

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**  
**FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**  
**CAMPUS DE ARAÇATUBA**

**QUANTIFICAÇÃO DE DÍMERO-D EM ÉGUAS**  
**SUSCEPTÍVEIS E RESISTENTES À ENDOMETRITE**

**Heitor Vinícius Mendonça**

Médico Veterinário

ARAÇATUBA – SP

2016

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**  
**FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**  
**CAMPUS DE ARAÇATUBA**

**QUANTIFICAÇÃO DE DÍMERO-D EM ÉGUAS**  
**SUSCEPTÍVEIS E RESISTENTES À ENDOMETRITE**

**Heitor Vinícius Mendonça**

**Orientadora: Prof. Adjunto Juliana R. Peiró**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária - UNESP, Câmpus de Araçatuba, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal (Fisiopatologia Médica e Cirúrgica).

ARAÇATUBA – SP

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca da FMVA / UNESP

Mendonça, Heitor Vinícius

M539q      Quantificação de Dímero-D em éguas susceptíveis e  
resistentes à endometrite / Heitor Vinícius Mendonça. --

Araçatuba, 2016.

XX f. : il. + 1 CD-ROM

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista,  
Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba.

Orientadora: Profa. Juliana Regina Peiró

1. Cavalos. 2. Inflamação. 3. Endometrite. 4. Útero. 5. Soro.

I. Título.

CDD 636.1330898



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araçatuba

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

TÍTULO: Quantificação de dímero-D em éguas susceptíveis e resistentes à endometrite

---

---

**AUTOR: HEITOR VINÍCIUS MENDONÇA**  
**ORIENTADORA: JULIANA REGINA PEIRÓ**

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em CIÊNCIA ANIMAL,  
área: Fisiopatologia Médica e Cirúrgica, pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. JULIANA REGINA PEIRÓ  
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba -  
UNESP

Dra. LINA MARIA WEHRLE GOMIDE  
Doutora em Medicina Veterinária pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal - UNESP

Prof. Dr. ALEXANDRE SECORUN BORGES  
Departamento de Clínica Veterinária / Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu - UNESP

Araçatuba, 26 de janeiro de 2016.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araçatuba

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

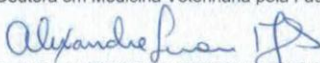
TÍTULO: Quantificação de dímero-D em éguas susceptíveis e resistentes à endometrite

AUTOR: HEITOR VINÍCIUS MENDONÇA  
ORIENTADORA: JULIANA REGINA PEIRÓ

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em CIÊNCIA ANIMAL, área: Fisiopatologia Médica e Cirúrgica, pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. JULIANA REGINA PEIRÓ  
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba - UNESP

Dra. LINA MARIA WEHRLE GOMIDE  
Doutora em Medicina Veterinária pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal - UNESP

  
Prof. Dr. ALEXANDRE SECORUN BORGES  
Departamento de Clínica Veterinária / Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu - UNESP

Araçatuba, 26 de janeiro de 2016.

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**HEITOR VINÍCIUS MENDONÇA** – Nascido em Campinas – SP no dia 06 de março de 1987. Graduado em Medicina Veterinária (2011) pela Faculdade de Jaguariúna. Atua na área de Clínica e Reprodução Equina na empresa Central Araçá Reprodução Animal desde 2011, Araçatuba, São Paulo. Aluno do Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal – UNESP – Faculdade de Medicina Veterinária, Campus de Araçatuba, São Paulo desde agosto de 2013.

“Ando devagar porque já tive pressa  
e levo esse sorriso porque já chorei demais.  
Hoje me sinto mais forte, mais feliz, quem sabe?  
Só levo a certeza de que muito pouco eu sei, nada sei.”  
*(Renato Teixeira e Almir Sater)*

## DEDICATÓRIA

*“A minha namorada Patrícia Tivelli (que eu amo tanto) pela paciência, carinho,  
amizade e companheirismo”*



## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus por guiar meus caminhos.

Agradeço ao amor da minha vida Patrícia Tivelli por estar sempre ao meu lado.

Agradeço a minha mãe Lúcia e minha avó Maria de Lourdes pela educação, ensinamentos, carinho e ajuda dados durante todos esses anos da minha vida.

Agradeço ao meu pai Sebastião Marcos Mendonça (*in memoriam*), por todo amor, amizade, carinho, alegria e principalmente os ensinamentos, a sensibilidade e intuição em trabalhar com os cavalos.

Agradeço ao meu irmão Victor Hugo, meus tios Luiz e Eliza, primos Giovanni e Leonardo, que me apoiaram ao longo desses anos, me dando todo o apoio necessário para que eu cumprisse mais esta etapa de minha vida.

Agradeço ao amigo Eduardo Hara pela amizade, paciência, ensinamentos, conselhos e por acreditar no meu potencial em um período muito difícil da minha vida.

Agradeço a toda equipe Central Araçá Reprodução Animal (Eduardo, Victor Hugo, Luiz Fernando, Rafael, Betinho, Marcelo, estagiários e funcionários antigos) pela paciência, compreensão, companheirismo, ajuda e apoio ao longo desses anos.

Agradeço aos meus filhos de pelos e orelhas grandes Sheldon, Thor, Shiva, Chester, Diamante, Aliança, Garota, Imperador e Juleska pela paciência, carinho, amizade e companheirismo que tiveram comigo durante esse período de trabalho.

Agradeço à Professora Adjunto Juliana R. Peiró por todo ensinamento que me passou, pelas oportunidades, pela dedicação, paciência, apoio e confiança em mim depositada.

Agradeço a Priscila Dalmagro e Leonardo Bentin por todo auxílio técnico prestado no transcorrer do projeto.

Agradeço a todos os meus amigos, em especial ao João Pedro e a Gabriela, pela ajuda em todos os momentos do experimento, apoio incondicional e pela amizade nesta jornada.

Agradeço à Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Faculdade de Medicina Veterinária, Campus de Araçatuba pela estrutura física concedida, assim como o apoio da Coordenação do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal e da Seção de Pós-graduação pela solicitude.

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
I. RESUMO .....	ix
I. SUMMARY .....	xi
1. INTRODUÇÃO.....	12
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	14
2.1 Endometrite .....	14
2.2 Dímero-D .....	17
3. MATERIAL E MÉTODO .....	22
3.1 Animais.....	22
3.2 Amostras .....	23
3.2.1 Soro.....	23
3.2.2 Líquido uterino.....	23
3.3 Concentrações de dímero-D.....	24
3.4 Análise Estatística .....	24
4. RESULTADO E DISCUSSÃO.....	25
5. CONCLUSÃO .....	31
REFERÊNCIAS .....	32

## QUANTIFICAÇÃO DE DÍMERO-D EM ÉGUAS SUSCEPTÍVEIS E RESISTENTES À ENDOMETRITE

**RESUMO** - A endometrite é uma das principais causas de redução da fertilidade em éguas. Desta forma, o diagnóstico de subfertilidade em éguas torna-se importante na tentativa de prevenir ou minimizar perdas econômicas. A quantificação de dímero-D tem sido avaliada em animais com diferentes enfermidades. Os objetivos do presente estudo foram determinar se as concentrações de dímero-D no soro e líquido uterino sofrem alteração em éguas susceptíveis à endometrite em relação a éguas resistentes antes e após lavagens uterinas seriadas e antibioticoterapia, determinar em qual compartimento o aumento do dímero-D refletiria melhor e mais rapidamente as alterações inflamatórias em éguas susceptíveis à endometrite em relação a éguas resistentes antes e após lavagens uterinas seriadas e antibioticoterapia, estabelecer valores de referência para as concentrações de dímero-D no soro e no líquido uterino de éguas resistentes e daquelas susceptíveis à endometrite e verificar se o dímero-D pode ser utilizado como um biomarcador para éguas susceptíveis à endometrite. A quantificação de dímero-D foi obtida de amostras de soro e líquido uterino de doze éguas da raça Quarto de Milha, divididas em dois grupos: éguas resistentes (grupo controle) e susceptíveis à endometrite (grupo experimental). Os resultados do presente estudo mostraram que não houve diferença entre as concentrações de dímero-D séricas ou do líquido uterino nos animais do grupo controle e experimental. Portanto, o dímero-D não pode ser utilizado como biomarcador para se identificar éguas susceptíveis à endometrite.

**Palavras-chave:** cavalos, inflamação, endometrite, soro, utero.

## **QUANTIFICATION OF D-DIMER IN MARES SUSCEPTIBLE OR RESISTANT TO ENDOMETRITIS**

**SUMMARY** - Endometritis is one of the main causes of fertility reduction in breeding mares. Therefore, the diagnosis of subfertility in mares becomes important in attempting to prevent or minimize economic losses. Quantification of D-dimer in animals with a variety of diseases has been published. The goals of this study were to determine whether D-dimer concentrations in serum and uterine fluid suffer changes in mares susceptible or resistant to endometritis before and after serial uterine washes in association with antibiotic therapy, to determine in which compartment increased D-dimer concentrations would reflect better and faster the inflammatory changes in mares susceptible to endometritis in comparison to resistant mares before and after serial uterine washes and antibiotic therapy, to establish reference values for concentrations of D-dimer in serum and uterine fluid of resistant mares and those susceptible to endometritis, and to verify whether D-dimer can be used as a biomarker in mares susceptible to endometritis. D-dimer was quantified in serum or uterine fluid of twelve Quarter Horses mares, divided into two groups: mares resistant to (control group) or susceptible to endometritis (experimental group). The results of this study showed no difference between serum or uterine fluid concentrations of serum D-dimer between groups. We concluded that D-dimer cannot be used as a biomarker to identify mares susceptible to endometritis.

**Keywords:** horses, inflammation, endometritis, serum, uterus.

## 1. INTRODUÇÃO

Um dos aspectos mais importantes para que se mantenha a gestação é a existência de um útero sem alterações anatômicas e histológicas e particularmente um endométrio sadio (KENNEY, 1978).

Após a cobertura ou inseminação em éguas resistentes à endometrite acontece uma resposta neutrofilica transitória que, normalmente, se resolve dentro de 48 horas. Entretanto, em éguas susceptíveis, se desenvolve uma endometrite persistente, a qual resulta em um acúmulo de líquido inflamatório dentro do útero, que reduz sua fertilidade causando sérias perdas econômicas (FUMUSO et al., 2003, 2007). A subfertilidade na égua constitui um dos maiores problemas na criação industrial equina, causando grande perda econômica por impossibilitar a produção de um potro por ano (CONCHA-BERMEJILLO; KENNEDY, 1982).

A endometrite é uma das principais causas de redução da fertilidade em éguas reprodutoras e pode interferir diretamente com a sobrevivência de um embrião, ou causar luteólise prematura e perda embrionária devido a concentrações aumentadas de prostaglandina (PGF<sub>2</sub>α). Atualmente acredita-se que uma falha mecânica do sistema de defesa uterino seja a principal contribuinte para o desenvolvimento da endometrite persistente (TROEDSSON, 2008). Desta forma, o diagnóstico de subfertilidade em éguas reprodutoras torna-se de extrema importância na tentativa de prevenir ou minimizar perdas econômicas (MOREIRA et al., 2007).

O endotélio desempenha um papel central em todas as principais vias envolvidas na patogênese da perturbação hemostática durante a inflamação grave. As células endoteliais parecem estar diretamente envolvidas na iniciação e regulação na formação da trombina e a inibição da remoção de fibrina. As citocinas pró-inflamatórias são cruciais para mediar estes efeitos sobre as células endoteliais, as quais elas mesmas podem também expressar citocinas, amplificando assim a resposta de coagulação. A interação entre a

inflamação e coagulação envolve significativo “cross-talk” entre os sistemas (LEVI et al., 2003).

Mecanismos inflamatórios mudam o equilíbrio hemostático para favorecer a ativação da coagulação e, em extremos, também a coagulação intravascular disseminada ou trombose. Sabe-se que a coagulação pode resultar não somente na trombose, como também na promoção da inflamação e crescimento celular. A trombina pode, assim, promover a coagulação, a anticoagulação, a proliferação celular ou inflamação, e facilitar a propagação da resposta de coagulação e prejudicar a fibrinólise (ESMON, 2005).

Nos últimos anos, a descoberta de uma série de biomarcadores possibilitou aos laboratórios clínicos a avaliação eficiente do processo da coagulação *in vivo*. Entre estes biomarcadores destaca-se a pesquisa sorológica de dímero-D. O dímero-D é o menor fragmento dos produtos de degradação da fibrina (PDF) e é produzido através da ação da plasmina que lisa a ligação cruzada da fibrina. O dímero-D comporta-se como biomarcador de ativação da coagulação e da fibrinólise secundária, e está invariavelmente e precocemente aumentado sempre que houver formação de coágulo de fibrina intravascular (CUNHA; ROCHA, 2012).

Como aumentos significativos nas concentrações plasmáticas de dímero-D estão ligados à ocorrência de processos inflamatórios (BRITISH THORACIC SOCIETY STANDARDS OF CARE COMMITTEE PULMONARY EMBOLISM GUIDELINE DEVELOPMENT GROUP, 2003), a técnica de quantificação de dímero-D pode ser uma solução para detecção precoce de éguas susceptíveis a endometrite por se tratar de um teste com processamento e resultado rápido. Além disso, os dados sobre as concentrações de dímero-D no líquido uterino de éguas resistentes e susceptíveis à endometrite não estão disponíveis na literatura.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Endometrite

Endometrite é uma inflamação aguda ou crônica-ativa do endométrio, seus componentes e estruturas celulares associadas (LEY, 2006). A endometrite pode ser classificada em: 1) endometrite transmitida por doenças infecciosas, 2) endometrite infecciosa crônica, 3) endometrite persistente induzida pela cobertura e 4) endometrite degenerativa crônica induzida pelo acasalamento (TROEDSSON, 1999), sendo esta última considerada a forma mais comum de apresentação (ALGHAMDI et al., 2005).

A endometrite persistente em éguas é motivo de preocupação para os profissionais e criadores, devido à sua associação com baixa fertilidade (CARD, 2005). Antigamente acreditava-se que essa condição era exclusivamente o resultado da contaminação bacteriana do útero (TROEDSSON, 1999). Atualmente, é considerada uma resposta à introdução de ar, urina, sêmen, bactérias, fungos e levedura no útero de éguas (WOODWARD; TROEDSON, 2015).

Quando o tecido endometrial recebe um estímulo como sêmen ou bactérias, um rápido processo inflamatório inicia-se com a migração de neutrófilos e acúmulo de fluidos com a presença de mediadores inflamatórios tais como proteínas plasmáticas, fatores do complemento, óxido nítrico-sintase induzida (iNOS), óxido nítrico, além de prostaglandinas E e F2alfa (ALGHAMDI et al., 2005; FUMUSO et al., 2007; TROEDSSON et al., 1993a).

O embrião deixa as trompas em cerca de cinco dias pós-ovulação, portanto, a inflamação uterina deve ser controlada por 96 horas após a ovulação para maximizar a sobrevivência deste embrião. A detecção precoce da inflamação endometrial não-fisiológica é um requisito para aumentar as taxas de prenhez, por meio de técnicas como palpação transretal,



ultrassonografia e citologia endometrial, juntamente com a intervenção adequada para controlar a inflamação persistente (CARD, 2005).

A realização de cultura, a partir de uma biópsia, e a citologia endometrial são os métodos mais precisos e práticos para diagnosticar a endometrite. Porém, uma desvantagem da biópsia é a demora da emissão do resultado pelo laboratório e com isso pode ser que nesse período o animal saia do cio. Em comparação, culturas bacteriológicas podem ser feitas em questão de horas (NIELSEN, 2005).

Considerando que a endometrite persistente após cobertura é uma alteração inflamatória, muitas vezes não infecciosa, torna-se importante a sua detecção precoce. A escolha correta do procedimento terapêutico deve ser com base na definição da etiologia da endometrite (NOGUEIRA et al., 2007). O componente mais crítico na prevenção da doença é a rápida limpeza do conteúdo uterino após o parto e o acasalamento. Essa eliminação pode ser dificultada por anormalidades anatômicas como útero penduloso, problemas na cérvix ou por mudanças degenerativas como diminuição da contratilidade uterina, elastose vascular ou linfangectasia (LeBLANC, 2010).

O aumento da contração do miométrio também é responsável por eliminação do sêmen do útero através do colo uterino logo após o acasalamento. No entanto, outros mecanismos de limpeza são necessários, pois nem todo o conteúdo é removido por meio deste mecanismo. Como uma resposta imune específica com memória seria prejudicial durante uma posterior reprodução, a eliminação do excesso de sêmen deve ser realizada por uma combinação entre reação imune inata e limpeza mecânica (TROEDSSON, 2008).

A degeneração de vasos na camada vascular e ao longo da parede uterina pode estar associada com a função do miométrio e fluxo sanguíneo uterino geral. A associação entre elastose vascular e baixa perfusão sanguínea observada em éguas subférteis e inférteis sugere que a perfusão sanguínea uterina pode ser um importante fator de fertilidade. Assim, uma degeneração vascular pode comprometer o fornecimento de sangue para o útero e prejudicar

a sua funcionalidade, diminuindo a fertilidade do animal (ESTELLER-VICOS et al., 2012).

Existe uma disfunção na atividade miometrial em éguas com infecção. Não há diferença na atividade elétrica uterina de éguas resistentes e susceptíveis na ausência de inflamação. No entanto, uma grande diferença foi constatada quando associou-se um desafio bacteriano intra-uterino. Apesar de ambas apresentarem um aumento na atividade miometrial, nas éguas susceptíveis essa atividade diminui rapidamente (TROEDSSON et al., 1993b).

A demora na limpeza mecânica do útero contribui para a susceptibilidade de éguas em apresentarem endometrite recorrente, entretanto nem todas as éguas susceptíveis apresentam uma demora na limpeza uterina se a dilatação cervical é adequada (LEBLANC et al., 1994). Dentro de uma hora da infusão intra-uterina de sêmen ocorre um aumento significativo na perfusão uterina. O aumento simultâneo no líquido intra-uterino e o seu acúmulo, juntamente com o resultado citológico visto após a infusão de sêmen, sugere que o aumento na perfusão uterina é devido, principalmente, a uma resposta inflamatória do endométrio (BOLLWEIN et al., 2003).

Pós-cobertura, uma função quimiotática dos espermatozoides implica em uma inflamação transitória no útero das éguas. Esse processo é necessário para que ocorra uma limpeza uterina, eliminando os excessos de sêmen. No entanto, o processo pode evoluir para uma inflamação persistente em éguas que possuem problemas nos mecanismos de defesa uterino (TROEDSSON, 1999). Para a sobrevivência do embrião e manutenção da gestação é necessário um ambiente uterino estéril e livre de inflamação. No útero saudável, a inflamação é bem resolvida antes do embrião migrar a partir do oviduto para o lúmen uterino. Os embriões normalmente entrarão no útero como blastocistos cinco a seis dias após a ovulação (BETTERIDGE et al., 1982).

A endometrite também pode ser influenciada por um patógeno agressor e a resposta imunológica subsequente a ele. Diferentes bactérias podem expressar variados fatores de virulência e terem diversos modos de evadir a

resposta imune. Este pode resultar em vários sinais clínicos, ultrassonográficos e achados laboratoriais (LeBLANC, 2010).

O isolado bacteriano endometrial mais comum é o *Streptococcus equi zooepidemicus*. Portanto, presume-se que em amostras de endométrio onde mais de 5% de neutrófilos foram identificados e cocos Gram positivos estão presentes trata-se de uma endometrite susceptível de ser causada por uma infecção por *Streptococcus ssp* (CARD, 2005).

A análise da contagem de neutrófilos uterino pode ser um indicador precoce da susceptibilidade a endometrite persistente pós-cobertura. Se após 16 horas da introdução do sêmen os números de neutrófilos permanecerem elevados pode ser indicativo de susceptibilidade, e a detecção de uma diminuição do número de neutrófilos indica resistência à inflamação persistente (BROOK, 1985; NASH et al., 2010).

Uma ampla variedade de protocolos para o tratamento de endometrite está sendo utilizada, com a finalidade de controlar a doença, mas nenhum tratamento sozinho tem sido aceito como eficaz (WOLF, 2011).

## 2.2 Dímero-D

Vários estudos têm sido realizados em medicina humana para identificar qual dos marcadores da coagulação e hemostase é mais sensível e útil para o diagnóstico de complicações trombóticas em diferentes situações clínicas (MONREAL, 2003). A partir destes e de outros estudos, pode-se concluir que o teste mais sensível para o diagnóstico de doença tromboembólica e de coagulação intravascular disseminada é a quantificação de dímero-D no plasma (CESARINI et al., 2010; MONREAL, 2003; STOKOL et al., 2005).

Atualmente, o dímero-D é reconhecido como o melhor marcador fisiológico de fibrinólise (MORESCO, 2005), trombose e fibrinólise fisiológica (ROWE et al., 1998). Em virtude do sistema fibrinolítico estar envolvido em uma série de distúrbios, especialmente os tromboembólicos, a determinação laboratorial de seus níveis constitui uma importante ferramenta para o critério

diagnóstico de vários quadros (MORESCO, 2005). Uma vez que também foi demonstrado ser um bom preditor de mortalidade em pessoas, atualmente é o teste preferido em condições clínicas em seres humanos (MONREAL, 2003).

O dímero-D é um biomarcador que possibilita aos laboratórios clínicos a avaliação eficiente do processo de coagulação *in vivo* (CUNHA; ROCHA, 2012). Os dímeros-D são produzidos por meio da ação da plasmina que lisa a ligação cruzada da fibrina e são os menores fragmentos dos produtos de degradação da fibrina, correlacionando-se sericamente com a destruição da fibrina após estados de hipercoagulabilidade e hiperfibrinogênese (CESARINI et al., 2010; CUNHA; ROCHA, 2012; MONREAL, 2003; STOKOL et al., 2005).

Quando ocorre um fenômeno tromboembólico ocorre a ativação do sistema fibrinolítico, com aumento da concentração sérica dos produtos de degradação da fibrina, e, conseqüentemente de dímero-D. Ele é detectado uma hora após a formação do trombo e permanece elevado em média por sete dias (CUNHA; ROCHA, 2012).

O dímero-D comporta-se como um biomarcador específico de ativação da coagulação e da fibrinólise secundária, e está invariavelmente e precocemente aumentado quando houver formação de coágulo de fibrina intravascular (ADAM et al., 2009; CUNHA; ROCHA, 2012). Concentrações desse biomarcador aumentadas no plasma indicam que quantidades excessivas de fibrina tenham sido formadas no interior da árvore vascular e são submetidas à degradação fibrinolítica (MONREAL, 2003).

Níveis plasmáticos de dímero-D aumentados são observados em diferentes situações fisiológicas e clínicas em humanos quando a hemostasia é ativada (exercício, doenças sistêmicas tais como neoplasia, sepse ou trauma), e é um indicador muito confiável de coagulação intravascular disseminada, trombose venosa profunda, embolia pulmonar, e trombose venosa associada ao uso de cateter. O biomarcador também está sendo usado na medicina humana para identificar pacientes com risco de coagulação intravascular disseminada e sua resposta à terapia antitrombótica. Além disso, o dímero-D

demonstrou ser um marcador sensível e útil em estudos experimentais com trombose induzida em animais (MONREAL, 2003).

Em equinos, a mensuração de dímero-D tem-se demonstrado uma ferramenta para a detecção de estados de hipercoagulabilidade em animais com cólica, e são encontradas concentrações significativamente elevadas em cavalos com alterações gastrointestinais associadas à inflamação e isquemia, sobretudo em animais com peritonite (CESARINI et al., 2010; STOKOL et al., 2005).

A análise do dímero-D pode ser realizada pela utilização de anticorpos contra os produtos de degradação da fibrina humana. Estão disponíveis em kits comerciais de ELISA, imunofiltração, imunoturbidometria e aglutinação em látex, esta última técnica se destaca das demais devido a sua disponibilidade, facilidade de uso, rápido resultado e sensibilidade do teste (STOKOL et al., 2005). A técnica de aglutinação em látex semi-quantitativa é rápida, fácil e de custo acessível e parece ser uma boa opção para a primeira exibição do status de concentração de dímero-D em situações de emergência (ARMENGOU et al., 2008) e para fornecer mais informações para o diagnóstico de doenças agudas gastrointestinais (DELGADO et al., 2009). Embora os ensaios de aglutinação em látex sejam fáceis de realizar e requerem apenas três a cinco minutos para se obter os resultados, a sensibilidade é limitada, e os resultados são semi-quantitativos na melhor das hipóteses. O teste de ELISA, por outro lado, é sensível e quantitativo, mas é trabalhoso, demorado, e exige pessoal treinado para executar (ROWE et al., 1998). Testes de imunofiltração produz resultados dentro de dois minutos, alta sensibilidade e fácil de realizar (ADAM et al., 2009). Além dos testes já descritos, há a possibilidade de quantificação de dímero-D em amostras clínicas usando um biossensor de fibra óptica, sendo um teste rápido (exigindo 11 minutos), fácil de realizar, e comparável em sensibilidade e exatidão ao método de ELISA padrão (ROWE et al., 1998).

O padrão de normalidade para o plasma de equinos, determinado por meio do teste de ELISA, é de 1000 ng/mL (STOKOL et al., 2005). Os valores

de dímero-D no líquido peritoneal de equinos sem alterações gastrointestinais, obtidos por meio de aglutinação em látex variam de 4,0 – 88,0 ng/mL (DELGADO et al., 2009). Em vacas saudáveis a concentração de dímero-D no líquido peritoneal é < 0,6 mg/L enquanto nos casos clínicos de peritonite não-cirúrgica estes valores variam de 9 a 16 mg/L (VAN DE WIELE et al., 2008). Em cães e gatos o valor de referência para o dímero-D é <0,25mg/L usado em teste para detectar coagulação intravascular disseminada, trombose e hipercoagulabilidade (ONO et al., 1991).

A concentração de dímero-D no líquido peritoneal de equinos também é um método útil para a avaliação da atividade da fibrinólise peritoneal e para o diagnóstico de distúrbios gastrointestinais graves, especialmente nas condições inflamatórias (como, por exemplo, enterite aguda e peritonite) e lesões isquêmicas (DELGADO et al., 2009). Em cavalos com doenças articulares concomitantes (osteocondrite dissecante e osteoartrite) as concentrações de dímero-D foram significativamente maiores do que nos animais sem doença articular (RIBERA et al., 2013).

Assim, determinação da concentração plasmática de dímero-D atualmente é considerada um marcador sensível na avaliação da atividade fibrinolítica e, conseqüentemente, da atividade de coagulação. Qualquer aumento na concentração de dímero-D está fortemente relacionado com um aumento da destruição de fibrina (hiperfibrinólise) secundária a um aumento da formação de fibrina (hipercoagulação ou hiperfibrinogénese) (DELGADO et al., 2009).

Assim, os objetivos do presente estudo foram determinar se as concentrações de dímero-D no soro e líquido uterino sofrem alteração em éguas susceptíveis à endometrite em relação a éguas resistentes antes e após lavagens uterinas seriadas e antibioticoterapia, tentar determinar em qual compartimento o aumento do dímero-D refletiria melhor e mais rapidamente as alterações inflamatórias em éguas susceptíveis à endometrite em relação a éguas resistentes antes e após lavagens uterinas seriadas e antibioticoterapia, estabelecer valores de referência para as concentrações de dímero-D no soro

e no líquido uterino de éguas resistentes e daquelas susceptíveis à endometrite, e verificar se o dímero-D pode ser utilizado como um biomarcador para éguas susceptíveis à endometrite.

### 3. MATERIAL E MÉTODO

#### 3.1 Animais

Foram utilizadas 12 éguas da raça Quarto de Milha em programa de transferência de embriões por no mínimo duas estações de monta consecutivas, com idade variando entre 10 e 25 anos ( $15,9 \pm 4,4$  anos), divididas em dois grupos com seis animais cada.

O Grupo Controle (GC) foi composto por seis animais ( $14,3 \pm 3,6$  anos) considerados reprodutivamente normais (C1 a C6), sem histórico de endometrite, apresentando taxas de recuperação embrionária superior a 70% por no mínimo duas estações de monta anteriores, com resultados de exames ginecológicos, citológicos, e hematológicos normais. O Grupo Experimental (GE) foi composto por seis animais ( $15,5 \pm 5,4$  anos) com histórico reprodutivo insatisfatório (E1 a E6), apresentando taxas de recuperação embrionária inferior a 50%, achados ultrassonográficos compatíveis de endometrites bacterianas confirmadas por citologia associado à cultura e antibiograma. A caracterização dos grupos foi realizada por Mendonça (2012) e as amostras séricas e de líquido uterino foram cedidas para a realização deste estudo, o qual foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) local.

As amostras foram colhidas em uma central de transferência de embriões na cidade de Araçatuba. Todas as éguas receberam alimentação à base de ração comercial<sup>1</sup> aproximadamente 1% do peso vivo e pastagem de Tifton de boa qualidade, além de água e sal mineral<sup>2</sup> *ad libitum*. Todos os animais foram vermifugados<sup>3</sup> a cada sessenta dias. Enrofloxacin<sup>4</sup> foi administrada a todos os animais (5 mg/kg, IM, SID) do 1º até o 7º dia após o início da colheita das amostras.

---

<sup>1</sup> Fertilié, Socil®, Descalvado, SP.

<sup>2</sup> Mineral ADE, Socil®, Descalvado, SP.

<sup>3</sup> Ivermectina Gel Composto, Ourofino Saúde Animal®, Cravinhos, SP.

<sup>4</sup> Zelotril 10%, Agener União Saúde Animal, Pouso Alegre, MG.



## 3.2 Amostras

### 3.2.1 Soro

Sangue venoso jugular (5 mL) foi colhido das éguas de ambos os grupos, utilizando-se tubos a vácuo<sup>5</sup> sem anticoagulante para a quantificação das concentrações de dímero-D no início do cio (dia 0) e nos dias 1, 2, 3 e 4 após o início do cio (logo após colheita de material microbiológico, citologia endometrial e histopatológico). As amostras de soro foram aliquotadas em tubos de polietileno congeladas a -80°C para posterior análise.

### 3.2.2 Líquido uterino

Após a higienização da região perineal, amostras de líquido uterino foram obtidas para a determinação das concentrações de dímero-D no início do cio (dia 0) e nos dias 1, 2, 3 e 4 após o início do cio (logo após colheita de material microbiológico, citologia endometrial e histopatológico). O líquido uterino foi obtido após a transposição da cérvix com o dedo indicador e o posicionamento da sonda uterina modelo bivona<sup>6</sup> estéril, cujo balonete foi inflado com 50 mL de ar e tracionado caudalmente até obstruir o óstio cervical interno. Foram infundidos 120 mL de solução de Ringer lactato<sup>7</sup> no lúmen uterino, seguido de sifonagem do líquido em copo coletor estéril. O material foi acondicionado em gelo para o transporte. As amostras foram aliquotadas em tubos Falcon de 15 mL e centrifugadas a 10.000 rpm durante 10 minutos. O sobrenadante foi aliquotado em microtubos de polietileno (1,5 mL) e congelados a -80°C para posterior quantificação de dímero-D.

---

<sup>5</sup> Vacutainer, Becton-Dickinson, Plymouth, UK.

<sup>6</sup> Bioniche Animal Health, Belleville, Ontario, Canada.

<sup>7</sup> JP Indústria Farmacêutica, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

### 3.3 Concentrações de dímero-D

As concentrações de dímero-D no líquido uterino de éguas sadias e com endometrite foram mensuradas com um kit de imunoenensaio comercial humano<sup>8</sup> validado para equinos e lidas no leitor específico conforme instruções do fabricante. Brevemente, foi realizada a pré-lavagem do cartão teste aplicando-se 50 µL de solução de lavagem (evitando-se tocar a membrana) no orifício do teste para essa solução ser introduzida no cartão. Em seguida, 50 µL da amostra de soro e do líquido uterino foram adicionados ao cartão teste. Após sua absorção completa, foram aplicados mais 50 µL de conjugado no mesmo dispositivo teste e por fim, após sua absorção total, mais 50 µL da solução de lavagem. Ao término da absorção da solução de lavagem, o cartão teste foi colocado no equipamento devidamente calibrado obtendo-se um resultado do valor dímero-D em menos de dois minutos. As amostras que excederam o limite de detecção foram diluídas em 1:2 com PBS seguido da correção dos valores de leitura.

### 3.4 Análise Estatística

A análise dos dados foi realizada utilizando-se o programa SAS<sup>9</sup>. Os dados obtidos foram submetidos ao teste de Friedman para comparar momentos em cada grupo, e teste de Mann-Whitney para comparar grupos em cada momento. O coeficiente de correlação de Spearman foi calculado entre os compartimentos (soro e líquido uterino) para todos os momentos avaliados. Os dados foram apresentados como mediana (mínimo e máximo) e considerados significativos com valor de  $p < 0,05$  para todos os testes.

---

<sup>8</sup> NycoCard (Nycomed), Oslo, Noruega.

<sup>9</sup> SAS Institute Inc. The SAS System, release 9.3. SAS Institute Inc., Cary:NC, 2015.

#### 4. RESULTADO E DISCUSSÃO

Nenhuma alteração nas concentrações séricas ou no líquido uterino de dímero-D foi observada ao longo do tempo em éguas resistentes ( $p = 0,3971$ ;  $p = 0,05$ , respectivamente) ou susceptíveis à endometrite ( $p = 0,4787$ ;  $p = 0,6431$ ). Os valores de dímero-D séricos ou no líquido uterino foram semelhantes entre os dois grupos de animais durante todo o período avaliado (Tabela 1).

Tabela 1 - Concentrações de dímero-D no soro e no líquido uterino de éguas sadias (grupo controle) e com endometrite (grupo experimental), do dia 0 (início do cio) ao 4º dia (após o cio). Os valores estão expressos em mediana (mínimo e máximo)

Amostras	Momentos (dias)	Dímero-D (mg/L)		p
		Grupo Controle	Grupo Experimental	
<b>Soro</b>	0	0,30 (0,20-0,90)	0,40 (0,10-1,10)	0,5676
	1	0,25 (0,20-1,20)	0,25 (0,10-1,40)	0,7564
	2	0,25 (0,10-1,20)	0,30 (0,10-0,90)	0,6825
	3	0,40 (0,20-0,90)	0,60 (0,30-1,00)	0,4142
	4	0,30 (0,20-1,50)	0,55 (0,30-1,60)	0,4184
<b>Líquido Uterino</b>	0	0,20 (0,10-1,70)	1,10 (0,10-5,40)	0,3691
	1	0,90 (0,60-1,50)	1,20 (0,60-3,30)	0,5174
	2	0,25 (0,10-0,80)	2,00 (0,10-3,00)	0,1453
	3	0,30 (0,20-0,40)	0,30 (0,10-3,60)	0,6763
	4	0,25 (0,10-0,50)	1,00 (0,10-2,40)	0,1445

Ausência de letras minúsculas na coluna indica que não houve diferença ao longo do tempo (teste de Friedman,  $p < 0,05$ ). Ausência de letras maiúsculas na linha indica que os grupos não diferem entre si (teste de Mann Whitney,  $p < 0,05$ ). Dia 0 (início do cio) e dias 1, 2, 3 e 4 após o início do cio.

Tabela 2 – Relação entre a concentração de dímero-D quantificada no líquido uterino e soro de éguas resistentes e susceptíveis à endometrite e coeficiente de correlação de Spearman ( $r_s$ )

Grupo	Momentos (dias)	Dímero-D (mg/L)		Relação Líquido Uterino/Soro	Correlação líquido/soro ( $r_s$ )
		Líquido Uterino	Soro		
<b>Grupo Controle</b>	0	0,20 (0,10-1,70)	0,30 (0,20-0,90)	0,67 (0,50-1,89)	0,07
	1	0,90 (0,60-1,5)	0,25 (0,20-1,20)	3,60 (3,00-1,25)	0,29
	2	0,25 (0,10-0,80)	0,25 (0,10-1,20)	1,00 (1,00-0,67)	0,36
	3	0,30 (0,20-0,40)	0,40 (0,20-0,90)	0,75 (1,00-0,44)	0,25
	4	0,25 (0,10-0,50)	0,30 (0,20-1,50)	0,83 (0,50-0,33)	-0,43
<b>Grupo Experimental</b>	0	1,10 (0,10-5,40)	0,40 (0,10-1,10)	2,75 (1,00-4,91)	0,27
	1	1,2 (0,60-3,30)	0,25 (0,10-1,40)	4,80 (6,00-2,36)	-0,44
	2	2,00 (0,10-3,00)	0,30 (0,10-0,90)	6,66 (1,00-3,33)	-0,46
	3	0,3 (0,10-3,60)	0,60 (0,30-1,00)	0,50 (0,33-3,60)	-0,28
	4	1,00 (0,10-2,40)	0,55 (0,30-1,60)	1,82 (0,33-1,50)	0,16

Correlação não significativa ( $p > 0,05$ )

A Tabela 2 mostra os valores de mediana (mínimo, máximo), a razão entre os valores do líquido uterino:soro e o coeficiente de correlação entre eles.

Contrariamente ao esperado, não houve diferenças entre as concentrações de dímero-D séricas e do líquido uterino de animais resistentes em comparação a éguas susceptíveis à endometrite. Isso pode ser justificado pelo fato de que as éguas susceptíveis à endometrite apresentavam grau leve a moderado de inflamação uterina e presença acentuada de fibrose periglandular (MENDONÇA, 2012). Estas alterações no exame histopatológico realizado em estudo prévio por este grupo seriam justificadas pela idade avançada da maioria destes animais submetidos ao programa de transferência de embrião há muitos anos, além das lavagens seriadas e da utilização de

antibioticoterapia fazendo com que o número de células inflamatórias e bactérias diminuíssem.

A idade das éguas e o número médio de anos vazia aumentam gradualmente, de acordo com a severidade da fibrose endometrial (DOIG et al., 1981). A fibrose difusa observada normalmente indica um prognóstico ruim, ou seja, impossibilita a manutenção de gestações (MCCUE, 2008), contrariando a ideia de que embora a cicatriz fibrosa não seja normal, ela proporciona estabilidade estrutural suficiente para que o tecido lesado seja capaz de exercer sua função (MITCHELL et al., 2005). Entretanto, a presença de fibrose difusa no endométrio não inviabiliza a utilização destes animais como doadoras de embrião, portanto ainda que incapazes de manter a gestação essas éguas poderiam participar de programas de transferência de embrião (MENDONÇA, 2012).

A utilização do lavado uterino com baixo volume tem sido proposta como alternativa para as análises microbiológica e citológica no diagnóstico de endometrite para éguas inférteis ou subférteis (LIU; TROEDSSON, 2008). A realização do lavado uterino com baixo volume em éguas inférteis e subférteis demonstrou ser um método mais efetivo para identificação de patógenos bacterianos e resposta inflamatória comparado à histologia, citologia exfoliativa e cultura bacteriológica (BALL et al., 1988).

A quantificação de dímero-D em líquido uterino de animais susceptíveis à endometrite por meio de lavagem uterina com volumes baixos parece ser uma metodologia inédita até o momento. O fato de aumentos nas concentrações séricas de dímero-D não terem sido detectados nos animais susceptíveis à endometrite pode ser explicado pelo fato de não terem sido observadas leucocitose ou elevações séricas de proteínas de fase aguda em um estudo prévio realizado por este grupo com estes mesmos animais (MENDONÇA, 2012), o que gerou o desenvolvimento de uma resposta inflamatória compartimentalizada. Além disso a utilização de antibioticoterapia pode ter interferido nos valores de dímero-D no presente estudo, já que a endometrite muitas vezes é decorrente de um processo infeccioso. Os

leucócitos, principalmente os neutrófilos, migram do vaso sanguíneo para o tecido adjacente e, dele, para o sítio da inflamação (KELLER, 2004). Essa inflamação compartimentalizada pode ser explicada em decorrência da utilização de lavagens uterinas seriadas, já que as mesmas tem a finalidade de recrutar novos neutrófilos por meio da irritação mecânica do endométrio (PYCOCK, 2007), aparecendo um dia após a infusão uterina (BENNETT et al., 1981), diminuindo após três dias do início do tratamento e retornando ao normal após 7 dias (MENDONÇA, 2012).

A quantificação do dímero-D é realizada por um teste baseado no princípio de fluxo direto imunométrico, com alta sensibilidade, de processamento rápido, de fácil realização e os resultados são obtidos em menos de dois minutos (ADAM et al., 2009), podendo ser comparado ao teste de aglutinação em látex, também rápido e de custo acessível, ideal para ser usado em situações de emergência mas de sensibilidade limitada (DELGADO et al., 2009). Diferentemente, o método ELISA, é sensível, porém trabalhoso, demorado e exige pessoal treinado (ROWE et al., 1998).

De acordo com os resultados obtidos neste estudo, o dímero-D não se comportou como um biomarcador para a endometrite, independentemente se avaliado no soro ou no líquido uterino de éguas susceptíveis ou resistentes à endometrite, pois os valores obtidos foram muito semelhantes.

O valor de corte desempenha um papel fundamental na determinação de decisões clínicas, sendo necessário que os laboratórios forneçam esses valores estabelecidos e confiáveis para ajudar a interpretar os resultados com precisão (ADAM et al., 2009). Observou-se no presente estudo que o valor máximo de dímero-D do soro de éguas resistentes e susceptíveis à endometrite foi de 0,90 e 1,10 mg/L respectivamente, portanto sendo semelhantes aos valores de referência, já que o padrão de normalidade para o plasma de equinos determinado através de ELISA é de 1 mg/L (STOKOL et al., 2005). Segundo Delgado et al. (2009) os valores de dímero-D obtido através de aglutinação em látex no líquido peritoneal de equinos não afetados por afecções gastrointestinais variam de 0,004 a 0,088 mg/L, em contrapartida em

animais com peritonite variam de 1,62 a 82,2 mg/L. Já no líquido uterino, as éguas resistentes e susceptíveis à endometrite apresentaram valor máximo de dímero-D de 1,70 e 5,40 mg/L, respectivamente. Portanto, sugere-se que concentrações de dímero-D no líquido uterino maiores que 1,70 mg/L sejam consideradas como indicadores de endometrite.

Alguns profissionais consideram que a determinação de dímero-D deva ser rotineiramente incluída nos testes de triagem para muitas emergências veterinárias (MONREAL, 2003), esse teste poderá ser utilizado como uma ferramenta diagnóstica futura, por exemplo, em animais mais jovens, cujos endométrios não apresentem as alterações relatadas em idades avançadas.

A cultura, biópsia e citologia são métodos precisos para o diagnóstico da endometrite, mas apresentam como desvantagem a demora na emissão do resultado (NIELSEN, 2005), portanto, apesar de não ser caracterizada como uma doença emergencial, a importância da identificação destas éguas está na necessidade do tratamento precoce para obtenção da prenhez. Entretanto, sabe-se que qualquer aumento na concentração de dímero-D está fortemente relacionado com o aumento da destruição da fibrina (hiperfibrinólise) secundário a um aumento da formação de fibrina (hipercoagulação ou hiperfibrinogênese) (DELGADO et al., 2009). Em razão dos endométrios dos animais avaliados no presente estudo não apresentarem um estado de hipercoagulação ou hiperfibrinogênese, também justificaria os valores semelhantes de dímero-D entre os dois grupos.

O presente estudo é provavelmente a primeira evidência de quantificação de dímero-D em éguas susceptíveis ou resistentes à endometrite, portanto torna-se necessário ampliar esta investigação para melhor entender os mecanismos que envolvem o processo inflamatório como a coagulação, uma vez que ambos estão intimamente relacionados, pois o sistema de coagulação está dividido em duas vias que convergem para uma via comum, culminando na ativação da trombina e na formação de fibrina. A trombina é a principal ligação entre o sistema de coagulação e inflamação, visto que é a enzima responsável pela clivagem do fibrinogênio solúvel circulante em

coágulo insolúvel de fibrina (MITCHELL et al., 2005). E como, sabidamente, a endometrite é uma inflamação aguda ou crônica-ativa do endométrio, seus componentes e estruturas celulares associadas (LEY, 2006) estes conhecimentos se tornam fundamentais para orientar novas e futuras estratégias de diagnóstico precoce e tratamento da endometrite equina.



## 5. CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, foi possível concluir que não houve diferença entre as concentrações de dímero-D séricas e do líquido uterino nos animais resistentes e susceptíveis à endometrite antes e após lavagens uterinas seriadas e antibioticoterapia. Estes achados permitiram demonstrar que o dímero-D não se comportou como um biomarcador para a endometrite. Observou também que os animais susceptíveis à endometrite apresentaram uma resposta inflamatória compartimentalizada, sendo assim possível padronizar valores de referência no soro e no líquido uterino nas condições uterinas encontradas.

## REFERÊNCIAS

ADAM, S. S.; KEY, N. S.; GREENBERG, C. S. D-dimer antigen: current concepts and future prospects. **Blood**, v. 113, n. 13, p. 2878-2887, 2009.

ALGHAMDI, A. S.; FOSTER, D. N.; CARLSON, C. S.; TROEDSSON, M. H. T. Nitric oxide levels and nitric oxide synthase expression in uterine samples from mares susceptible and resistant to persistent breeding-induced endometritis. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 53, n.5, p. 230-237, 2005.

ARMENGOU, L.; MONREAL, L.; TARANCÓN, I.; NAVARRO, M.; RIOS, J.; SEGURA, D. Plasma D-dimer concentration in sick newborn foals. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 22, n.2, p. 411–417, 2008.

BALL, B. A.; SHIN, S. J.; PATTEN, V. H.; LEIN, D. H. Use of low-volume uterine flush for microbiologic and cytologic examination of the mare's endometrium. **Theriogenology**, v.29, n. 6, p.1269–1283, 1988.

BENNETT, D. G.; POLAND, H. J.; KANEPS A. J.; SNYDER S. P. Histological effect of infusion solutions on the equine endometrium. **Equine Practice**, v. 3, p. 37–42, 1981.

BETTERIDGE, K. J.; EAGLESOME, M. D.; MITCHELL, D.; FLOOD, P. F.; BERIAULT, R. Development of horse embryos up to twenty two days after ovulation: observations on fresh specimens. **Journal of Anatomy**, v. 135, p. 191-209, 1982.

BOLLWEIN, H.; SOWADE, C.; STOLLA, R. The effect of semen extender, seminal plasma and raw semen on uterine and ovarian blood flow in mares. **Theriogenology**, v. 60, n.4, p. 607-616, 2003.

BRITISH THORACIC SOCIETY STANDARDS OF CARE COMMITTEE PULMONARY EMBOLISM GUIDELINE DEVELOPMENT GROUP. British Thoracic Society guidelines for the management of suspected acute pulmonary embolism. **Thorax**, v. 58, n.6, p. 470–484, 2003.

BROOK, D. Cytological and bacteriological examination of the mare's endometrium. **Journal of Equine Veterinary Science**. v. 5, n.1, p. 16-22, 1985.

CARD, C. Post-breeding inflammation and endometrial cytology in mares. **Theriogenology**, v. 64, n.3, p. 580-588, 2005.

CESARINI, C.; MONREAL, L.; ARMENGOU, L.; DELGADO, M. A.; RIOS, J.; JOSE-CUNILLERAS, E. Association of admission plasma D-dimer concentration with diagnosis and outcome in horses with colic. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 24, n.6, p. 1490-1497, 2010.

CONCHA-BERMEJILLO, A.; KENNEDY, P.C. Prognostic value of endometrial biopsy in the mare: a retrospective analysis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v. 181, n.7, p. 680-681, 1982.

CUNHA, D. C. O.; ROCHA, R. D. R. Tromboembolismo pulmonar: aspectos gerais e aplicabilidade diagnóstico da dosagem sérica de dímero-D. **Pós em Revista do Centro Universitário Newton Paiva**, v. 5, p. 325-331, 2012.

DELGADO, M. A.; MONREAL, L.; ARMENGOU, L.; RIOS, J.; SEGURA, D. Peritoneal d-dimer concentration for assessing peritoneal fibrinolytic activity in

horses with colic. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 23, n.4, p. 882–889, 2009.

DOIG, P. A.; MCKNIGHT, J. D.; MILLER, R. B. The use of endometrial biopsy in the infertile mare. **Canadian Veterinary Journal**, v. 22, n.3, p. 72-76, 1981.

ESMON, C. T. The interactions between inflammation and coagulation. **British Journal of Haematology**. v. 131, n.4, p. 417-430, 2005.

ESTELLER-VICOS, A., LIU, I. K., COUTO, S. Uterine vascular degeneration is present throughout the uterine wall of multiparous mares. Colinearity between elastosis, endometrial grade, age and parity. **Theriogenology**, v. 78, n.5, p. 1078–1084, 2012.

FUMUSO, E. A.; AGUILAR, J.; GIGUERE, S.; RIVULGO, M.; WADE, J.; ROGAN, D. Immune parameters in mares resistant and susceptible to persistent post-breeding endometritis: effects of immunomodulation. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. V.118, n.1-2, p. 30-39, 2007.

FUMUSO, E.; GIGUERE, S.; WADE, J.; ROGAN, D.; VIDELA-DORNA, I.; BOWDEN, R. Endometrial IL-1 $\beta$ , IL-6 and TNF- $\alpha$ , mRNA expression in mares resistant or susceptible to post-breeding endometritis. Effects of estrous cycle, artificial insemination and immunomodulation. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. v. 96, n.1-2, p. 31–41, 2003.

KELLER, A. **Avaliação morfológica-funcional da recuperação do endométrio equino através da infusão de neutrófilos imunocompetentes criopreservados, baseado em um modelo experimental definido**. 2004. 105f. Dissertação (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

KENNEY, R. M. Cyclic and pathologic changes in the mare's endometrium as detected by biopsy, with a note on early embryonic death. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v.172, n.3, p. 241-262, 1978.

LEBLANC, M. M. Advances in the diagnosis and treatment of chronic infectious and post-mating-induced endometritis in the mare. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 45, sup.2, p. 21–27, 2010.

LEBLANC, M. M.; NEUWIRTH, L.; ASBURY, A. C.; TRAN T, MAURAGIS, D.; KLAPSTEIN, E. Scintigraphic measurement of uterine clearance in normal mares and mares with recurrent endometritis. **Equine Veterinary Journal**, v. 26, n.2, p. 109-113, 1994.

LEVI, M.; KELLER T. T.; VAN GORP E.; TEN CATE, H. Infection and inflammation and the coagulation system. **Cardiovascular Research**. v. 60, n.1, p. 26-39, 2003.

LEY, W. B. **Reprodução em éguas para veterinários de equinos**. São Paulo: Roca, 2006. 220p.

LIU, I.; TROEDSSON, M. The diagnosis and treatment of endometritis in the mare: Yesterday and today. **Theriogenology**, v. 70, n.3, p.415–420, 2008.

McCUE, P. The problem mare: management philosophy, diagnostic procedures, andtherapeutic options. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.28, n.11, p.619–626, 2008.

MENDONÇA, V. H. **Quantificação de proteínas de fase aguda em éguas doadoras de embrião da raça quarto de milha**. 65f. 2012. Tese (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária, 2012.MITCHELL, R.; KUMAR, V.; FAUSTO, N.; ABBAS, A. K.; ASTER, J.

Inflamação aguda e crônica. In: KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N. (Ed.). **Robbins e Cotran: patologia: bases patológicas das doenças**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005. p.29-54.

MONREAL, L. Editorial: d-dimer as a new test for the diagnosis of DIC and thrombotic disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 17, n. 6, p. 757-759, 2003.

MOREIRA, J. F.; FERNANDES, F. T.; QUEIROZ, F. J.; PINHO, T. G.; FERREIRA, A. R. Estudo comparativo de éguas repetidoras ou não de cio através da avaliação histológica do endométrio e das concentrações plasmáticas de progesterona. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 27, n.12, p. 506-512, 2007.

MORESCO, R. N. **Associação entre níveis de dímero-D, produtos de degradação da fibrina/fibrinogênio (PDF) e troponina cardíaca T na investigação dos distúrbios tromboembólicos**. 92f. 2005. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2005.

NASH, D. M.; SHELDON, I. M.; HERATH, S.; LANE, E. A. Markers of the uterine innate immune response of the mare. **Animal Reproduction Science**. v. 119, n.1-2, p. 31-39. 2010.

NIELSEN, J. M. Endometritis in the mare: a diagnostic study comparing cultures from swab and biopsy. **Theriogenology**, v. 64, n.3, p. 510-518, 2005.

NOGUEIRA, C. E. W.; SILVA, C. A. M.; LINS, L. A.; CURCIO, B. R.; FREY JUNIOR, F. Avaliação da limpeza uterina na égua após a infusão de carvão. **Revista da FZVA**, v.14, n.1, p. 162-173, 2007.

ONO, N.; KOYAMA, T.; SUEHIRO, A.; OKU, K.; FUJITAKE, K.; KAKSHITA, E. Clinical Significance of new coagulation and fibrinolytic markers in ischemic stroke patients. **Stroke**, v. 22, n. 11, p. 1369-1379, 1991.

PYCOCK, J. F.; Therapy for mares with uterine fluid. In: **Current therapy in equine reproduction**. Chicago: Saunders Elsevier, 2007. p.96-97.

RIBERA, T.; MONREAL, L.; DELGADO, M. A.; RIOS, J.; PRADES, M. Synovial fluid d-dimer concentration in horses with osteochondritis dissecans and osteoarthritis. **Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology**, v. 26, n.1, p. 54–60, 2013.

ROWE, C. A.; BOLITHO, J. S.; JANE, A.; BUNDESEN, P. G.; RYLATT, D. B.; EISENBERG, P. R.; LIGLER, F. S. Rapid detection of D-dimer using a fiber optic biosensor. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 79, n.1, p. 94-98, 1998.

STOKOL, T.; ERB, H. N.; WILDE, L.; TORNQUIST, S. J.; BROOKS, M. Evaluation of latex agglutination kits for detection of fibrin(ogen) degradation products and D-dimer in healthy horses and horses with severe colic. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 34, n.4, p. 375–382, 2005

TROEDSSON, M. H. T. Problems after breeding. **Journal of Equine Veterinary Science**. v. 28, n.11, p. 635-639, 2008.

TROEDSSON, M. H. T. Uterine clearance and resistance to persistent endometritis in the mare. **Theriogenology**, v. 52, n.3, p. 461-471, 1999.

TROEDSSON, M. H. T.; LIU, I. K. M.; THURMOND, M. Immunoglobulin IgG and IgA and complement C3 concentrations in uterine secretion following an intrauterine challenge of *Streptococcus zooepidemicus* in mares susceptible to

versus resistant to chronic uterine infection. **Biology of Reproduction**, v. 49, n.3, p. 502-506, 1993a.

TROEDSSON, M. H.; LIU, I. K.; ING, M.; PASCOE, J.; THURMOND, M. Multiple site electromyography recordings of uterine activity following an intrauterine bacterial challenge in mares susceptible and resistant to chronic uterine infection. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 99, n.2, p. 307-313, 1993b.

VAN DE WIELE, C. M.; HOGAN, D. F.; GREEN, 3<sup>RD</sup>, H. W.; PARNELL, N. K. Cranial vena caval syndrome secondary to transvenous pacemaker implantation in two dogs. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 10, n. 2, p. 155-161, 2008.

WOLF, C. A. **Análise do líquido endometrial de éguas susceptíveis à endometrite: efeito da corticoterapia.** 150f. 2011. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

WOODWARD, E. M.; TROEDSSON, M. H. Inflammatory mechanisms of endometritis. **Equine veterinary journal**, v. 47, n.4, p. 384-389, 2015.