. **Fundamentos da patologia clínica veterinária.** Leucócitos. 2ª ed., Ed. Blackwell, Estados Unidos, 2008, 53-106, 936p.

TAKAKURA, Giovanna Santesso. **Avaliação do efeito da utilização de lavagem uterina com solução fisiológica ozonizada em éguas.** Repositório da Universidade Federal de Lavras. Dissertação (mestrado acadêmico); Universidade Federal de Lavras, 2020. Disponível em: <http://repositorio.ufla.br/jspui/handle/1/41917>. Acesso em: 06 de maio de 2022

THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R. W.; CAMPBELL, T. W. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária. Produção, Migração e Cinética dos Neutrófilos.** 2ª ed., Ed. Roca, São Paulo-Brasil, 2015, 268-275, 1590p.

VII. AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq – Brasil e Laboratório de patologia clínica veterinária da UFNT.