



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Artigo de revisão

PLASMA RICO EM PLAQUETAS NO TRATAMENTO DE ÉGUAS COM ENDOMETRITE PERSISTENTE PÓS-COBRIÇÃO/INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL: AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA CLÍNICA

Eloïse Vigreux

Coimbra, julho 2025



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Artigo de revisão

PLASMA RICO EM PLAQUETAS NO TRATAMENTO DE ÉGUAS COM ENDOMETRITE PERSISTENTE PÓS-COBRIÇÃO/INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL: AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA CLÍNICA

Coimbra, julho 2025

Eloïse Vigreux

Constituição do Júri:

Presidente do Júri:

Doutor Ferdinando Bernardino de Freitas

Arguente:

Doutor Luís Miguel Paiva Benites da Silva Atayde

Orientadora interna:

Doutora Joana Leal Freire Quelhas Reis

Trabalho realizado sob a orientação das Professoras:

Doutora Joana Leal Freire Quelhas Reis

Doutora Sónia Custódia Teixeira Macedo

Dissertação do Estágio Curricular do Ciclo de Estudos Conducente
ao Grau de Mestre em Medicina Veterinária da EUVG



Agradecimentos

Agradeço à Escola Universitária Vasco da Gama, a todos os docentes e funcionários, pela qualidade e riqueza do seu ensino.

Gostaria de agradecer às minhas orientadoras, Professora Joana Quelhas e Professora Sónia Macedo, por me terem ajudado na realização desta dissertação, pela sua constante disponibilidade e simpatia. Agradeço à minha professora de reprodução, Sónia Macedo, por me ter feito gostar desta área e pelas suas aulas, que muito me ajudaram na elaboração deste trabalho.

A todas as clínicas veterinárias que me acolheram como estagiária, pela confiança e pela disponibilidade demonstrada na partilha de conhecimentos. Aos meus tutores de estágio, que me ensinaram as boas práticas com um toque de humor.

Aos meus amigos e à minha madrinha de praxe, que se tornaram a minha segunda família, por todos os momentos e memórias portuguesas que partilhámos. À Estelle, que sempre me tranquilizou nos momentos de stress e incerteza. À Sarah, a minha parceira de vida, revisões, saídas e desporto.

À minha família, que me deixou partir nesta aventura num país onde não conhecia ninguém e onde não conhecia a língua. Aos meus pais, que me encorajaram e me permitiram seguir a profissão que sempre desejei. Ao meu irmão gémeo, que sempre me transmitiu boas energias.

Ao meu namorado, que sempre me apoiou e compreendeu, apesar da distância.

Aos meus animais, com quem cresci emocionalmente e que estiveram sempre felizes por me ver. Muito obrigada.

Índice geral

1. INTRODUÇÃO	4
2. ENDOMETRITE PERSISTENTE PÓS-COBRIÇÃO/INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM ÉGUAS	5
2.1. ANATOMIA E FISIOPATOLOGIA DO ÚTERO EQUINO.....	5
2.2. FATORES DE RISCO E CAUSAS DE ENDOMETRITES PERSISTENTES PÓS-COBRIÇÃO/INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL.....	6
2.2.1. Componente mecânica	6
2.2.2. Componente inflamatória.....	8
2.2.3. Componente microbiana	11
2.3. CONSEQUÊNCIAS NA FERTILIDADE E SAÚDE REPRODUTIVA.....	12
3. TRATAMENTOS CONVENCIONAIS PARA ENDOMETRITE PERSISTENTE PÓS-COBRIÇÃO/INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL	12
3.1. LAVAGENS UTERINAS, AGENTES ECBÓLICOS E ANTIBIÓTICOS SISTÉMICOS E INTRA-UTERINOS.	12
3.1.1. Lavagens uterinas	13
3.1.2. Uso de agentes ecbólicos: eficácia, métodos de administração, duração de ação....	14
3.1.3. Uso de antibióticos: eficácia, métodos de administração, limitações e resistência ..	15
3.2. NOVAS TERAPIAS E ABORDAGENS.....	17
3.2.1. Imunomoduladoras: corticosteroides, células estaminais, extratos de parede bacteriana	17
3.2.2. Peróxido de hidrogénio.....	18
3.2.3. Mucolíticos: dimetilsulfóxido, querosene, N-acetilcisteína.....	18
3.2.4. Quelantes: EDTA-Tris	19
4. PLASMA RICO EM PLAQUETAS – PRINCÍPIOS E MECANISMOS	19
4.1. COMPOSIÇÃO E CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS.....	19
4.1.1. Componentes do plasma rico em plaquetas: plaquetas, fatores de crescimento, proteínas bioativas	19
4.1.2. Variabilidade nas técnicas de preparação e concentração.....	21
4.2. MECANISMO ANTI-INFLAMATÓRIO E ANTIMICROBIANO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS NO ENDOMÉTRIO	23
4.2.1. Propriedades anti-inflamatórias e regenerativas dos fatores de crescimento.....	23
4.2.2. Propriedades antimicrobianas das moléculas bioativas.....	24

5. USO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS PARA TRATAMENTO DE ENDOMETRITE PERSISTENTE PÓS-COBRIÇÃO/INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM ÉGUAS	25
5.1. ESTUDOS EXPERIMENTAIS SOBRE O PLASMA RICO EM PLAQUETAS NA REPRODUÇÃO EQUINA.....	25
5.1.1. Administração intrauterina do plasma rico em plaquetas em éguas.....	26
5.1.2. Efeitos observados: redução da inflamação, melhoria da saúde do endométrio e impacto na fertilidade	27
5.2. UTILIZAÇÃO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS INTRAUTERINO COMO TERAPIA COMPLEMENTAR AOS TRATAMENTOS CONVENCIONAIS	28
5.3. FATORES QUE INFLUENCIAM A EFICÁCIA DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS.....	28
5.3.1. Fatores relacionados com o protocolo usado: método de preparação, momento de administração, frequência	28
5.3.2. Resposta das éguas de acordo com idade, histórico reprodutivo e gravidade da endometrite persistente pós-cobrição/inseminação artificial	29
6. VANTAGENS, LIMITAÇÕES E PERSPETIVAS FUTURAS DO USO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS.....	30
6.1. VANTAGENS DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS COMO TRATAMENTO COMPLEMENTAR ..	30
6.2. LIMITAÇÕES ATUAIS.....	30
6.2.1. Problemas de padronização na preparação e administração do plasma rico em plaquetas no útero de éguas.....	30
6.2.2. Custos e acessibilidade	31
6.3. PERSPETIVAS PARA PESQUISAS FUTURAS	31
7. CONCLUSÃO	32
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33

Índice de figuras

Figura 1 : Aparelho genital da égua	6
Figura 2 : Conformação vulvar normal/ Conformação vulvar indesejável	7
Figura 3 : Corte de imagens ultrassonográficas dos cornos uterinos em éguas	14

Índice de tabelas

Tabela 1 : Fatores de crescimento presentes nos grânulos plaquetários α e suas respectivas funções biológicas	21
Tabela 2 : Síntese de estudos sobre os métodos de preparação, características biológicas e protocolos de administração intrauterina de PRP em éguas reprodutoras	26

Lista de siglas, símbolos e abreviaturas

AB - Antibiótico

ACD-A- Ácido citrato de dextrose A

CL - Corpo Lúteo

COX-2 - Cicloxigenase 2

CRISP3 - “Cysteine-Rich Secretory Protein-3”

DMSO - Dimetilsulfóxido

DNA - Ácido Desoxirribonucleico

FC- Fatores de crescimento

GB- Glóbulos brancos ou leucócitos

Grânulos α - Grânulos alfa

Grânulos δ - Grânulos delta

Grânulos λ - Grânulos lambda

GV- Glóbulos vermelhos ou eritrócitos

H₂O₂ - Peróxido de hidrogénio

IA - Inseminação Artificial

IFN γ - Interferão gama

IL - Interleucina

IL-1RA - Interleucina 1 “receptor antagonist”

IL β - Interleucina beta

iNOS - Sintase do óxido nítrico induzível

IU - Intrauterino

LR - Lactato de Ringer

NAC- N-acetilcisteína

NETS - Neutrófilos Extracelulares “Traps”

NO - Óxido Nítrico

UI-Unidade Internacional

P4 – Progesterona

PGF2 α - Prostaglandina 2 α

PMNs - Polimorfonucleados

PRP - Plasma Rico em Plaquetas

PPP- Plasma Pobre em Plaquetas

SPZ – Espermatozoide

TGF- α - Fator de crescimento transformador alfa

TNF α - Fator de necrose tumoral alfa

tPMP-1- Proteína Microbicida Plaquetária induzida pela trombina-1

Plasma rico em plaquetas no tratamento de éguas com endometrite persistente pós-cobrição/inseminação artificial: avaliação da eficácia clínica

Eloïse Vigreux^a, Sónia Macedo^a, Joana Quelhas^{b,c}

^a Escola Universitária Vasco da Gama, Av. José R. Sousa Fernandes 197, Campus Universitário, Lordemão, 3020-210, Coimbra, Portugal (elovigreux@gmail.com) (sonia.macedo@euvvg.pt)

^b ICBAS- Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto, Rua Jorge Viterbo Ferreira, 228 4050-313 Porto, Portugal (jlfqreis@icbas.up.pt) (juquelhas@gmail.com)

^c CESPU-IUCS- Cooperativa de Ensino Superior Politécnico e Universitário, Avenida Central de Gandra, 1317 4585-116 Gandra PRD | Portugal, (joana.reis@iucs.cespu.pt) (juquelhas@gmail.com)

Resumo

A endometrite persistente pós-cobrição/inseminação artificial tem uma etiologia multifatorial e afeta uma grande proporção de éguas reprodutoras com historial de falhas reprodutivas. Sabe-se atualmente que uma endometrite fisiológica e transitória ocorre em resposta à presença de espermatozoides alogénicos, detritos celulares e imunológicos, bem como bactérias comensais ou patogénicas, sem que, à primeira vista, a origem seja necessariamente infecciosa.

Distinguem-se duas populações de éguas reprodutoras quanto à sua capacidade de modular a resposta inflamatória uterina de forma eficaz e atempada. As éguas consideradas resistentes conseguem, nas primeiras 48 horas, reduzir a presença de neutrófilos, citocinas pró-inflamatórias, bem como o edema endometrial e o fluido intrauterino acumulado. Por outro lado, as éguas suscetíveis apresentam um atraso na limpeza uterina, um desequilíbrio entre as citocinas pró e anti-inflamatórias, e acumulação de fluido e edema endometrial, criando um ambiente uterino desfavorável à migração e implantação embrionária.

Embora as terapias convencionais mostrem eficácia em muitas éguas, algumas continuam a não responder aos tratamentos. A resistência crescente e as limitações no uso de antibióticos sem testes prévios impulsionam a procura de terapias alternativas seguras. O plasma rico em plaquetas, devido às suas propriedades anti-inflamatórias, regenerativas e antimicrobianas, é uma alternativa promissora. Pode ser administrado por via intrauterina, isoladamente ou como complemento aos tratamentos convencionais, oferecendo uma nova abordagem para o tratamento da endometrite persistente pós-cobrição/inseminação artificial.

São necessários estudos adicionais para otimizar e uniformizar os protocolos de preparação e administração do PRP, tornando-o acessível à prática veterinária equina e viável para uso em larga escala, bem como para avaliar a sua eficácia a longo prazo.

Palavras-chave: Éguas resistentes, Endometrite, Imunomodulação, Infertilidade, Plasma Rico em Plaquetas, Terapia Alternativa

Abstract

Persistent endometritis post-covering/artificial insemination has a multifactorial etiology and affects a large proportion of broodmares with a history of reproductive failure. It is currently known that a physiological and transient endometritis occurs in response to the presence of allogeneic spermatozoa, cellular and immunological debris, as well as commensal or pathogenic bacteria, without the origin necessarily being infectious at first glance.

Two populations of broodmares are distinguished according to their ability to modulate the uterine inflammatory response effectively and in a timely manner. Mares considered resistant are able, within the first 48 hours, to reduce the presence of neutrophils, pro-inflammatory cytokines, as well as endometrial edema and accumulated intrauterine fluid. On the other hand, susceptible mares present a delay in uterine clearance, an imbalance between pro- and anti-inflammatory cytokines, and accumulation of fluid and endometrial oedema, creating a uterine environment unfavorable to embryonic migration and implantation.

Although conventional therapies show efficacy in many mares, some continue to not respond to treatments. The growing resistance and limitations in the use of antibiotics without prior testing drive the search for safe alternative therapies. Platelet-rich plasma, due to its anti-inflammatory, regenerative, and antimicrobial properties, is a promising alternative. It can be administered by intrauterine infusion, either alone or as a complement to conventional treatments, offering a new approach to treating persistent endometritis post-covering/artificial insemination.

Further studies are needed to optimize and standardize the preparation and administration protocols for PRP, making it accessible to equine veterinary practice and viable for large-scale use, as well as to evaluate its long-term efficacy.

Key words: Alternative Therapy, Endometritis, Immunomodulation, Infertility, Platelet Rich Plasma, Resistant mares

1. INTRODUÇÃO

A endometrite persistente é uma patologia reprodutiva comum e é a principal causa de infertilidade e de redução da eficiência reprodutiva em éguas reprodutoras (Troedsson, 1999).

Caracterizada por uma inflamação prolongada do endométrio, esta condição ocorre após a cobertura ou inseminação artificial (Katila, 1995). Após a cobertura/inseminação artificial, ocorre uma endometrite fisiológica e transitória, em resposta à presença dos espermatozoides, detritos celulares e agentes patogênicos. Cerca de 10 a 15% das éguas reprodutoras, são éguas suscetíveis à persistência dessa reação por um período prolongado (>48h), resultando na acumulação de fluido uterino e edema do endométrio, reduzindo assim a fertilidade, diminuindo as taxas de concepção, a taxa de sucesso da implantação embrionária e predisposição à ocorrência de infecções bacterianas e fúngicas subjacentes (Canisso *et al.*, 2016).

Até o momento, os tratamentos tradicionais envolvem normalmente a lavagem uterina, os agentes ecobólicos e antibióticos sistêmicos ou intrauterinos. No entanto, essas terapias podem ser insuficientes, podendo ser necessário recorrer a outras terapias imunomoduladoras para tornar o útero receptivo à gestação. Além disso, a resistência aos antibióticos (AB) é um problema crescente, e seu uso sistemático ou indiscriminado pode desestabilizar a microbiota uterina natural da égua. Por isso, torna-se importante dispor de um tratamento alternativo, regenerativo, eficaz, seguro e minimamente invasivo (Del Prete *et al.*, 2024).

Atualmente, o plasma rico em plaquetas (PRP) é uma terapia alternativa amplamente utilizada em Medicina Veterinária, principalmente pelas suas capacidades no tratamento de patologias cirúrgicas, ortopédicas, reprodutivas e até mesmo respiratórias (Kunz *et al.*, 2012).

A terapia com PRP consiste na administração de plasma autólogo, obtido diretamente do próprio animal, o que reduz o risco de reações imunológicas e de rejeição. O PRP é valorizado pelas suas propriedades anti-inflamatórias, regenerativas e antimicrobianas (Soares *et al.*, 2020). Sendo rico em fatores de crescimento e citocinas, o PRP promove a regeneração dos tecidos e reduz a inflamação (Segabinazzi *et al.*, 2017).

O uso do PRP permite complementar a abordagem tradicional do tratamento da endometrite persistente pós-cobrição/IA em éguas reprodutoras, pois oferece uma abordagem alternativa e direcionada para restaurar a função uterina e melhorar a fertilidade, com poucos riscos (Scoggin, 2016).

Assim, o uso do PRP no tratamento da endometrite persistente pós-cobrição/IA é um tema atual e em desenvolvimento, o que justifica o objetivo principal desta dissertação: realizar uma revisão da literatura veterinária sobre o tema, reunindo as informações necessárias para um melhor entendimento dos diferentes protocolos de preparação disponíveis, das diversas técnicas de aplicação e da sua eficácia clínica.

2. ENDOMETRITE PERSISTENTE PÓS-COBRIÇÃO/INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM ÉGUAS

2.1. ANATOMIA E FISIOPATOLOGIA DO ÚTERO EQUINO

O útero equino é bipartido, com um corpo longo, revestido por pregas longitudinais e composto por três camadas: a mucosa (endométrio), a muscular (miométrio) e a serosa (perimétrio) (Barone, 1990). Possui quatro barreiras de proteção contra a entrada de agentes patogénicos durante a cobrição: a vulva, o esfíncter vestibulo-vaginal, o cérvix (Figura 1) e um aparelho mucociliar responsável pela proteção e diminuição da capacidade de aderência das bactérias ao endométrio (Budras *et al.*, 1994).

As hormonas circulantes regulam as fases do ciclo éstrico (Canisso *et al.*, 2016). O estrogénio induz o comportamento de cio e altera o útero, provocando edema, secreção de fluido e abertura das barreiras físicas para facilitar a entrada dos espermatozoides (SPZ). A seguir a ovulação, ocorre o pico da hormona luteinizante e a formação do corpo hemorrágico, que evolui para corpo lúteo, responsável pela produção de progesterona (P4), a hormona da gestação. Após a ovulação, a P4 domina, promovendo o encerramento do cérvix (Budras *et al.*, 1994).

No momento da cobrição/inseminação artificial (IA), ocorre a entrada de SPZ, bactérias e detritos celulares, que são reconhecidos como agentes patogénicos pelo útero. Em resposta, o útero desencadeia uma primeira vaga de contrações miométriais mediadas por ocitocina e inicia uma reação inflamatória rápida do endométrio, conhecida como endometrite fisiológica (Christoffersen e Troedsson, 2017).

A endometrite pode ser dividida em duas categorias: infecciosas ou não infecciosas. No entanto, na prática clínica, estas ocorrem frequentemente em associação com outras (Magalhães *et al.*, 2024). A endometrite fisiológica ocorre dentro de 24h-36h após a cobrição/IA, manifestando-se pela acumulação de fluido no lúmen uterino e pelo fluxo de polimorfonucleados (PMNs) (Morris *et al.*, 2020).

Se a égua não consegue realizar a *clearance* do lúmen uterino em menos de 48h após a cobrição/IA, ela é considerada como suscetível, ao contrário da égua que consegue realizar a *clearance* no tempo

fisiológico, sendo considerada resistente à endometrite persistente pós-cobrição/IA (Katila,1995; Troedsson, 1999; Christoffersen *et al.*, 2012; Katila, 2016, Christoffersen e Troedsson, 2017; Canisso *et al.*, 2020; Morrell e Rocha, 2022; Pascottini *et al.*, 2023).

As contrações miométriais adequadas, juntamente com um equilíbrio entre os mediadores inflamatórios, permitem eliminar o excesso de SPZ, células, bactérias e detritos inflamatórios no tempo adequado (Troedsson e Woodward, 2016; Pascottini *et al.*, 2023).

Em éguas suscetíveis, esses mecanismos falham, resultando na acumulação de fluido intraluminal e de produtos inflamatórios, até 5 dias após a ovulação, em comparação com as éguas resistentes, capazes de os eliminar dentro das primeiras 24 horas (LeBlanc e Causey, 2009). Esta condição predispõe estas éguas a uma infecção secundária bacteriana ou fúngica e ao desenvolvimento de endometrites crônicas (Reghini *et al.*, 2016).

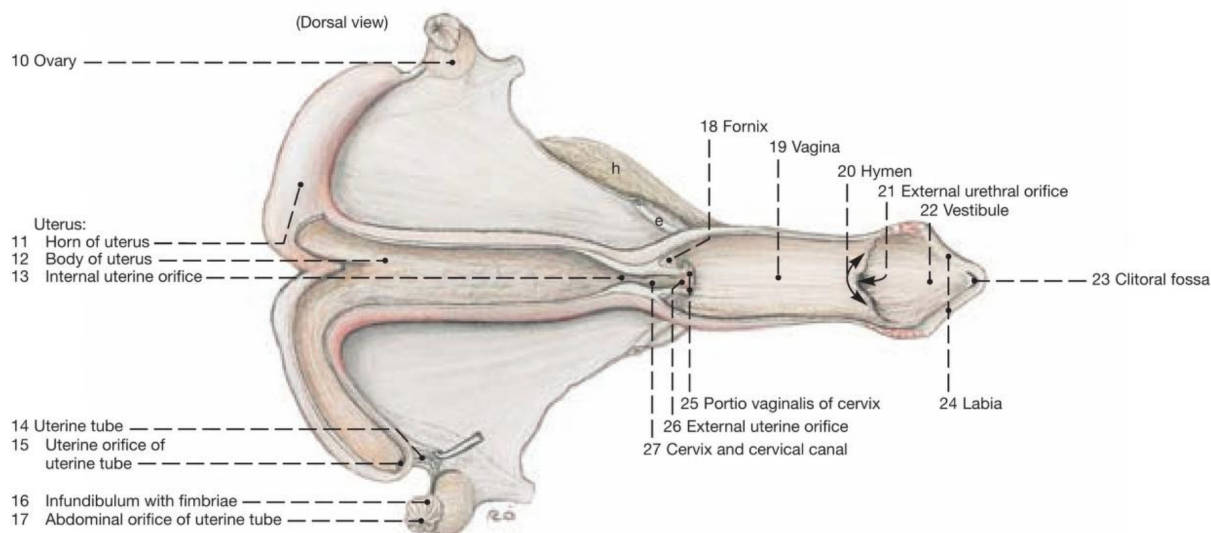


Figura 1 : Aparelho genital da égua (Budras et al., 1994)

2.2. FATORES DE RISCO E CAUSAS DE ENDOMETRITES PERSISTENTES PÓS-COBRIÇÃO/INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL

2.2.1. Componente mecânica

Algumas éguas têm dificuldades em realizar a *clearance* uterina, devido ao desenvolvimento de defeitos anatômicos e/ou degenerativos que atrasam a drenagem uterino (Canisso *et al.*, 2016).

As cobrições/IA ou partos repetidos podem causar defeitos anatômicos, como uma má conformação perineal, uma incompetência do prega vestibulo-vaginal e/ou cervical, estiramento vaginal,

desenvolvimento de um útero pendular, bem como aparecimento de defeitos degenerativos como alteração do miométrio, desenvolvimento de fibrose periglandular, degenerescência vascular, linfangiectasia, cicatrização e atrofia das pregas endometriais ou danos no aparelho mucociliar (Maischberger *et al.*, 2008).

Éguas multíparas podem apresentar uma má conformação vulvar e um aumento do ângulo de declinação vulvar. Normalmente, a vulva deve ter os lábios perfeitamente contíguos e estar orientada verticalmente, com 2/3 do comprimento da vulva situados abaixo da borda pélvica e 1/3 do comprimento acima (Figura 2) (Canisso *et al.*, 2016). Uma má conformação pode resultar em pneumovagina, urovagina, irritação contínua do útero e do cérvix (Maischberger *et al.*, 2008).



Figura 2 : Conformação vulvar normal/ Conformação vulvar indesejável (Maischberger *et al.*, 2008)

O esfíncter vestibulo-vaginal, é o único esfíncter que permanece ativo quando as éguas são em estro, prevenindo a aspiração de ar ou detritos na vagina cranial, porém a sua localização é um sítio comum de laceração durante o parto, a sua competência e integridade devem ser verificadas, para prevenir uma potencial contaminação uterina (Canisso *et al.*, 2016).

Éguas idosas ou com fibrose cervical secundária a um parto distócico ou manipulação repetida do cérvix, podem por sua vez, apresentar um cérvix estreito e alongado, contribuindo a acumulação de fluidos uterinos, por má abertura do cérvix e consequente drenagem uterina insuficiente (Morrell e Rocha, 2022).

Gestações sucessivas contribuem para a perda do suporte estrutural do trato reprodutivo caudal e para a distensão do ligamento largo, levando ao deslocamento ventral do útero na cavidade abdominal. Éguas com útero pendular têm a drenagem linfática ou cervical dificultada pela gravidade, o que favorece a acumulação de fluido livre no útero (Woodward e Troedsson, 2015).

Éguas subférteis com degeneração vascular devido a elastose, fibrose ou fibroelastose dos vasos endometriais apresentam comprometimento do fluxo sanguíneo uterino e perfusão tecidual. A perfusão diminuída pode resultar em uma quantidade inadequada de neurotransmissores, hormonas ou substâncias inflamatórias nos tecidos endometriais, bem como perturbar a drenagem uterina, por retorno venoso reduzido (Morrell e Rocha, 2022).

O endométrio é composto por células secretoras de muco e células ciliadas. Os cílios movem-se 13 vezes por segundo e ajudam no transporte de muco, fluido, bactérias e outros detritos ao longo das pregas endometriais longitudinais e do cérvix (Causey, 2007). As pregas endometriais localizam-se em toda a superfície da cavidade uterina e contribuem para a criação de um ambiente adequado ao desenvolvimento embrionário. Em um útero saudável, encontram-se edemaciadas durante o estro e não são identificáveis durante o diestro. No entanto, os espaços capilares dilatados entre as pregas e as pregas danificadas, cicatrizadas ou atroficas perturbam o mecanismo de *clearance* uterina. De igual forma, a ulceração, degeneração e a falta de cílios possuem o mesmo efeito (Causey, 2007). A acumulação prolongada de fluido e PMNs altera a atividade ciliar e a camada de muco, favorecendo a adesão bacteriana e a infecção uterina (Maischberger *et al.*, 2008).

2.2.2. Componente inflamatória

A deposição de sémen e bactérias leva ao aparecimento da primeira onda de contrações miométriais exercida pelo estímulo do cérvix e da vagina bem como a quimiotaxia e ativação de PMNs pelo lúmen uterino, dentro dos 30 minutos pós cobertura/IA (Fiala *et al.*, 2007). As contrações miométriais iniciadas pela ocitocina, têm de ser mantidas durante as 6-12h seguintes, para expulsar eficazmente o líquido do lúmen uterino pelo cérvix e pela vagina (Canisso *et al.*, 2020). Após a ovulação e o encerramento do cérvix, as partículas uterinas, o edema e as células inflamatórias remanescentes são drenadas através dos vasos linfáticos no interior do endométrio (Morris *et al.*, 2020). Qualquer interferência na expulsão do fluido intrauterino, favorece o aparecimento de alterações degenerativas do endométrio (Woodward *et al.*, 2013).

Os PMNs, uma vez ativados, libertam enzimas líticas responsáveis pela fagocitose das bactérias, esta atividade enzimática assegura a libertação de DNA dos PMNs e a produção de neutrófilos extracelulares “traps” (NETs). Os NETs são fibras extracelulares de DNA, que desempenham um papel importante na fagocitose após cobertura /IA, ligando-se seletivamente aos agentes patogénicos e não aos SPZ (Katila e Ferreira-Dias, 2022).

A atividade fagocítica e bactericida dos PMNs depende do complemento C3b e da imunoglobulina G; éguas suscetíveis apresentam concentrações significativamente mais baixas, sugerindo uma opsonização disfuncional (Woodward e Troedsson, 2015; Canisso *et al.*, 2020).

Durante a ativação dos PMNs, as suas paredes celulares secretam a prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$), através da ativação da cicloxigenase 2 (COX 2). A $PGF_{2\alpha}$ apesar de ser um mediador da inflamação, tem ainda papel na contração do miométrio, remoção de fluido uterino e detritos inflamatórios através do cérvix. A secreção de $PGF_{2\alpha}$ permite o aparecimento da segunda onda de contrações miométriais, facilitando a *clearance* uterina física (Christoffersen e Troedsson, 2017).

As éguas classificadas como suscetíveis, parecem ter uma capacidade reduzida para eliminar o fluido uterino e a frequência, duração e intensidade de contratilidade uterina pode estar comprometida pelo aumento da produção endometrial de óxido nítrico (NO), um potente relaxante da musculatura lisa. O NO é sintetizado por células imunológicas em excesso, através da óxido nítrico sintase induzível (iNOS). Éguas suscetíveis mostram uma quantidade mais elevada de NO nas secreções uterinas (Woodward, *et al.*, 2013) e um aumento da expressão endometrial de iNOS em resposta à cobertura/IA (Khan *et al.*, 2017).

O equilíbrio entre citocinas pró e anti-inflamatórias desempenha um papel fundamental na modulação da resposta inflamatória em éguas resistentes e suscetíveis à endometrite. O reconhecimento de antígenos e o recrutamento de células inflamatórias é exercido pelas citocinas pró-inflamatórias através da libertação de: IL-1 α , IL-1 β , TNF- α , IL-6 e IL-8 (Fumuso *et al.*, 2003; Woodward *et al.*, 2013). Éguas suscetíveis demonstram uma expressão endometrial mais elevada de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β , IL8 e TNF- α), em comparação com as resistentes, mesmo antes da exposição a agentes patogénicos (Fumuso *et al.*, 2007).

A modulação da resposta inflamatória, por sua vez, é efetuada pelas citocinas anti-inflamatórias: IL-10, IL-4, IL-13 e IL-1 “receptor antagonist” (IL-1RA). O equilíbrio adequado é mantido através da IL-1RA que compete com a IL-1 pela ligação ao recetor IL-1, impedindo a ligação das citocinas pró-

inflamatórias IL-1 α e IL-1 β . A IL-10 é sintetizada, tardiamente na resposta inflamatória, e tem papel anti-inflamatório sistêmico, na redução de transcrição de citocinas pro-inflamatórias pelos monócitos e macrófagos (Woodward *et al.*, 2013).

Embora a IL-6 seja, inicialmente uma citocina pró-inflamatória, a sua função é pleiotrópica devido à sua capacidade de ativar vários recetores e vias para funcionar como anti-inflamatório mais tarde no processo inflamatório. Éguas suscetíveis podem apresentar uma lacuna na manifestação das propriedades anti-inflamatórias da IL-6 (Fumuso *et al.*, 2003).

Woodward e os seus colaboradores, observaram que, cerca de 6 horas após a IA, as éguas suscetíveis apresentavam concentrações mais baixas de IL-10, IL-1RA e IL-6 em comparação com as resistentes, onde o pico é atingido nas 6h. Este estudo relata também que a citocina IL1- β , estava aumentada tanto às 2 como às 6 horas em éguas suscetíveis e resistentes, sugerindo que as éguas suscetíveis respondem de forma normal à presença dos SPZ, mas são incapazes de interromper o processo inflamatório uma vez ativado. Os dados sugerem que o período crítico no desenvolvimento da suscetibilidade das éguas é cerca de 6h pós-cobrição/IA (Woodward *et al.*, 2013; Ferris *et al.*, 2014).

A falha em resolver a endometrite persistente pós-cobrição/IA no tempo adequado, poderá ser devida à falha inicial de expressão de citocinas anti-inflamatórias no tempo apropriado, atrasando a resolução da inflamação uterina em éguas suscetíveis (Katila e Ferreira-Dias, 2022).

O interferão gama (IFN γ), é uma outra citocina pró-inflamatória, que ajuda na migração de células inflamatórias pela parede dos vasos sanguíneos e permite através da sua presença, a ativação da componente bactericida das células inflamatórias e aumenta a secreção de iNOS. A expressão do IFN γ é importante para o início da cascata de inflamação, e em éguas suscetíveis, a sua secreção é atrasada inicialmente e é mais lenta a regressar aos níveis pré-inseminação, o que coincide com a ocorrência de sinais clínicos de inflamação prolongada e infertilidade (Katila e Ferreira-Dias, 2022).

A resposta das citocinas à inflamação é o primeiro passo no reconhecimento e eliminação de agentes estranhos, por conseguinte, uma resposta local alterada das citocinas, tal como foi demonstrado em éguas suscetíveis, contribui para uma *clearance* uterina atrasada, deficiente e consequentemente infertilidade (ANEXO). Todas as éguas apresentam um padrão de expressão de citocinas, embora a resposta seja diferente entre as suscetíveis e as resistentes (Woodward e Troedsson, 2015).

O plasma seminal, para além das suas capacidades de transporte, nutrição e proteção dos espermatozoides, produz uma proteína crucial a “cysteine-rich secretory protein-3” (CRISP-3), que favorece a ligação dos PMNs a SPZ mortos e protege assim os SPZ viáveis. Estudos recentes demonstram que também a lactoferrina, outra proteína do plasma seminal, desempenha um papel em aumentar a fagocitose de SPZ mortos pelos PMNs. O plasma seminal possui também uma componente imunomoduladora, na resposta do endométrio à presença dos SPZ, através do aumento da libertação de algumas citocinas pró-inflamatórias (IL-8 e IL-1 β) e da supressão de outras (TNF) (Morris *et al.*, 2020).

2.2.3. Componente microbiana

Microrganismos patogénicos ou comensais têm uma porta de entrada no útero durante a cobrição/IA, enquanto éguas resistentes conseguem ter uma rápida resposta inflamatória e *clearance* uterina eficaz, éguas suscetíveis não e estão predispostas à ocorrência de uma endometrite infecciosa. Endometrites infecciosas contribuem amplamente para a subfertilidade de éguas reprodutoras (Katila *et al.*, 2022).

As endometrites são maioritariamente causadas por bactérias aeróbicas, mas as anaeróbicas podem também invadir o útero (Segabinazzi *et al.*, 2021a). As principais bactérias isoladas de endometrites na prática são *Streptococcus spp.*, seguido das coliformes, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella spp.* e *Staphylococcus aureus* (Canisso *et al.*, 2016; Kortam *et al.*, 2022; Mazzuchini *et al.*, 2024).

Entre todas, as mais prevalentes causadoras de endometrite aguda e crónica são *Streptococcus equi* subespécie *zooepidemicus* (*Streptococcus zooepidemicus*) e *Escherichia coli* (Gil-Miranda *et al.*, 2024).

Streptococcus zooepidemicus tem um maior impacto, pela sua capacidade oportunista, silenciosa e de invadir profundamente as glândulas endometriais, tornando-se resistente à terapia tradicional (Petersen *et al.*, 2015).

As infeções fúngicas ou por leveduras são menos frequentes, representando menos de 10% dos casos das endometrites infecciosas (Mazzuchini *et al.*, 2024). Tipicamente endometrites fúngicas são reportadas na literatura como secundárias, oportunistas e devido à utilização repetida de antibióticos, desregulando assim o microbioma uterino e facilitando a sua propagação (Gil-Miranda *et al.*, 2024).

Éguas suscetíveis estão predispostas ao desenvolvimento de endometrites crônicas, devido à capacidade de algumas bactérias e fungos produzirem um biofilme, que lhes permite escapar à fagocitose e limitar a penetração dos AB no tecido endometrial. O biofilme atua como uma barreira de proteção, favorecendo o aparecimento de resistências à terapia antimicrobiana comparativamente à infecção bacteriana planctônica. Aproximadamente 80% das bactérias isoladas do útero equino são capazes de produzir um biofilme (Canisso *et al.*, 2020). A bactéria mais relatada como produtora de biofilme no trato uterino é *Pseudomonas aeruginosa* (Ferris *et al.*, 2016).

2.3. CONSEQUÊNCIAS NA FERTILIDADE E SAÚDE REPRODUTIVA

A endometrite persistente pós cobrição/IA, representa um grande prejuízo económico na criação de cavalos, devido à sua etiologia multifatorial e resposta inflamatória atrasada e exagerada. A inflamação prolongada do útero cria um ambiente pouco propício à migração do embrião do oviduto até ao útero (5-6 dias pós-ovulação) e impede a implantação do embrião (Morrell e Rocha, 2022).

A neutrofilia persistente, o excesso de fluido intraluminal e a prolongada produção de citocinas pró-inflamatórias são condições embriotóxicas que diminuem a fertilidade (Christoffersen *et al.*, 2012).

Uma égua com antecedentes de endometrite persistente pós-cobrição/IA é muito provável que já tenha tido uma história de acumulação de fluidos IU antes e depois da cobrição, perda embrionária recorrente, retorno precoce ao estro, presença de corrimento vaginal, dificuldade em ter uma gestação bem-sucedida apesar de um manejo adequado na altura da cobrição/IA (Scoggin, 2016).

Éguas suscetíveis a endometrite persistente pós-cobrição/ IA, apresentam uma taxa de prenhez menor em relação a éguas resistentes, 49% vs 62% (Khan *et al.*, 2017). A reação inflamatória persistente predispõe ao desenvolvimento de fibrose e posterior endometrite crónica que limita a capacidade reprodutiva das éguas reprodutoras (Morrell e Rocha, 2022).

3. TRATAMENTOS CONVENCIONAIS PARA ENDOMETRITE PERSISTENTE PÓS-COBRIÇÃO/INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL

3.1. LAVAGENS UTERINAS, AGENTES ECBÓLICOS E ANTIBIÓTICOS SISTÉMICOS E INTRA-UTERINOS

As principais estratégias terapêuticas convencionais têm como objetivo corrigir os defeitos das defesas uterinas, neutralizar as bactérias virulentas e controlar a inflamação uterina dentro das 96h pós

cobrição/IA (LeBlanc, 2010). Convencionalmente, a terapia usada no tratamento de endometrites é baseada em lavagens uterinas, administração de agentes ecbólicos e antibióticos (Scoggin, 2016; Del Prete *et al.*, 2024).

Atualmente, a ausência de resposta satisfatória da terapia convencional, associada à crescente resistência aos antibióticos, cria uma necessidade de busca e desenvolvimento de terapias alternativas, seguras, eficazes e minimamente invasivas no endométrio (Scoggin, 2016).

3.1.1. Lavagens uterinas

As lavagens uterinas ajudam na remoção física dos microrganismos, SPZ mortos, detritos celulares e inflamatórios, que são prejudiciais ao ambiente uterino. Esta técnica segue a máxima intemporal de que “a solução para a poluição é a diluição” (Scoggin, 2016).

As lavagens uterinas são normalmente realizadas antes ou 4h após a cobrição/IA, tempo necessário para que todos os SPZ viáveis migrem até ao oviduto para que nenhum efeito adverso na fertilidade seja observado (Cazales *et al.*, 2018).

Este tratamento é recomendado para éguas que apresentam uma acumulação de fluido intrauterino > 2cm ou hiperecogénico na ecografia (Figura 3) pós-cobrição/IA (LeBlanc, 2010). Éguas com fluidos uterinos antes da cobrição/IA, podem ser lavadas com soluções cristalóides de Lactato de Ringer (LR) até 1h antes do momento da cobrição/IA. Soluções cristalóides, como LR e solução salina (NaCl 0,9%) são frequentemente utilizadas para lavar o útero das éguas e essas soluções podem ser enriquecidas com antissépticos como a povidona iodada, mucolíticos ou quelantes (Scoggin, 2016).

A eliminação do fluido IU acumulado é necessária, uma vez que o fluido possui detritos inflamatórios que afetam negativamente a motilidade dos SPZ e a fertilidade (LeBlanc e Causey, 2009). Na prática clínica, as lavagens são repetidas até à recuperação de um efluxo claro e imediatamente após um agente ecbólico é administrado para expulsar o fluido uterino (Scoggin, 2016).

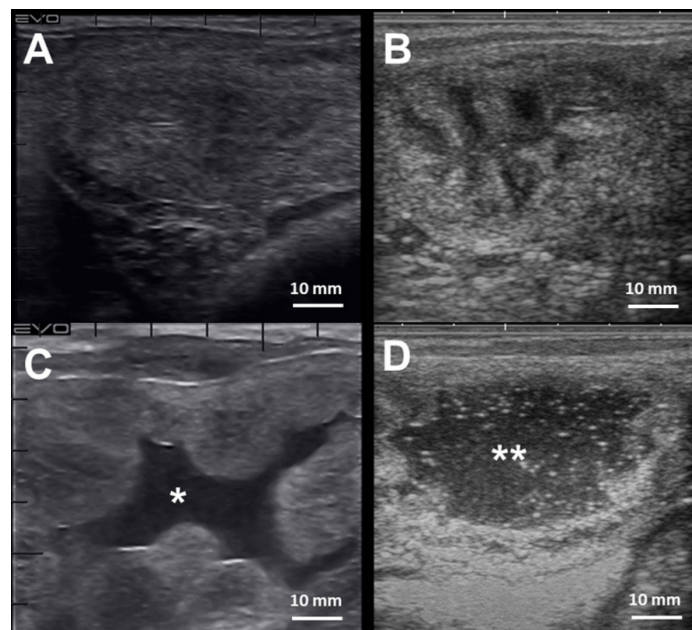


Figura 3 : Corte de imagens ultrassonográficas dos cornos uterinos em éguas (Canisso et al., 2020)

(A) Útero em diestro; (B) Útero em estro, caracterizado pela presença de edema nos vasos linfáticos que rodeiam a submucosa do endométrio, aspeto de “gomo de laranja”, (C) Edema exacerbado do endométrio com acumulação patológica de fluido intraluminal (*) e (D) Acumulação intensa de fluido intraluminal hipercogénico (**) numa égua com endometrite.

3.1.2. Uso de agentes ecbólicos: eficácia, métodos de administração, duração de ação

Agentes ecbólicos, como a ocitocina e a $\text{PGF}_{2\alpha}$, são fármacos que promovem as contrações uterinas necessárias para eliminar o excesso de fluido intrauterino pelo cérvix e drenagem linfática (Katila, 2016). Após a ovulação, o corpo lúteo inicia a secreção da P4, que fecha o cérvix, reduzindo a capacidade de eliminação de fluidos, contudo uma pequena quantidade de fluidos continua a ser drenada pelos vasos linfáticos uterinos (Budras *et al.*, 1994).

A ocitocina é um agente ecbólico muito usado, que pode ser administrado antes da cobertura/IA (até 1h antes) e a partir de 4h pós-cobrição, uma vez que o transporte de SPZ é considerado completo 3-4h pós cobertura/IA (Troedsson *et al.*, 2016). A ocitocina induz na maioria das éguas, contrações uterinas de grande amplitude, durante aproximadamente 30 min. O efeito é maior durante o estro, mas ainda está presente até 48h pós-ovulação (LeBlanc e Causey, 2009). Muitas éguas respondem rapidamente, pela expulsão rápida de fluidos. As doses recomendadas variam entre 10 e 25 UI, através de uma administração intravenosa ou intramuscular. Pequenas doses de ocitocina (10-25 UI) induzem

contrações uterinas rápidas de curta duração enquanto doses maiores (40 UI) resultam em contrações tetânicas, menos efetivas (Maischberger *et al.*, 2008).

A carbetocina é um análogo sintético da ocitocina, que induz contrações uterinas mais ligeiras e mais longas em comparação com a ocitocina endógena (Katila, 2016). A dose administrada é 175 µg por via intravenosa. A semi-vida da carbetocina é 2,5x superior à ocitocina endógena e pode ser benéfico em éguas que necessitem de contrações uterinas mais prolongadas ou que não respondam à administração prévia de ocitocina (Scoggin, 2016).

O cloprostenol é um análogo sintético da PGF2α, que induz contrações miométriais de pequena amplitude, mais longas (4-6h) e é recomendado para a drenagem de fluidos IU acumulados em casos de útero pendular, fibrose cervical ou estase linfática. Para além de poder ter efeitos secundários de cólica (Troedsson, 1999), o uso de PGF2α deve ser feito com precaução, devido ao seu efeito luteolítico e consequente diminuição da secreção de P4 necessária pela manutenção da prenhez. A sua administração 18-24h pós-ovulação pode comprometer o CL em formação resultando em concentração sistémica de P4 inferior à normal e diminuir a probabilidade de prenhez. Assim, o seu uso é limitado ao estro e dentro das 12h pós-ovulação e a dose administrada é 250 µg por via intramuscular (LeBlanc e Causey, 2009).

3.1.3. Uso de antibióticos: eficácia, métodos de administração, limitações e resistência

As endometrites persistentes podem ser classificadas consoante a sua origem como infecciosa ou não infecciosa. Endometrites bacterianas persistentes após cobertura/IA, podem ser desencadeadas por bactérias patogénicas ou oportunistas (Mazzuchini *et al.*, 2024).

Em casos de endometrites infecciosas, o uso de antibiótico contra uma bactéria considerada como patogénica para o trato uterino equino é requerido. Embora o tratamento com AB na ausência de uma identificação positiva de um agente patogénico tenha, em alguns casos, resolvido o problema de fertilidade, é contrário às recomendações atuais sobre o uso prudente de antibióticos (Pyörälä *et al.*, 2014).

O uso abusivo de AB levou a um rápido desenvolvimento de resistências e representa atualmente um problema importante na medicina veterinária (Tyrnenopoulou e Fthenakis, 2023). Portanto, antes de iniciar uma terapia com AB, o microrganismo deve ser previamente identificado, a sua sensibilidade

deve ser testada através de um antibiograma e depois a terapia poderá ser iniciada (Kortam *et al.*, 2022).

Os AB mais utilizados no tratamento de endometrites são os β -lactâmicos (ceftiofur, ampicilina, penicilina) e aminoglicosídeos (gentamicina e amikacina) (Pyörälä *et al.*, 2014). As duas bactérias isoladas com maior frequência, *S. zooepidemicus* e *E. coli*, são resistentes aos antibióticos comuns. Bactérias como *P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae* e até *S. zooepidemicus* são bactérias produtoras de biofilme, tornando assim difícil a sua remoção completa do útero (Scoggin, 2016).

A terapia antimicrobiana no tratamento de endometrite bacteriana é hoje efetuada antes da cobertura/IA, permitindo eliminar os potenciais patógenos e restaurar rapidamente a saúde do endométrio. Essa terapia é geralmente associada à irrigação do útero seguida do uso de um agente ecbólico e administração de um antibiótico adequado (Ghallab *et al.*, 2023).

A terapia antimicrobiana pode ser administrada por via intrauterina ou sistêmica. A via intrauterina, permite diminuir a quantidade de AB necessária, uma vez que uma grande concentração local é atingida e reduz o risco de distúrbio da flora bacteriana em outros órgãos, mas a penetração do AB intrauterino no tecido é inconstante, podendo assim favorecer o desenvolvimento de resistências. As administrações intrauterinas podem irritar a mucosa e facilitar a contaminação iatrogénica (Mazzuchini *et al.*, 2024).

Administrações sistêmicas de AB podem ser efetuadas em qualquer momento do ciclo éstrico, apresentando uma concentração terapêutica estável num período prolongado, no entanto podem desencadear efeitos secundários como diarreias e colite (Tyrnenopoulou e Fthenakis, 2023).

Na prática clínica, os antibióticos apropriados são geralmente administrados por via intrauterina durante 3-5 dias em estro para restaurar a saúde endometrial e limitar o aparecimento de endometrite infecciosa pós-cobrição/IA (Kortam *et al.*, 2022). Os antibióticos intrauterinos devem ser evitados durante o diestro, devido a concentração elevada de P4, uma hormona imunossupressora, que leva ao aparecimento de endometrite fúngica e/ou bacteriana resistente (Tyrnenopoulou e Fthenakis, 2023). Nos casos em que as éguas apresentam sinais claros de endometrite infecciosa após a cobertura/IA, o uso de AB é recomendado. No entanto, o número de éguas nesta condição é baixo e não justifica a administração sistemática de AB após cada cobrições/IA (Morrell e Rocha, 2022).

3.2. NOVAS TERAPIAS E ABORDAGENS

Muito embora a maioria das éguas respondam aos tratamentos convencionais para a endometrite persistente pós-cobrição/IA, há casos em que isso não acontece (Scoggin, 2016). Nos últimos anos, vários estudos foram realizados para desenvolver terapias novas e eficazes para lidar com a inflamação uterina prolongada, o aumento do número de bactérias produtoras de biofilme e a emergência de resistências antimicrobianas (ANEXO). As terapias não tradicionais podem ter propriedades imunomoduladoras, antimicrobianas, mucolíticas e quelantes (Mazzuchini *et al.*, 2024).

3.2.1. Imunomoduladoras: corticosteroides, células estaminais, extratos de parede bacteriana

O uso de corticosteroides como a prednisolona ou dexametasona no tratamento de endometrites persistentes pós cobrição/IA em éguas suscetíveis, diminui a acumulação de fluido IU e aumenta a taxa de prenhez (Katila e Ferreira-Dias, 2022).

A terapia com dexametasona reduz a expressão endometrial de (IL-1 β e IL-8) e induz a supressão de mediadores inflamatórios como COX-2 e o NO (Christoffersen *et al.*, 2012). A dexametasona modula a resposta inflamatória, mas diminui também as contrações miometriais, através da diminuição de COX-2 e consequentemente provoca uma diminuição da PGF2 α , necessária para contrair o miométrio. Por este motivo, deve ser administrado um agente ecbólico durante o uso de dexametasona. Após a terapia, a modulação da resposta inflamatória aumenta através do aumento de (IL-6, IL-10, e IL-1RA). Portanto, os corticosteroides permitem melhorar o equilíbrio alterado, entre citocinas pró e anti-inflamatórias em éguas suscetíveis (Christoffersen *et al.*, 2012).

As células estaminais, por sua vez, têm propriedades de imunomodulação e atuam sobre a degeneração do endométrio, através da migração das células no endométrio alterado como no tecido periglandular ou glandular. As células estaminais são células heterólogas, obtidas de tecido adiposo, medula óssea, tecido endometrial ou amniótico, que têm a capacidade de se diferenciar em vários tipos de células (Mazzuchini *et al.*, 2024). Quando há danos, as células estaminais libertam um conjunto de moléculas bioativas que regulam a resposta inflamatória endometrial, através da diminuição do número de PMNs no lúmen uterino e aumento da citocina imunomoduladora IL-1 RA (Ferris *et al.*, 2014). Apesar desta técnica ser minimamente invasiva para a égua, a técnica é elaborada e requer uma grande quantidade de cultura de células, técnicas de cultura especiais e experiência da parte do operador (Ferris *et al.*, 2014).

O extrato de parede celular de *Mycobacterium phlei* é um imunomodulador que atua sobre a resposta imunitária humoral inata e é usado para o tratamento da endometrite equina causada por *Streptococcus zooepidemicus*. O seu mecanismo de ação é baseado na redução da expressão endometrial de IL-1 β , IL-6 e TNF α pós cobertura e aumento da expressão da IL-10. A secreção de NO também é reduzida (Canisso *et al.*, 2020). Outro imunomodulador, composto por extrato de parede bacteriana é o *Propionibacterium acnes*, que atua sobre a resposta imunitária celular inespecífica, através da ativação de macrófagos e liberação de citocinas (Canisso *et al.*, 2020).

3.2.2. Peróxido de hidrogénio

O peróxido de hidrogénio (H₂O₂), foi usado no passado pelas suas propriedades antissépticas, mas presentemente sabe-se que tem uma atividade antimicrobiana de largo espectro, tal como atividade contra vários microrganismos como bactérias, fungos, vírus, leveduras e esporos. O H₂O₂ possui bons resultados antimicrobianos *in vitro* contra bactérias planctónicas e produtoras de biofilme exceto para *P. aeruginosa* (Mazzuchini *et al.*, 2024), devido à sua capacidade de inibir o processo enzimático essencial para a sobrevivência dos microrganismos e à liberação de radicais de oxigénio que penetram e rompem a parede celular e o DNA intracelular dos agentes patogénicos (Scoggin, 2016).

3.2.3. Mucolíticos: dimetilsulfóxido, querosene, N-acetilcisteína

Agentes mucolíticos como o dimetilsulfóxido (DMSO), querosene ou N-acetilcisteína (NAC) podem ser associados aos fluidos das lavagens uterinas para tentar eliminar o fluido, muco ou biofilme e assim potenciar o efeito dos AB (Del Prete *et al.*, 2024).

O DMSO é conhecido pelas suas propriedades anti-inflamatórias, bacteriostáticas e anti-biofilme. A inflamação é reduzida através da eliminação dos radicais livres. A combinação de fluidos salinos com o DMSO traduz-se numa melhor taxa de prenhez, comparativamente à utilização de solução salina isolada. São também observados resultados benéficos no score da biópsia endometrial (Scoggin, 2016).

O querosene é utilizado como solvente para remover mucilagem persistente e, embora provoque uma inflamação intensa e, por vezes, de tipo difterioide, não foram observados efeitos secundários a longo prazo no útero. Em éguas suscetíveis, com acumulação grave de fluido IU ou insucessos terapêuticos, a infusão de querosene demonstrou aumentar a taxa de prenhez. A sua associação com solução salina revelou-se também eficaz em casos de fibrose severa, atuando como uma curetagem química do

epitélio e favorecendo um ambiente uterino propício ao desenvolvimento embrionário (Scoggin, 2016).

A NAC é um mucolítico cujo mecanismo de ação se baseia na rutura das ligações dissulfureto entre polímeros, reduzindo assim a viscosidade do muco no endométrio. Para além disso, possui propriedades anti-inflamatórias. A sua utilização contribui para evitar o uso indiscriminado de AB e pode melhorar a taxa de prenhez (Canisso *et al.*, 2016).

3.2.4. Quelantes: EDTA-Tris

Os agentes quelantes oferecem uma opção terapêutica em casos de endometrite bacteriana refratária, potenciando os efeitos de alguns AB e reduzindo as suas concentrações inibitórias médias. O seu mecanismo de ação não é completamente entendido, mas é especulado que o quelante agrega os catiões divalentes da membrana externa da bactéria, levando à alteração da permeabilidade e integridade da parede celular bacteriana (LeBlanc, 2010). Estudos *in vitro* demonstram que o EDTA-Tris é altamente eficaz sobre *E. coli* em estado planctónico, mas inconsistente na redução do número de unidades formadoras de colónias e na interrupção da produção de biofilme para *P. aeruginosa* ou *K. pneumoniae*. Perante isto, os quelantes são atualmente reservados ao uso em caso de endometrites refratárias causadas por *E. coli* (Ferris *et al.*, 2016).

4. PLASMA RICO EM PLAQUETAS – PRINCÍPIOS E MECANISMOS

4.1. COMPOSIÇÃO E CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS

O Plasma rico em plaquetas (PRP) é um produto autólogo, obtido diretamente a partir do sangue do próprio animal e neste caso da égua, eliminando o risco de contaminações cruzadas, reações autoimunes e doenças transmissíveis. O PRP é uma suspensão de plasma que contém todos os componentes do sangue total em quantidade variável (Brossi *et al.*, 2015), de acordo com o termo, o PRP para ser rico em plaquetas deve ter pelo menos 300 000 plaquetas/ μ l e ser concentrado com três a cinco vezes mais plaquetas (Segabinazzi *et al.*, 2017; Lee *et al.*, 2018).

4.1.1. Componentes do plasma rico em plaquetas: plaquetas, fatores de crescimento, proteínas bioativas

O PRP é constituído por um concentrado de plaquetas, contendo várias moléculas bioativas tais como fatores de crescimento (FC) e citocinas bem como neutrófilos, células estaminais e numerosas proteínas com propriedades antibacterianas e antifúngicas (Kortam *et al.*, 2022).

As plaquetas são pequenos fragmentos de células anucleadas (2 a 3 μm de diâmetro), de forma discoide, geradas a partir do citoplasma dos megacariócitos da medula óssea, com uma vida útil de cerca de 7 a 10 dias (Hartwig e Italiano, 2003). As plaquetas são conhecidas pelas suas funções hemostáticas e coagulantes (Georg *et al.*, 2010), e estudos recentes revelaram que elas contêm uma grande variedade de proteínas bioativas com funções diversas como os FC, citocinas e quimiocinas (Pasch *et al.*, 2021).

As plaquetas contêm três tipos de grânulos (alfa (α), delta (δ) e lambda (λ)), que são responsáveis pela liberação de várias proteínas e outras substâncias essenciais para os processos de reparação e cicatrização dos tecidos. Os FC são as principais proteínas úteis no PRP, são armazenados nos grânulos plaquetários α e desempenham um papel essencial na angiogênese e na regulação de processos celulares, incluindo a quimiotaxia, mitogênese e diferenciação (Fraile *et al.*, 2023).

Após a ativação plaquetária, as plaquetas sintetizam e secretam múltiplos FC, através da reorganização do citoesqueleto plaquetário, que permite o deslocamento dos grânulos plaquetários para o centro da célula, fundindo-se com o sistema canalicular aberto para libertar os FC e citocinas no ambiente extracelular (Soares *et al.*, 2020).

Os FC segregados estimulam diretamente as células mesenquimatosas e epiteliais locais a migrar, dividir-se e aumentar a síntese de colagénio e matriz, para a formação de tecido conjuntivo fibroso e formação de cicatrizes. Além disso, muitos dos FC libertados nos tecidos danificados podem interagir entre si, proporcionando a ativação de diferentes vias de sinalização intracelular, para uma melhor reparação dos tecidos (Pavlovic *et al.*, 2016).

Os grânulos α são responsáveis pela liberação dos seguintes fatores de crescimento: o FC derivado das plaquetas, o FC transformador- $\beta 1$, o FC epidérmico, o FC endotelial vascular e o FC dos fibroblastos, que desempenham uma variedade de funções biológicas (Tabela 1) (Pavlovic *et al.*, 2016). O FC semelhante à insulina-1, é armazenado no plasma e não nas plaquetas, mas pode ser transportado para as plaquetas pelas proteínas de ligação do FC semelhante à insulina-1.

Os grânulos δ contêm principalmente substâncias que promovem a coagulação, como o cálcio, magnésio, adenosina, serotonina e histamina (Pavlovic *et al.*, 2016). Os grânulos λ são organelos do tipo lisossômico e tal como os lisossomas de outros tipos de células, contêm as enzimas necessárias ao processo de degradação de proteínas, lípidos e hidratos de carbono. Estão ainda envolvidos na remoção de resíduos de tecidos danificados e de agentes infecciosos (McCarrel, 2023).

Concentrações elevadas de plaquetas no PRP resultam numa maior libertação de FC, citocinas e péptidos antimicrobianos naturais que modulam a resposta imunitária uterina e as infeções bacterianas (Segabinazzi e Canisso, 2021).

No entanto, o PRP é mais do que apenas plaquetas, contém diversos fatores bioativos que atuam nas vias anabólicas, catabólicas, pró-inflamatórias e anti-inflamatórias (Boswell *et al.*, 2012).

Tabela 1: Fatores de crescimento presentes nos grânulos plaquetários α e suas respectivas funções biológicas (adaptado de Pavlovic *et al.*, 2016)

Nome	Função
FC derivado das plaquetas	Aumenta a síntese de colagénio, a proliferação de células ósseas, a quimiotaxia e a atividade proliferativa dos fibroblastos, a ativação dos macrófagos
FC transformador- β 1	Aumenta a síntese de colagénio de tipo I, promove a angiogénese, estimula a quimiotaxia das células imunitárias, inibe a formação de osteoclastos e a reabsorção óssea
FC endotelial vascular	Estimula a angiogénese, a migração e a mitose das células endoteliais, aumenta a permeabilidade dos vasos, estimula a quimiotaxia dos macrófagos e dos PMNs
FC epidérmico	Estimula a proliferação celular, a diferenciação das células epiteliais, promove a secreção de citocinas pelas células mesenquimatosas e epiteliais
FC dos fibroblastos	Promove a proliferação de células mesenquimatosas, condrócitos e osteoblastos, estimula o crescimento e a diferenciação de condrócitos e osteoblastos
FC semelhante à insulina-1	Promove o crescimento, a diferenciação e o recrutamento de células nos ossos, vasos sanguíneos, pele e outros tecidos, estimula a síntese de colagénio juntamente com o FC derivado das plaquetas

4.1.2. Variabilidade nas técnicas de preparação e concentração

Atualmente, existem muitos sistemas de preparação de PRP disponíveis no mercado, com um tempo e uma velocidade de centrifugação definidos.

Os processos de preparação têm em conta os diferentes gradientes de densidade dos componentes sanguíneos, de modo a concentrar as plaquetas. Geralmente, os protocolos incluem um ou dois passos de centrifugação (Soares *et al.*, 2020). Primeiramente, o sangue é colhido diretamente para tubos de colheita ou sacos de transfusão de sangue, que contêm anticoagulantes como o citrato de sódio ou o ácido de citrato de dextrose A (ACD-A) (Giraldo *et al.*, 2015). O uso de anticoagulantes impede a ativação das plaquetas e a formação de coágulos. De seguida, o sangue é colocado em tubos cónicos e é centrifugado para preparar o PRP (Garbin *et al.*, 2021).

A centrifugação de sangue total com um anticoagulante resulta num sobrenadante de plasma com um gradiente de concentração celular. Os eritrócitos, sendo mais densos, permanecerão como a camada de células compactadas no fundo do tubo, após a primeira centrifugação. O “buffy coat” de glóbulos brancos (GB) encontra-se no topo da camada de glóbulos vermelhos (GV). As plaquetas estão na camada acima da camada leucocitária, e diminuem de concentração em direção ao topo da camada de plasma. A camada leucocitária e o plasma podem ser recolhidos e retirados para proceder a uma segunda centrifugação para aumentar a concentração de plaquetas (Boswell *et al.*, 2012).

Os vários sistemas de preparação de PRP disponíveis, mostram resultados diferentes na eficiência e repetibilidade da recolha de plaquetas, na contagem final de leucócitos, na ativação plaquetária e na facilidade de uso. As diferenças entre as preparações de PRP podem dever-se ao protocolo selecionado ou a muitos outros fatores intrínsecos ou extrínsecos que também afetam o produto final, como as características individuais de cada cavalo, como a idade e as patologias. O armazenamento do sangue total antes do processamento induz uma variabilidade suplementar nas características finais do PRP e das plaquetas (McCarrel, 2023).

Estão disponíveis vários sistemas de produção, mas ainda não existe um protocolo único para a produção de PRP (Lee *et al.*, 2018). Não há ainda um consenso na comunidade científica quanto à quantidade total de plaquetas necessárias para que o PRP seja considerado como eficaz (O’Shea *et al.*, 2014). Embora o PRP contenha principalmente plaquetas, também inclui outros componentes do sangue em quantidades variáveis, conforme o protocolo utilizado. Com base no teor de plaquetas, leucócitos e fibrina, o PRP pode ser classificado em diferentes tipos, como plasma pobre em plaquetas, PRP rico ou reduzido em leucócitos, e PRP com fibrina (Brossi *et al.*, 2015).

O princípio da preparação do PRP para fins terapêuticos consiste em reduzir os GV a 5%, que têm pouca utilidade no processo de cicatrização, e aumentar para 94% as plaquetas, que têm efetivamente propriedades regenerativas (Vandeweerd, 2022).

Os esforços para reduzir o número de GV, por meio de centrifugações com diferentes forças gravitacionais e tempos, permitem uma diminuição considerável da sua concentração, embora alguns ainda permaneçam no produto final. Os GV e os GB têm um papel relevante na resposta imunitária. Como os GV estimulam a produção de mediadores pró-inflamatórios, como a IL-1 e o TGF- α , é essencial reduzir a sua presença na preparação do PRP (Lee *et al.*, 2018).

A presença dos GB no PRP é ainda controversa, pois foram registados efeitos adversos. Os fatores pró-inflamatórios, como a IL-1 e o TGF- α , podem aumentar devido à concentração de PMNs. Uma concentração elevada de GB pode diminuir a síntese da matriz extracelular. O possível efeito benéfico pode estar associado à sua atividade anti-infeciosa, tal como o relatado no estudo de 2021 de Segabinazzi, em que a infusão intrauterina de leucócitos acelerou a eliminação de bactérias contidas no útero de éguas suscetíveis a endometrite persistente pós cobrição/IA (Segabinazzi *et al.*, 2021a).

A ativação das plaquetas pode ocorrer de forma endógena, no local da lesão, ou exógena, antes da aplicação do PRP. No PRP, com plaquetas ainda inativas, o contacto com o colagénio fibrilar, a trombina ou a membrana basal das células leva à ativação dos trombócitos, com a libertação de grandes quantidades de moléculas bioativas dos grânulos α das plaquetas (Soares *et al.*, 2020). No entanto, em alguns protocolos, essa ativação ocorre previamente, tornando os FC imediatamente disponíveis para o tecido danificado (Soares *et al.*, 2020).

De forma geral, a quantidade total de FC é libertada cerca de uma hora após a ativação das plaquetas, enquanto 70% desses fatores são libertados nos primeiros 10 minutos. Isto sugere que a ativação exógena das plaquetas pode conduzir a uma secreção rápida de FC, mas também a uma diminuição do tempo de exposição dos tecidos danificados a esses fatores (Pavlovic *et al.*, 2016).

O PRP pode ser congelado e descongelado para obter o efeito de lise das células e das plaquetas e promover assim a libertação massiva dos FC, das citocinas e outras proteínas (Colombo *et al.*, 2021). Estas preparações denominam-se lisados plaquetários e têm a vantagem de poderem ser congelados, armazenados e de permitirem uma utilização flexível e alogénica (Colombo *et al.*, 2021).

As preparações de PRP são heterogéneas, uma vez que dependem da quantidade inicial de plaquetas, de anticoagulantes, da quantidade de leucócitos e da adição de fatores de ativação (Vandeweerd, 2022).

4.2. MECANISMO ANTI-INFLAMATÓRIO E ANTIMICROBIANO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS NO ENDOMÉTRIO

4.2.1. Propriedades anti-inflamatórias e regenerativas dos fatores de crescimento

Os mecanismos anti-inflamatórios do PRP não estão bem clarificados (Colombo *et al.*, 2021). No entanto, observou-se que o plasma autólogo aumenta a fagocitose e a quimiotaxia dos PMNs no útero até 24h após a IA, sugerindo uma ação como opsonina e agente quimiotático (Pascoe, 1995).

Adicionalmente, o tratamento com PRP aumentou os níveis de quimiocinas segregadas pelos macrófagos e células endoteliais. As quimiocinas alteram o gradiente quimiotático, inibindo a migração de leucócitos da circulação para o tecido endometrial, reduzindo significativamente a percentagem de PMNs 24h após a IA (Reghini *et al.*, 2016).

Diferentes estudos mostram que os FC têm uma atividade anti-inflamatória e que estão envolvidos nos mecanismos de regulação das citocinas pró-inflamatórias, estas propriedades foram também observadas no endométrio de éguas suscetíveis quando o PRP foi administrado em infusão intrauterina (Dzyekanski *et al.*, 2012).

O PRP reduz a quimiotaxia dos PMNs, devido ao aumento da lipoxina A4 e à inibição do fator nuclear kappa beta (um complexo proteico que ativa os genes que codificam as citocinas pró-inflamatórias), levando à regulação de mediadores pró-inflamatórios como o TNF- α , a IL-1 e a COX-2, observados em vários processos inflamatórios (Colombo *et al.*, 2021; Pasch *et al.*, 2021; McCarrel, 2023).

Após um tratamento uterino por PRP, a secreção de IL-10 aumenta, enquanto as secreções de IL-1 β , IL-6, IL-8, iNOS e COX-2 diminuem (Metcalf *et al.*, 2012; Metcalf, 2014; Segabinazzi *et al.*, 2017; Segabinazzi *et al.*, 2021a).

As concentrações de FC libertados pelas plaquetas podem ser determinantes na eficácia da regeneração dos tecidos. Um maior número de plaquetas no PRP corresponde a níveis mais elevados de FC disponíveis e desta forma uma regeneração tecidular aumentada (McCarrel, 2023). O PRP acelera a neovascularização e, por conseguinte, aumenta o fornecimento de sangue e nutrientes necessários para a regeneração celular nos tecidos danificados. Além disso, ao aumentar o fornecimento de sangue, o PRP estimula a proliferação e a diferenciação das células, que estão envolvidas no processo de cicatrização (Pavlovic *et al.*, 2016).

4.2.2. Propriedades antimicrobianas das moléculas bioativas

O mecanismo antibacteriano do PRP não é totalmente compreendido, embora algumas evidências sugiram que as plaquetas poderiam desempenhar um papel fundamental na defesa antimicrobiana do hospedeiro e parecerem ter propriedades antimicrobianas dependentes da dose (Segabinazzi *et al.*, 2021a).

As plaquetas, uma vez ativadas, são capazes de detetar sinais provenientes do local da lesão e de ameaças microbianas, desencadeando a libertação de uma ampla variedade de proteínas com atividade antibacteriana. Através de diferentes vias de sinalização, elas têm a capacidade de alterar o mecanismo de defesa da égua e desencadear o recrutamento de leucócitos, que auxiliam na identificação, sequestro e eliminação de microrganismos invasores (Magalhães *et al.*, 2024).

As plaquetas contêm moléculas bioativas com efeito microbicida, tal como a timosina- β 4 e a proteína microbicida plaquetária induzida pela trombina-1 (tPMP-1), que é uma proteína semelhante ao fator plaquetário 4. A tPMP-1 tem um efeito antibacteriano importante contra *Staphylococcus aureus* (Álvarez *et al.*, 2011).

A atividade antimicrobiana do PRP foi descrita contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*, que são agentes frequentemente associados à endometrite infecciosa em éguas (Segabinazzi e Canisso, 2021). Num estudo *in vitro*, o PRP demonstrou capacidade em inibir toda a atividade celular de *E. coli*. Os lipopolissacáridos presentes em certas estirpes desta bactéria parecem ser capazes de ativar as plaquetas e induzir a libertação de moléculas antimicrobianas (Mazzuchini *et al.*, 2024).

O PRP, como agente bacteriostático, tem um efeito inibitório máximo nas primeiras 2 horas, sugerindo que a sua utilização repetida pode melhorar os efeitos inibitórios desta terapia (Mazzuchini *et al.*, 2024).

Magalhães *et al.* (2024) sugere que as plaquetas geram espécies reativas de oxigénio, que podem ligar-se e internalizar microrganismos, participando nos mecanismos de citotoxicidade celular (Magalhães *et al.*, 2024).

5. USO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS PARA TRATAMENTO DE ENDOMETRITE PERSISTENTE PÓS-COBRIÇÃO/INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM ÉGUAS

5.1. ESTUDOS EXPERIMENTAIS SOBRE O PLASMA RICO EM PLAQUETAS NA REPRODUÇÃO EQUINA

Desde 2012, vários estudos, investigam como o PRP pode ser usado como opção terapêutica no tratamento de endometrites persistente através as suas capacidades anti-inflamatórias, regenerativas e antimicrobianas (Del Prete *et al.*, 2024).

5.1.1. Administração intrauterina do plasma rico em plaquetas em éguas

O lúmen uterino da égua é grande e, portanto, requer um volume grande de PRP em comparação com o utilizado em articulações, tendões e ligamentos. As éguas suscetíveis, que beneficiam mais da terapia com PRP, são geralmente mais velhas, multíparas e têm um útero grande e pendular. Considera-se então que a infusão intrauterina de PRP deve ter um volume mínimo de 10 a 60 ml para permitir que haja contacto com todo o lúmen uterino (Segabinazzi *et al.*, 2021b).

Atualmente, vários estudos sobre a administração intrauterina de PRP estão disponíveis, com protocolos de preparações e administrações diferentes (Tabela 2).

Tabela 2: Síntese de estudos sobre os métodos de preparação, características biológicas e protocolos de administração intrauterina de PRP em éguas reprodutoras

Estudo	Tipo de tratamento	Métodos de preparação	Concentração de plaquetas	Protocolo de administração
(Carluccio <i>et al.</i> , 2020)	PRP autólogo	Centrifugações duplas (1920 rpm durante 10 min a 22°C; 3960 rpm durante 6 min) de 450ml de sangue condicionado em bolsas de sangue	1-1,2 x 10 ⁶ plaquetas/μl	Infusão IU de 15ml, 24h depois a ovulação
(Colombo <i>et al.</i> , 2021)	Lisado plaquetário autólogo	Centrifugações duplas (535×g durante 20 min a 20°C; 2275×g durante 15 min a 20°C) de 100 ml de sangue condicionado em bolsa de sangue com ACD-A; ativação por congelação a -80°C	239000 (55000–576000) plaquetas/μL	Infusão IU de 10ml de PRP + PPP, 12h após a indução da ovulação e 24h antes IA
(Dawod <i>et al.</i> , 2021)	PRP autólogo	Centrifugações duplas (120×g durante 10 min; 240×g durante 10 min) de 100ml de sangue condicionado em tubos com citrato de sódio a 3,2%; ativação por solução de cloreto de cálcio (0,068 mEq/mL de PRP)	2 x 10 ⁶ plaquetas/μL	Infusão IU de 20mL, 2 dias após a fim do estro
	PRP liofilizado (L-G ^{equina})	Produto comercial (Cairo Medical Centre Blood Bank) reconstituído em 20ml de NaCl 0,9 %	Cada frasco contém PDGF equivalentes aos encontrados nas plaquetas de 20 ml de sangue total	Infusão IU de 20ml, 2 dias após a fim do estro
(Ghallab <i>et al.</i> , 2023)	PRP autólogo	Centrifugações duplas (120×g durante 10 min; 240×g durante 10 min) de 100ml de sangue condicionado em tubos com citrato de sódio a 3,2%; ativação por solução de cloreto de cálcio (0,068 mEq/mL de PRP)	2 x 10 ⁶ plaquetas/μL	Infusão IU de 20ml, 6h depois a cobrição natural
(Metcalf <i>et al.</i> , 2012; Metcalf, 2014)	PRP e PPP autólogo	Sistema especializado de centrifugação para separação de frações de sangue (Angel TM Cytomedix, Inc. Gaithersburg,	Não disponível	Infusão IU de 10ml (2-3 ml de PRP + 7-8 ml de PPP),

		MD) de 180ml de sangue condicionado em tubos com citrato de sódio		no momento da indução da ovulação
(Pasch <i>et al.</i> , 2021)	PRP e PPP autólogo	Dispositivo comercial de isolamento de plaquetas (Owl Manor), 60ml de sangue numa seringa com 55ml de sangue total e 5ml de ACD-A, colocados no dispositivo Restigen-L PRP e centrifugados a 3200 rpm durante 15min	9 vezes a concentração de plaquetas recuperadas num volume de 6ml	Infusão IU de 15ml (6ml de PRP + 9ml de PPP), 12-48h antes IA
(Reghini <i>et al.</i> , 2014; Reghini <i>et al.</i> , 2016)	PRP autólogo	Centrifugações duplas (120×g durante 10 min; 240×g durante 10 min) de 100ml de sangue condicionado em tubos com citrato de sódio a 3,2%; ativação por solução de cloreto de cálcio (0,068 mEq/mL de PRP)	>250.000 plaquetas/ μ L	Infusão IU de 20ml, 4h depois IA
(Segabinazzi <i>et al.</i> , 2017)	PRP autólogo	Centrifugação simples (120×g durante 10 min) de 45ml de sangue condicionado em tubos com citrato de sódio a 3,2%; sem ativação	354,236 $\pm$ 17,540 plaquetas/ μ L	Infusão IU de 20ml, 24h antes IA ou 20ml 4h depois IA
(Segabinazzi <i>et al.</i> , 2021a)	PRP ou PPP autólogo	Centrifugações duplas (400×g durante 15min; 1000×g durante 10 min) de 450ml de sangue condicionado em bolsa de sangue com 63ml de ACD-A; sem ativação	PRP: 622.9 $\pm$ 14 x10 ³ plaquetas/ μ L PPP: 36.0 $\pm$ 25 x10 ³ plaquetas/ μ L	Infusão IU de 40ml de PRP ou PPP antes (48 e 24h) e depois da IA (6 e 24h)

5.1.2. Efeitos observados: redução da inflamação, melhoria da saúde do endométrio e impacto na fertilidade

Todos os estudos reportaram um efeito positivo do PRP no endométrio, com melhoria do estado inflamatório, através a redução da concentração de PMNs, do edema e do fluido intrauterino independentemente da altura em que os tratamentos foram administrados. Permitindo assim de reduzir a duração e a intensidade da resposta inflamatória uterina e, na maioria dos casos, aumentar as taxas de conceção (Metcalf *et al.*, 2012; Metcalf, 2014; Reghini *et al.*, 2014; Reghini *et al.*, 2016; Segabinazzi *et al.*, 2017; Carluccio *et al.*, 2020; Colombo *et al.*, 2021; Dawod *et al.*, 2021; Pasch *et al.*, 2021; Segabinazzi *et al.*, 2021a; Ghallab *et al.*, 2023).

Embora vários estudos demonstrem através de biópsias uterinas, um número menor de PMNs no lúmen uterino 24 horas após a IA em éguas suscetíveis tratadas com PRP, os efeitos mais significativos na modulação da inflamação uterina foram observados quando o PRP foi administrado previamente à IA. Tais resultados devem-se ao facto de a resposta inflamatória ainda não ter sido iniciada (Segabinazzi *et al.*, 2017; Colombo *et al.*, 2021; Pasch *et al.*, 2021).

A melhoria da saúde uterina contribui para uma maior sobrevivência embrionária e apesar de algumas variações entre os diferentes estudos, o efeito anti-inflamatório do PRP permanece evidente (Pasch *et al.*, 2021).

5.2. UTILIZAÇÃO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS INTRAUTERINO COMO TERAPIA COMPLEMENTAR AOS TRATAMENTOS CONVENCIONAIS

No estudo de Kortam *et al.* (2022), a associação de PRP e amicacina (AB testado e sensível no antibiograma) revelou uma redução significativa de bactérias isoladas de *S. aureus*, bem como a eliminação total de infecções únicas provocadas por *E.coli*, *K.pneumoniae* e *S. zooepidemicus*. Observou-se também um resultado positivo em infecções mistas. Estes resultados devem-se, provavelmente, à ação combinada do AB, responsável pela redução e eliminação das bactérias uterinas, e à atividade bactericida do PRP contra *E. coli*, *K. pneumoniae* e *S. aureus* (Kortam *et al.*, 2022). Simultaneamente, o estudo evidenciou uma diminuição significativa na concentração de NO, lisozima e PMNs, comparativamente com os outros grupos. Tal efeito foi atribuído à ação anti-inflamatória do PRP, aliada à atividade antibacteriana do AB, contribuindo para a eliminação do agente infeccioso e para a melhoria do estado inflamatório do útero, bem como taxas de concepção mais elevadas (Kortam *et al.*, 2022). Este estudo corrobora as observações de Pascoe (1995), que refere a eficácia do plasma autólogo como agente antimicrobiano, com potencial para melhorar as taxas de concepção em éguas, quando comparado com a utilização isolada de antibiótico.

Os mecanismos propostos de acordo com Pascoe (1995) para justificar estes efeitos incluem: 1) o fornecimento, por parte do plasma, de um bolus de opsoninas frescas, que potencia a quimiotaxia e a fagocitose pelos PMNs; 2) a introdução de um volume adicional de fluido, que contribui para a diluição das secreções uterinas contendo subprodutos tóxicos; e 3) a adição de AB, que mata as bactérias remanescentes.

5.3. FATORES QUE INFLUENCIAM A EFICÁCIA DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS

5.3.1. Fatores relacionados com o protocolo usado: método de preparação, momento de administração, frequência

O PRP pode ser preparado por diferentes metodologias, incluindo diversos sistemas comerciais, bem como por centrifugação manual simples ou dupla, com ou sem ativação. Esta variabilidade nos

métodos de preparação conduz a inconsistências na concentração e no volume do PRP, assim como na libertação de FC durante as infusões intrauterinas (Pasch *et al.*, 2021).

Antes de iniciar a terapia intrauterina com PRP, o conteúdo uterino pode ser eliminado para potenciar a eficácia do tratamento, através de infusões de solução de LR associada a um agente ecbólico, como a ocitocina, durante o estro ou a partir de 4 a 8h após a IA, enquanto o cérvix ainda se encontra relaxado. Em diferentes estudos, a lavagem uterina é realizada em momentos distintos, podendo ser repetida ou não (Ghallab *et al.*, 2023). Por vezes, o conteúdo é apenas eliminado com a administração de um agente ecbólico, sem recurso a lavagens, o que pode influenciar a eficácia do PRP (Colombo *et al.*, 2021).

O PRP pode ser administrado como tratamento antes e/ou depois da cobrição/IA, revelando resultados benéficos na redução da inflamação uterina em ambas as possibilidades. No entanto, ainda não foi determinado se o tratamento de éguas com PRP antes e depois da cobrição/IA tem benefícios imunomoduladores adicionais relativamente ao tratamento de éguas apenas antes ou depois da cobrição/IA (Segabinazzi *et al.*, 2021a).

Os diferentes protocolos utilizam PRP ou PPP isoladamente ou combinados e embora ambos reduzam a resposta inflamatória endometrial pós-cobrição/IA em éguas, o número mínimo de plaquetas por infusão, assim como o número ideal de infusões, ainda não foi determinado. No entanto, é possível que, após infusões repetidas de PPP, o número acumulado de plaquetas tenha sido suficiente para proporcionar propriedades imunológicas equivalentes às do PRP, nos úteros de éguas suscetíveis (Segabinazzi *et al.*, 2021a).

5.3.2. Resposta das éguas de acordo com idade, histórico reprodutivo e gravidade da endometrite persistente pós-cobrição/inseminação artificial

A terapia por PRP autólogo é considerada eficaz, embora apresente limitações associadas a fatores intrínsecos e extrínsecos da dadora, que influenciam o produto final. O conteúdo celular e a libertação de FC pelo PRP podem variar consoante a raça e a idade da dadora (Magalhães *et al.*, 2024). Alguns estudos com PRP demonstram resultados inconsistentes, em que os marcadores inflamatórios foram modulados sem redução significativa do fluido IU possivelmente devido a falhas na contratilidade miometrial ou no relaxamento cervical devido à idade avançada de algumas éguas (Segabinazzi *et al.*, 2017). Além disso, o estado uterino, saudável ou com inflamação aguda ou crónica, pode influenciar de forma diferente a resposta ao mesmo tratamento (Del Prete *et al.*, 2024).

6. VANTAGENS, LIMITAÇÕES E PERSPETIVAS FUTURAS DO USO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS

6.1. VANTAGENS DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS COMO TRATAMENTO COMPLEMENTAR

O uso do PRP intrauterino apresenta várias vantagens, sendo um tratamento de elevada segurança, com efeito anti-inflamatório natural, sem necessidade de recorrer a anti-inflamatórios convencionais (Soares *et al.*, 2020). Possui também um efeito regenerativo que contribui para a melhoria da fertilidade e para a regeneração do endométrio. Além disso, o PRP intrauterino permite reduzir a utilização de antibióticos, podendo ser uma alternativa ou um complemento aos tratamentos convencionais, ajudando a minimizar o risco de resistências bacterianas (Álvarez *et al.*, 2011). A sua aplicação intrauterina é simples, semelhante aos procedimentos de rotina utilizados na reprodução equina, e pode ser realizada nas instalações habituais com recurso a um tronco de contenção (Magalhães *et al.*, 2024).

Além disso, os tratamentos convencionais da endometrite persistente pós-cobrição/IA, apresentam alguns riscos, como choque anafilático, edema local e disbiose da flora uterina ou intestinal, enquanto o tratamento com PRP é seguro e isento de efeitos secundários (Segabinazzi *et al.*, 2017; Ghallab *et al.*, 2023).

6.2. LIMITAÇÕES ATUAIS

O número de estudos clínicos sobre a administração de PRP no tratamento da endometrite pós cobrição/IA é limitado. A maioria dos dados publicados regista relatos de casos isolados, ou estudos de casos clínicos com um número baixo de éguas, ensaios clínicos não controlados com dados insuficientes relativamente à monitorização pós-tratamento, e frequentemente com critérios de precisão discutíveis segundo os autores durante a investigação clínica, resultando em elevado viés de resultados (Soares *et al.*, 2020).

6.2.1. Problemas de padronização na preparação e administração do plasma rico em plaquetas no útero de éguas

A falta de padronização dos protocolos de preparação do PRP é prejudicial, uma vez que a quantidade de sangue total recolhido é variável, tal como o anticoagulante escolhido e o recipiente de recolha, bem como o tempo e a velocidade de centrifugação (Brossi *et al.*, 2015). Existem vários protocolos, com diferentes momentos de administração, volumes de administração, tempo e frequência de administração, concentrações de plaquetas e leucócitos diferentes no PRP para o tratamento da

endometrite persistente pós cobertura/IA, reduzindo a repetibilidade e comprometendo a eficácia terapêutica (Del Prete *et al.*, 2024).

Os Médicos Veterinários que pretendem começar a utilizar o PRP ou que já o utilizam na sua prática reprodutiva, podem ficar confusos com as inúmeras opções disponíveis e podem não ser capazes de compreender todos os protocolos disponíveis de forma consistente (Segabinazzi *et al.*, 2021b).

6.2.2. Custos e acessibilidade

A preparação do PRP requer uma assepsia rigorosa durante todo o processo e as principais fontes de contaminações bacterianas durante o processo são: a pele do local da punção venosa, a flora das mãos do médico veterinário e as bactérias ambientais (Giraldo *et al.*, 2015). A manipulação do sangue num ambiente sem pó e com correntes de ar mínimas são práticas importantes para aumentar a segurança da aplicação do PRP (Garbin *et al.*, 2021).

O PRP é uma terapia alternativa que pode ser dispendiosa e requer a disponibilidade de equipamento (Garbin *et al.*, 2021). Muitos sistemas requerem centrifugas e kits especializados para preparar o PRP. Estas centrifugas podem ser incómodas e caras para os profissionais de campo (McCarrel, 2023).

6.3. PERSPETIVAS PARA PESQUISAS FUTURAS

Para otimizar os protocolos de uso de PRP no tratamento da endometrite, é essencial dispor de uma amostra representativa de éguas, que integre variáveis como idade, raça, grau de endometrite, conformação vulvar, presença de infeções uterinas e a utilização de avaliadores neutros (Del Prete *et al.*, 2024). Além disso, são necessários novos estudos que caracterizem as preparações de PRP, incluindo o perfil de plaquetas e leucócitos, métodos de ativação e volume final (De Oliveira *et al.*, 2023), bem como a concentração ideal de plaquetas para a sua aplicação intrauterina como modulador da inflamação (Pasch *et al.*, 2021).

Ainda há muito por saber sobre a ação antimicrobiana do PRP, é preciso entender como funciona, que moléculas estão envolvidas e qual a dose mínima necessária para atuar contra cada microrganismo (Álvarez *et al.*, 2011). Estudos *in vitro* são importantes para avaliar se concentrações elevadas de PRP têm efeito antimicrobiano sobre os agentes mais comuns da endometrite. Adicionalmente, estudos *in vivo* são essenciais para confirmar a segurança da aplicação intrauterina e verificar se os efeitos observados *in vitro* se traduzem em eficácia clínica (Mazzuchini *et al.*, 2024).

Acompanhamentos a longo prazo são igualmente relevantes para avaliar a durabilidade do efeito terapêutico e aprofundar o conhecimento sobre os benefícios dos derivados plaquetários (Carmona *et al.*, 2024).

Num estudo recente, Novello *et al.* (2024) observaram que o PRP de éguas resistentes e suscetíveis tinha proteínas semelhantes, mas quatro proteínas ligadas à imunidade estavam em maior quantidade nas éguas resistentes. Isto sugere que o PRP destas éguas pode ajudar a tratar as mais sensíveis, e levanta a hipótese de que o PRP homólogo pode ser mais eficaz do que o autólogo. Contudo, esta hipótese ainda precisa de ser confirmada (Novello *et al.*, 2024).

7. CONCLUSÃO

Em conclusão, a persistência da resposta inflamatória uterina para além das 48 horas deve-se a fatores multifatoriais, isolados ou combinados. Assim, a abordagem clínica do tratamento da endometrite persistente pós-cobrição ou inseminação artificial deve basear-se nas características reprodutivas de cada égua e ser adaptada de forma a contornar ou corrigir essas falhas, com o objetivo de maximizar as taxas de prenhez.

O PRP, pelas suas propriedades multifuncionais, apresenta-se como uma opção terapêutica alternativa promissora, com resultados significativos em termos de eficácia e segurança no contexto da endometrite, graças às suas ações anti-inflamatórias, regenerativas e antimicrobianas, contribuindo para combater a crescente infertilidade e resistência das éguas reprodutoras às terapias convencionais. No entanto, devido ao número limitado de ensaios clínicos aleatórios e à elevada variabilidade dos protocolos, são necessários mais estudos *in vitro* e *in vivo* para padronizar e otimizar o produto, o método de preparação e para obter a dosagem adequada para aplicação intrauterina.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Álvarez, M., López, C., Giraldo, C., Samudio, I. and Carmona, J. (2011) "In vitro bactericidal activity of equine platelet concentrates, platelet poor plasma, and plasma against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*," *Archivos de Medicina Veterinaria*, 43(2), pp. 155–161. Available at: <https://doi.org/10.4067/S0301-732X2011000200008>.

Barone (1990) "Anatomie comparée des mammifères domestiques : appareil uro-génital, fœtus et ses annexes, péritoine et topographie abdominale."

Boswell, S.G., Cole, B.J., Sundman, E.A., Karas, V. and Fortier, L.A. (2012) "Platelet-rich plasma: A milieu of bioactive factors," *Arthroscopy - Journal of Arthroscopic and Related Surgery*, 28(3), pp. 429–439. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.ARTHRO.2011.10.018>.

Brossi, P.M., Moreira, J.J., Machado, T.S. and Baccarin, R.Y. (2015) "Platelet-rich plasma in orthopedic therapy: A comparative systematic review of clinical and experimental data in equine and human musculoskeletal lesions," *BMC Veterinary Research*, 11(1), pp. 1–17. Available at: <https://doi.org/10.1186/S12917-015-0403-Z/FIGURES/2>.

Budras, K.-D., Sack, W.O. and Röck, S. (1994) "Anatomy of the Horse."

Camargo Garbin, L., Lopez, C. and Carmona, J.U. (2021) "A Critical Overview of the Use of Platelet-Rich Plasma in Equine Medicine Over the Last Decade," *Frontiers in Veterinary Science*, 8, p. 641818. Available at: <https://doi.org/10.3389/FVETS.2021.641818>.

Canisso, I.F., Segabinazzi, L.G.T.M. and Fedorka, C.E. (2020) "Persistent breeding-induced endometritis in mares - a multifaceted challenge: From clinical aspects to immunopathogenesis and pathobiology," *International Journal of Molecular Sciences*, 21(4). Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms21041432>.

Canisso, I.F., Stewart, J. and Coutinho da Silva, M.A. (2016) "Endometritis: Managing Persistent Post-Breeding Endometritis," *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 32(3), pp. 465–480. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.CVEQ.2016.08.004>.

Carluccio, A., Veronesi, M.C., Plenteda, D. and Mazzatenta, A. (2020) "Platelet-rich plasma uterine infusion and pregnancy rate in barren mares with chronic degenerative endometritis," *Polish*

Journal of Veterinary Sciences, 23(3), pp. 431–438. Available at: <https://doi.org/10.24425/PJVS.2020.134688>.

Carmona, J.U., Carmona-Ramírez, L.H. and López, C. (2024) “Platelet-Rich Plasma and Related Orthobiologics for the Treatment of Equine Musculoskeletal Disorders—A Bibliometric Analysis from 2000 to 2024,” *Veterinary Sciences* 2024, Vol. 11, Page 385, 11(8), p. 385. Available at: <https://doi.org/10.3390/VETSCI11080385>.

Causey, R.C. (2007) “Mucus and the mare: how little we know,” *Theriogenology*, 68(3), pp. 386–394. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2007.04.011>.

Cazales, N., Fiala-Rechsteiner, S.M., Cavestany, D. and Mattos, R.C. (2018) “Insemination Dose and Site With Frozen Semen Affects the Sperm Transport and Inflammatory Response in Mares?,” *Journal of Equine Veterinary Science*, 66, pp. 109–110. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.JEVS.2018.05.155>.

Christoffersen, M., Woodward, E., Bojesen, A.M., Jacobsen, S., Petersen, M.R., Troedsson, M.H. and Lehn-Jensen, H. (2012) “Inflammatory responses to induced infectious endometritis in mares resistant or susceptible to persistent endometritis,” *BMC Veterinary Research*, 8. Available at: <https://doi.org/10.1186/1746-6148-8-41>.

Christoffersen, M. and Troedsson, M.H.T. (2017) “Inflammation and fertility in the mare,” *Reproduction in Domestic Animals*, 52, pp. 14–20. Available at: <https://doi.org/10.1111/RDA.13013>.

Colombo, I., Mislei, B., Mari, G., Iacono, E. and Merlo, B. (2021) “Effect of platelet lysate on uterine response of mares susceptible to persistent mating-induced endometritis,” *Theriogenology*, 179, pp. 204–210. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2021.12.001>.

Dawod, A., Miro, J., Elbaz, H.T., Fahmy, H. and Abdoon, A.S. (2021) “Effect of Intrauterine Infusion of Equine Fresh Platelets-Rich Plasma (PRP) or Lyophilized PRP (L-GFequina) on Ovarian Activity and Pregnancy Rate in Repeat Breeder Purebred Arabian Mares,” *Animals : an Open Access Journal from MDPI*, 11(4), p. 1123. Available at: <https://doi.org/10.3390/ANI11041123>.

Ferris, R.A., McCue, P.M., Borlee, G.I., Loncar, K.D., Hennes, M.L. and Borlee, B.R. (2016) “In Vitro Efficacy of Nonantibiotic Treatments on Biofilm Disruption of Gram-Negative Pathogens and an In Vivo Model of Infectious Endometritis Utilizing Isolates from the Equine Uterus,” *Journal of Clinical*

Microbiology, 54(3), pp. 631–639. Available at: <https://doi.org/10.1128/JCM.02861-15/ASSET/29420CE2-7085-441E-B49C-9FB5C491DEA8/ASSETS/GRAPHIC/ZJM9990948180002.JPEG>.

Ferris, R.A., Frisbie, D.D. and McCue, P.M. (2014) “Use of mesenchymal stem cells or autologous conditioned serum to modulate the inflammatory response to spermatozoa in mares,” *Theriogenology*, 82(1), pp. 36–42. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2014.02.015>.

Fiala, S.M., Pimentel, C.A., Mattos, A.L.G., Gregory, R.M. and Mattos, R.C. (2007) “Effect of sperm numbers and concentration on sperm transport and uterine inflammatory response in the mare,” *Theriogenology*, 67(3), pp. 556–562. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2006.09.005>.

Fumuso, E., Giguère, S., Wade, J., Rogan, D., Videla-Dorna, I. and Bowden, R.A. (2003) “Endometrial IL-1 β , IL-6 and TNF- α , mRNA expression in mares resistant or susceptible to post-breeding endometritis,” *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 96(1–2), pp. 31–41. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0165-2427\(03\)00137-5](https://doi.org/10.1016/S0165-2427(03)00137-5).

Fumuso, E.A., Aguilar, J., Giguère, S., Rivulgo, M., Wade, J. and Rogan, D. (2007) “Immune parameters in mares resistant and susceptible to persistent post-breeding endometritis: effects of immunomodulation,” *Veterinary immunology and immunopathology*, 118(1–2), pp. 30–39. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.VETIMM.2007.04.009>.

Georg, R., Maria, C., Gisela, A. and Bianca, C. (2010) “Autologous conditioned plasma as therapy of tendon and ligament lesions in seven horses,” *Journal of Veterinary Science*, 11(1), pp. 173–175. Available at: <https://doi.org/10.4142/JVS.2010.11.2.173>.

Ghallab, R.S., El-besrawy, M., El-Shereif, A.A., Rashad and Elbehiry, M.A. (2023) “Impact of intrauterine infusion of Platelets-Rich plasma on endometritis and reproductive performance of Arabian mare,” *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene*, 58(5), pp. 622–629. Available at: <https://doi.org/10.1111/RDA.14329>.

Gil-Miranda, A., Macnicol, J., Orellana-Guerrero, D., Samper, J.C. and Gomez, D.E. (2024) “Reproductive Tract Microbiota of Mares,” *Veterinary sciences*, 11(7). Available at: <https://doi.org/10.3390/VETSCI11070324>.

Giraldo, C.E., Álvarez, M.E. and Carmona, J.U. (2015) "Effects of sodium citrate and acid citrate dextrose solutions on cell counts and growth factor release from equine pure-platelet rich plasma and pure-platelet rich gel," *BMC Veterinary Research*, 11(1), pp. 1–7. Available at: <https://doi.org/10.1186/S12917-015-0370-4/FIGURES/3>.

Hartwig, J. and Italiano, J. (2003) "The birth of the platelet," *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 1(7), pp. 1580–1586. Available at: <https://doi.org/10.1046/J.1538-7836.2003.00331.X>.

Katila, T. (1995) "Onset and Duration of Uterine Inflammatory Response of Mares after Insemination with Fresh Semen," *Biology of Reproduction*, 52(monograph_series1), pp. 515–517. Available at: https://doi.org/10.1093/BIOLREPROD/52.MONOGRAPH_SERIES1.515.

Katila, T. (2016) "Evaluation of diagnostic methods in equine endometritis," *Reproductive biology*, 16(3), pp. 189–196. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.REPBIO.2016.06.002>.

Katila, T. and Ferreira-Dias, G. (2022) "Evolution of the Concepts of Endometrosis, Post Breeding Endometritis, and Susceptibility of Mares," *Animals* 2022, Vol. 12, Page 779, 12(6), p. 779. Available at: <https://doi.org/10.3390/ANI12060779>.

Khalil, F.S., Kortam, L.E. and Aref, N.E. (2022) "SOME BACTERIOLOGICAL AND IMMUNOLOGICAL STUDIES OF ENDOMETRITIS IN MARES BEFORE AND AFTER ALTERNATIVE TREATMENTS USING PLATELETS RICH PLASMA (AND/OR) ANTIBIOTICS," *Assiut Veterinary Medical Journal*, 68(173), pp. 16–30. Available at: <https://doi.org/10.21608/AVMJ.2022.109684.1045>.

Khan, F.A., Chenier, T.S., Murrant, C.L., Foster, R.A., Hewson, J. and Scholtz, E.L. (2017) "Dose-dependent inhibition of uterine contractility by nitric oxide: A potential mechanism underlying persistent breeding-induced endometritis in the mare," *Theriogenology*, 90, pp. 59–64. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2016.11.026>.

Kunz, J.R., Dzyekanski, B., Carlos, D., Carolina, A. and Vicente, P. (2012) "Intrabronchial Instillation Of Platelet-Rich Plasma In Equines With Inflammatory Airway Disease-Preliminary Report," *Estud. Biol., Ambiente Divers* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.2484.0162>.

Leblanc, M. and Causey, R. (2009) "Clinical and subclinical endometritis in the mare: Both threats to fertility," *Reproduction in Domestic Animals*, 44(SUPPL. 3), pp. 10–22. Available at: <https://doi.org/10.1111/J.1439-0531.2009.01485.X>.

LeBlanc, M.M. (2010) "Advances in the Diagnosis and Treatment of Chronic Infectious and Post-Mating-Induced Endometritis in the Mare," *Reproduction in Domestic Animals*, 45(SUPPL. 2), pp. 21–27. Available at: <https://doi.org/10.1111/J.1439-0531.2010.01634.X>.

Lee, E.B., Kim, J.W. and Seo, J.P. (2018) "Comparison of the methods for platelet rich plasma preparation in horses," *Journal of Animal Science and Technology*, 60(1), pp. 1–4. Available at: <https://doi.org/10.1186/S40781-018-0178-4/TABLES/1>.

Maischberger, E., Irwin, J.A., Carrington, S.D. and Duggan, V.E. (2008) "Equine post-breeding endometritis: A review," *Irish Veterinary Journal*, 61(3), p. 163. Available at: <https://doi.org/10.1186/2046-0481-61-3-163>.

Mazzuchini, M.P., Lisboa, F.P., de Castro, J.I., Alvarenga, M.A., Segabinazzi, L.G.T.M. and Canisso, I.F. (2024) "In vitro antimicrobial activity of non-traditional therapies for infectious endometritis in mares," *Equine Veterinary Journal* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1111/EVJ.14423>.

McCarrel, T.M. (2023) "Equine Platelet-Rich Plasma," *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*. W.B. Saunders, pp. 429–442. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2023.06.007>.

Metcalf, E.S. (2014) "The effect of Platelet-Rich Plasma (PRP) on intraluminal fluid and pregnancy rates in mares susceptible to Persistent Mating-Induced Endometritis (PMIE)," *Journal of Equine Veterinary Science*, 34(1), p. 128. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.JEVS.2013.10.087>.

Metcalf, E.S., Scoggin, K. and Troedsson, M.H.T. (2012) "The effect of platelet-rich plasma on endometrial pro-inflammatory cytokines in susceptible mares following semen deposition," *Journal of Equine Veterinary Science*, 32(8), p. 498. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.JEVS.2012.06.065>.

Morrell, J.M. and Rocha, A. (2022) "A Novel Approach to Minimising Acute Equine Endometritis That May Help to Prevent the Development of the Chronic State," *Frontiers in Veterinary Science*, 8. Available at: <https://doi.org/10.3389/FVETS.2021.799619/FULL>.

Morris, L.H.A., McCue, P.M. and Aurich, C. (2020) "Equine endometritis: a review of challenges and new approaches," *Reproduction*, 160(5), pp. R95–R110. Available at: <https://doi.org/10.1530/REP-19-0478>.

Novello, G., Souza, F.F. and Canisso, I.F. (2024) "Platelet-Rich Plasma Proteome of Mares Susceptible to Persistent-Breeding-Induced Endometritis Differs from Resistant Mares," *Animals*, 14(14), p. 2100. Available at: <https://doi.org/10.3390/ANI14142100/S1>.

de Oliveira, J.N., Bastos, H.B., Bueno, V.L., Larentis, G.R., Mattos, R.C. and Neves, A.P. (2023) "Evaluation of different platelet-rich plasma protocols for use in the equine reproductive clinic," *Journal of Equine Veterinary Science*, 125, p. 104707. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.JEVS.2023.104707>.

O'Shea, C.M., Werre, S.R. and Dahlgren, L.A. (2015) "Comparison of Platelet Counting Technologies in Equine Platelet Concentrates," *Veterinary Surgery*, 44(3), pp. 304–313. Available at: <https://doi.org/10.1111/J.1532-950X.2014.12290.X>.

Pasch, L., Schmidt, A. and King, W. (2021) "Clinical Observations After Prebreeding Intrauterine Plasma Infusion in 18 Mares Inseminated With Thawed Frozen Semen," *Journal of Equine Veterinary Science*, 99. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.JEVS.2021.103389>.

Pascoe, D.R. (1995) "Effect of Adding Autologous Plasma to an Intrauterine Antibiotic Therapy after Breeding on Pregnancy Rates in Mares1," *Biology of Reproduction*, 52(monograph_series1), pp. 539–543. Available at: https://doi.org/10.1093/BIOLREPROD/52.MONOGRAPH_SERIES1.539.

Pascottini, O.B., Aurich, C., England, W. and Grahofer, A. (2023) "General and comparative aspects of endometritis in domestic species: A review," *Reproduction in Domestic Animals*, 58(S2), pp. 49–71. Available at: <https://doi.org/10.1111/RDA.14390>.

Pavlovic, V., Ciric, M., Jovanovic, V. and Stojanovic, P. (2016) "Platelet Rich Plasma: A short overview of certain bioactive components," *Open Medicine (Poland)*, 11(1), pp. 242–247. Available at: <https://doi.org/10.1515/MED-2016-0048>.

Pérez Fraile, A., González-Cubero, E., Martínez-Flórez, S., Olivera, E.R. and Villar-Suárez, V. (2023) "Regenerative Medicine Applied to Musculoskeletal Diseases in Equines: A Systematic Review," *Veterinary Sciences*, 10(12). Available at: <https://doi.org/10.3390/VETSCI10120666>.

Petersen, M.R., Skive, B., Christoffersen, M., Lu, K., Nielsen, J.M., Troedsson, M.H.T. and Bojesen, A.M. (2015) "Activation of persistent *Streptococcus equi* subspecies *zooepidemicus* in mares with

subclinical endometritis,” *Veterinary microbiology*, 179(1–2), pp. 119–125. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2015.06.006>.

del Prete, C., Montano, C., Cocchia, N., de Chiara, M., Gasparini, B. and Pasolini, M.P. (2024) “Use of regenerative medicine in the treatment of endometritis in mares: A systematic review and meta-analysis,” *Theriogenology*, 227, pp. 9–20. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2024.07.006>.

Pyörälä, S., Taponen, J. and Katila, T. (2014) “Use of Antimicrobials in the Treatment of Reproductive Diseases in Cattle and Horses,” *Reproduction in Domestic Animals*, 49, pp. 16–26. Available at: <https://doi.org/10.1111/RDA.12324>.

Reghini, M.F.S., Bussiere, M.C.C., Neto, C.R., Castro-Chaves, M.M.B., Resende, H.L., Fioratti, E., Farras, M.C. and Alvarenga, M.A. (2014) “Effect of use of platelet rich plasma on post-breeding uterine inflammatory response of mares,” *Journal of Equine Veterinary Science*, 34(1), p. 127. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.JEVS.2013.10.086>.

Reghini, M.F.S., Ramires Neto, C., Segabinazzi, L.G., Castro Chaves, M.M.B., Dell’Aqua, C. de P.F., Bussiere, M.C.C., Dell’Aqua, J.A., Papa, F.O. and Alvarenga, M.A. (2016) “Inflammatory response in chronic degenerative endometritis mares treated with platelet-rich plasma,” *Theriogenology*, 86(2), pp. 516–522. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2016.01.029>.

Scoggin, C.F. (2016) “Endometritis: Nontraditional Therapies,” *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*, 32(3), pp. 499–511. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.CVEQ.2016.08.002>.

Segabinazzi, L.G., Friso, A.M., Correal, S.B., Crespilho, A.M., Dell’Aqua, J.A., Miró, J., Papa, F.O. and Alvarenga, M.A. (2017) “Uterine clinical findings, fertility rate, leucocyte migration, and COX-2 protein levels in the endometrial tissue of susceptible mares treated with platelet-rich plasma before and after AI,” *Theriogenology*, 104, pp. 120–126. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2017.08.007>.

a) Segabinazzi, L.G.T.M., Canisso, I.F., Podico, G., Cunha, L.L., Novello, G., Rosser, M.F., Loux, S.C., Lima, F.S. and Alvarenga, M.A. (2021) “Intrauterine blood plasma platelet-therapy mitigates persistent breeding-induced endometritis, reduces uterine infections, and improves embryo recovery in Mares,” *Antibiotics*, 10(5), p. 490. Available at: <https://doi.org/10.3390/ANTIBIOTICS10050490/S1>.

b) Segabinazzi, L.G.T.M., Podico, G., Rosser, M.F., Nanjappa, S.G., Alvarenga, M.A. and Canisso, I.F. (2021) "Three Manual Noncommercial Methods to Prepare Equine Platelet-Rich Plasma," *Animals: an open access journal from MDPI*, 11(6). Available at: <https://doi.org/10.3390/ANI11061478>.

Segabinazzi, L.G.T.M., Canisso, I.F. and Reproduction, E. (2021) *How to Prepare Platelet-Rich Plasma for Use in Reproductive Practices with Mares*. Available at: <https://cabidigitallibrary.org>.

Soares, C.S., Babo, P.S., Reis, R.L., Carvalho, P.P. and Gomes, M.E. (2021) "Platelet-Derived Products in Veterinary Medicine: A New Trend or an Effective Therapy?," *Trends in Biotechnology*, 39(3), pp. 225–243. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.TIBTECH.2020.07.011>.

Magalhães, R., Albuquerque, R., Ana, M., Segabinazzi Lorenzo GTM and Fantini, P. (2024) "Intrauterine Therapy with Platelet-Rich Plasma for Persistent Breeding-Induced Endometritis in Mares: A Review," *Insights in Veterinary Science*, 8(1), pp. 039–047. Available at: <https://doi.org/10.29328/JOURNAL.IVS.1001045>.

Troedsson, M.H.T. (1999) "Uterine clearance and resistance to persistent endometritis in the mare," *Theriogenology*, 52(3), pp. 461–471. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(99\)00143-0](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(99)00143-0).

Troedsson, M.H.T. and Woodward, E.M. (2016) "Our current understanding of the pathophysiology of equine endometritis with an emphasis on breeding-induced endometritis," *Reproductive Biology*, 16(1), pp. 8–12. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.REPBIO.2016.01.003>.

Tyrnenopoulou, P. and Fthenakis, G.C. (2023) "Clinical Aspects of Bacterial Distribution and Antibiotic Resistance in the Reproductive System of Equids," *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 12(4). Available at: <https://doi.org/10.3390/ANTIBIOTICS12040664>.

Woodward, E.M., Christoffersen, M., Campos, J., Betancourt, A., Horohov, D., Scoggin, K.E., Squires, E.L. and Troedsson, M.H.T. (2013) "Endometrial inflammatory markers of the early immune response in mares susceptible or resistant to persistent breeding-induced endometritis," *Reproduction*, 145(3), pp. 289–296. Available at: <https://doi.org/10.1530/REP-12-0452>.

Woodward, E.M. and Troedsson, M.H.T. (2015) "Inflammatory mechanisms of endometritis," *Equine Veterinary Journal*, 47(4), pp. 384–389. Available at: <https://doi.org/10.1111/EVJ.12403>.

ANEXO - A patogénese da endometrite equina (adaptado de Morris et al., 2020)

