RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 15/12/2017.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

RESPOSTA INFLAMATÓRIA UTERINA DE ÉGUAS COM ENDOMETRITE PERSISTENTE PÓS-COBERTURA TRATADAS COM FIROCOXIB

Aimé de Medeiros Friso

Botucatu - SP
Dezembro/2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

RESPOSTA INFLAMATÓRIA UTERINA DE ÉGUAS COM ENDOMETRITE PERSISTENTE PÓS-COBERTURA TRATADAS COM FIROCOXIB

AIMÉ DE MEDEIROS FRISO

Dissertação apresentada a Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia Animal, Área de Reprodução Animal.

Orientador: Prof. Adj. Marco Antonio Alvarenga

Botucatu - SP
Dezembro/2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Friso, Aimé de Medeiros.
Resposta inflamatória uterina de éguas com endometrite persistente pós-cobertura tratadas com firocoxib / Aimé de Medeiros Friso. - Botucatu, 2016

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Orientador: Marco Antonio Alvarenga
Capes: 50504002

1. Endometrite - Fisiopatologia. 2. Agentes anti-inflamatórios. 3. Equino - Inseminação artificial. 4. Endométrio.

Palavras-chave: Anti-inflamatório não esteroidal; Endométrio; Equino; Resposta inflamatória.

Nome do autor: AIME DE MEDEIROS FRISO

Título: RESPOSTA INFLAMATÓRIA UTERINA DE ÉGUAS COM ENDOMETRITE PERSISTENTE PÓS-COBERTURA TRATADAS COM FIROCOXIB

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Marco Antonio Alvarenga
Presidente e orientador
Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária FMVZ - UNESP - Botucatu /SP

Prof. Dr. José Antonio Dell'Aqua Junior
Membro interno
Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária FMVZ - UNESP - Botucatu /SP

PhD. Márcio Teoro do Carmo
Membro externo
-Botucatu /SP

Data da Defesa: 15 de dezembro de 2016

AGRADECIMETOS

Agradeço aos meus pais Airton e Lucina por todo apoio, dedicação, carinho e amizade,
São os maiores e melhores exemplos que a vida me deu

Agradeço ao meu companheiro de vida Henrique, que sempre me apoiou e esteve presente em todos momentos, mesmo com alguns quilômetros de distância

Agradeço a minha família de amigos de Botucatu, que aos poucos foi crescendo e hoje somos muito mais que simples colegas, somos irmãos. Obrigada por todos os momentos, por todas as conversas, todo carinho trocado, todos foram fundamentais

Agradeço ao meu orientador Prof Dr Marco Alvarenga por todo auxílio, dedicação e ensinamentos

Agradeço aos demais professores do departamento de reprodução animal por todo auxílio e colaboração com a minha formação

Agradeço as funcionários da instituição pela colaboração

Agradeço aos animais, que são a razão do meu trabalho

Agradeço a CAPES pela bolsa durante o período do mestrado

Muito Obrigada a todos!!

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Lado esquerdo representando a cintilografia de uma égua normal reprodutivamente, e lado direito representando uma égua com atraso na limpeza uterina. A cérvix, o corno uterino e a vagina são rotulados como o ângulo u-c. 7

FIGURA 2. Reconhecimento das células espermáticas e dos patógenos pelas células sentinelas com posterior liberação dos PAMPS e produção de LPS, que se ligam a receptores do tipo toll-like desencadeando a transcrição genica de fatores pró-inflamatórios pelo NF-κB..... 9

FIGURA 3. Cascata do ácido araquidônico com a liberação das prostaglandinas que atuarão na resposta inflamatória 13

FIGURA 4. *R*ecrutamento de neutrófilos para os locais de inflamação 13

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AINE	Anti-inflamatório não esteroidal
cm	Centímetros
COX	Cicloxigenase
CTM	Células tronco mesenquimais
EGF	Fator de crescimento epidermal
EPMB	Extrato de parede de *mycobacterium*
EPPC	Endometrite persistente pós-cobertura
hCG	Gonadotrofina coriônica equina
IA	Inseminação artificial
ICAM-1	Glicoproteína de membrana-1
IFNγ	Interferom gama
Ig	Imunoglobulina
IGF-1	Fator de crescimento semelhante a insulina 1
IL-1	Interleucina-1
IL-1(ra)	Interleucina-1(receptor antagonista)
IL-1α	Interleucina -1alfa
IL-1β	Interleucina- 1beta
IL-6	Interleucina-6
IL-8	Interleucina-8
IL-10	Interleucina-10
iNOS	Óxido nítrico induzível sintetase
LAF1	Integria-1
LF	Lactoferrina
LPS	Lipopolissacarídeo
LTB_4	Leucotrienos
NF-κB	Fator nuclear kappa-B
PAMPS	Padrões moleculares associados a patógenos

PG	Prostaglandina
PGD2	Prostaglandina D2
PGE	Prostaglandina E
PGF2α	Prostaglandina 2α
PGFM	13,14-di-hidro-15-ceto prostaglandina 2 alfa
PGG2	Prostaglandina G2
PGH2	Prostaglandina H sintetase 2
PGI	Prostaglandina I
PMNs	Polimorfonucleares
PRP	Plasma rico em plaquetas
SAA	Soro amiloide
SCA	Soro condicionado autólogo A
TE	Transferência de embrião
TGF-β	Fator de transformação de crescimento beta
TLRs	Receptores Toll-like
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
TxA	Tromboxano A
VEGF	Fator de crescimento vascular endotelial
VLA-4	Integrina-4

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 2

2. REVISÃO DE LITERATURA 3

2.1 Endometrite persistente pós-cobertura 3

2.1.1 Interação do sêmen com o endométrio 3

2.1.2 Éguas resistentes e susceptíveis a endometrite pós-cobertura 4

2.2 Mecanismos de defesa uterina 5

2.2.1 Barreiras físicas 5

2.2.2 Contrações uterinas 5

2.2.3 Resposta inflamatória uterina 7

2.3 Ativação da resposta imune 8

2.3.1 Resposta imune adaptativa 11

2.3.2 Recrutamento dos leucócitos para o local da infecção 11

2.3.3 Componentes da resposta imune avaliados em éguas susceptíveis e resistentes a endometrite 13

2.4 Possíveis tratamentos para a endometrite persistente pós-cobertura 14

2.4.1 Fármacos Ecbólicos 14

2.4.2 Lavagem Uterina 16

2.4.3 Imunomoduladores 17

2.4.4 Anti-inflamatórios não esteroidáis 20

2.4.4.1 Firocoxib 23

3. REFERÊNCIAS 24

HIPÓTESE 34

OBJETIVOS 34

ARTIGO 36

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS 52

RESUMO

FRISO, A. M. RESPOSTA INFLAMATÓRIA UTERINA DE ÉGUAS COM ENDOMETRITE PERSISTENTE PÓS-COBERTURA TRATADAS COM FIROCOXIB. Botucatu – SP. 2016, p.52. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista

A endometrite persistente pós-cobertura (EPPC) é uma afecção que acomete uma parcela significativa das éguas que estão em programas de reprodução. Em vista disso, o objetivo desta revisão de literatura foi abordar a fisiopatologia da EPPC e seus tratamentos. Após a cobertura ou inseminação artificial (IA) é fisiológico que ocorra inflamação no interior do útero a fim de promover a limpeza uterina e drenagem dos debris celulares e contaminantes. Éguas que são susceptíveis a EPPC permanecem com acúmulo de líquido uterino e elevado infiltrado neutrofílico no interior do útero por mais de 36 horas após o contato com o sêmen. Para que essas fêmeas possam ser utilizadas na reprodução e se obtenha índices de fertilidade aceitáveis é necessário controlar a inflamação, oferecendo um ambiente uterino adequando para o embrião. A maioria dos tratamentos usados para as éguas com EPPC são paliativos, como a utilização de fármacos ecbólicos e lavagem uterina para auxiliar na retirada do líquido e os polimorfonucleares (PMNs) acumulados no interior do útero. Outros tratamentos tem sido sugeridos, como os imunomoduladores que atuam bloqueando a resposta inflamatória inicial, evitando a liberação de mediadores inflamatórios. Recentemente tem sido mencionada a utilização de anti-inflamatórios não esteroidáis (AINEs) para o tratamento de éguas susceptíveis, que atuam bloqueando a cicloxigenase (COX) interrompendo assim liberação das prostaglandinas (PGs) que são as causadoras do processo inflamatório. Um dos AINEs utilizado em equinos para o tratamento de outras alterações é o firocoxib, por ser seletivo a COX-2, não atua sobre a COX-1, evitando os efeitos adversos por essa via fisiológica. Esse medicamento pode se tornar uma opção para o tratamento de EPPC após ser comprovada sua eficiência.

Palavras-chave: Anti-inflamatório não esteroidal, equino, endométrio, resposta inflamatória.

ABSTRACT

FRISO, A. M. INFLAMATORY UTERINE RESPONSE OF MARES WITH PERSISTENT POST BREEDING ENDOMETRITIS TREATED WITH FIROCOXIB. Botucatu – SP. 2016, p.52. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

The persistente post-breedind endometritis (PPBE) is one pathology that affects significant part of the mares that are in breeding programs. The objective of this study was to make a literature review on the PMIE and their possible treatments. After mating or artificial insemination (AI) an physiological inflammation happens inside the uterus for uterine cleaning and drainage of cellular debris and contaminants. Mares that are susceptible to this type of endometritis can not make the proper uterine cleaning and remain with accumulated fluid and a high neutrophilic infiltrate inside the uterus for more than 36 hours after contact with semen. For that these females can be used for reproduction and be able to get acceptable fertility rates is necessary the control of this inflammation, offering a suitable uterine environment for the embryo. Most treatments that are used for PMIE mares are palliative, such as the use of ecbolic drugs and uterine wash to aid in removal of liquid and polymorphonuclear (PMNs) accumulated in the uterus. Other treatments have been suggested, such as the imunomodulatory treatment that act by blocking the initial inflammatory response, preventing the release of inflammatory mediators. Recently it has been mentioned the use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) for the treatment of susceptible mares, working by blocking the cyclooxygenase (COX) and interrupting the release of prostaglandins (PGs) that are the cause of the inflammatory process. A NSAID used in horses for treatment of other pathologies is firocoxib, being a selective COX-2 drug that has no effect on COX-1, avoiding the adverse effects by this

physiological route. This medicine may become an option for the treatment of PMIE after proven effectiveness tests.

Keywords: Non-steroidal anti-inflammatory, equine, endometrium, inflammatory response

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO

Com a grande valorização econômica dos cavalos de genética comprovada e boa funcionalidade, os criadores procuram otimizar ao máximo a eficiência reprodutiva desses animais, na maioria das vezes, utilizando as biotecnologias da reprodução. No caso das fêmeas, uma das biotecnologias utilizadas é a transferência de embrião (TE), em que se consegue produzir vários potros durante o ano, filhos de uma mesma égua.

Devido à excessiva manipulação do trato reprodutivo e as repetidas IAs das fêmeas que estão em programas de TE, que na sua maioria são éguas de idade avançada, ocorre um aumento das desordens uterinas com consequente comprometimento da fertilidade. Como consequência, é comumente relatada a queda na taxa de concepção, aumento do número de serviço por concepção e sobrevivência embrionária prejudicada, levando a um grande prejuízo econômico aos criadores.

Após a monta natural ou IA, ocorre uma inflamação uterina fisiológica transitória em reposta ao sêmen, fazendo com que o conteúdo presente no útero seja eliminado pelas contrações miometriais e o ambiente uterino fique em condições adequadas para a chegada do embrião (TROEDSSON, 1999).

Em algumas fêmeas essa inflamação uterina torna-se exacerbada e com intensa migração de PMNs para interior do útero e a inflamação não é controlada entre 36 e 48h após o coito como nas éguas normais (KATILA, 1995). Essa afecção é chamada de EPPC e geralmente acomete éguas mais velhas com as características anatômicas já alteradas, com posicionamento pendular do útero na cavidade abdominal devido ao afrouxamento dos ligamentos, circulação linfática falha e produção de poucas e anormais contrações uterinas após a monta natural ou IA (LEBLANC et al., 1994; LEBLANC et al., 1998).

Para que esses animais possam permanecer nos programas de reprodução e se consiga controlar essa inflamação uterina persistente, vários estudos já foram realizados. Os tratamentos utilizados visam auxiliar a limpeza do útero após a cobertura, sendo apenas uma medida paliativa, não atuando diretamente na causa da inflamação.

Alguns estudos têm demonstrado que a imunomodulação da resposta inflamatória anteriormente ou após a cobertura é capaz de melhorar as taxas de prenhez, já que há atuação diretamente nos mediadores inflamatórios, impedindo uma resposta exacerbada e persistente (FUMUSO et al., 2003; DELL AQUA JR et al., 2006; BUCCA et al., 2008).

Pesquisas vêm sendo realizadas com a utilização de AINEs para atuar diretamente no bloqueio da COX, principalmente com medicamentos seletivos para COX-2, interrompendo a cascata inflamatória e a produção de prostaglandinas, que são responsáveis pelo processo inflamatório, e ainda produzindo poucos efeitos adversos ao organismo do animal (CLARK, 2006).

Alguns dos resultados obtidos mostraram que os AINEs podem evitar que ocorra o desenvolvimento da EPPC em éguas com atraso de limpeza uterina após a IA e também podem levar a uma diminuição da expressão de COX-2 no estrato compacto do endométrio mostrando sua ação anti-inflamatória (AURICH et al., 2010; VILÉS et al., 2013).

O objetivo desta revisão de literatura foi abordar a fisiopatologia da EPPC e os tratamentos que já foram estudados.

_____CAPÍTULO 3

4.CONSIDERAÇÕES FINAIS

O firocoxib atuou controlando a migração de PMNs para o local da inflamação e não interferiu no processo da ovulação, mostrando-se um fármaco seguro que pode ser utilizado como adjuvante no tratamento da EPPC em éguas.