

RESPOSTA INFLAMATÓRIA UTERINA APÓS INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM ÉGUAS RESISTENTES E SUSCEPTÍVEIS À ENDOMETRITE

Maria Fernanda Svizzero Reghini¹
Carlos Ramires Neto²
Marcel Cavalcanti Farrás³
Eduardo Gorzoni Fioratti³
Marco Antônio Alvarenga⁴

RESUMO

A endometrite persistente pós-cobertura (EPPC) é a principal causa da redução de fertilidade em éguas. Tal desordem pode acarretar grande prejuízo econômico para os produtores, devido à possível queda na taxa de concepção dos animais, aumento do número de serviço por concepção e sobrevivência embrionária prejudicada. O objetivo deste trabalho foi verificar o estímulo do sêmen na resposta inflamatória uterina de éguas resistentes e susceptíveis à endometrite após inseminação artificial (IA). 8 éguas resistentes e 15 susceptíveis à EPPC foram selecionadas com base nos seus índices reprodutivos e exames ultrassonográficos e citológicos. A concentração de células polimorfonucleares (PMNs) na secreção uterina, citologia exfoliativa uterina e acúmulo de fluido uterino verificado no exame ultrassonográfico foram analisados nos dois grupos de animais (1) 24 horas antes da IA e (2) 24 horas após a IA com sêmen fresco. As células polimorfonucleares na secreção uterina foram quantificadas com o uso da câmara de Neubauer e a leitura das amostras de citologia foi realizada por microscopia óptica utilizando imersão, considerando a porcentagem de neutrófilos/100 células de forma aleatória. Os resultados demonstraram que houve uma resposta inflamatória mais intensa nas éguas susceptíveis quando comparadas às resistentes, pelo aumento do acúmulo de fluido uterino verificado no exame ultrassonográfico, aumento do número de células polimorfonucleares observadas na citologia exfoliativa endometrial e pelo aumento da concentração destas células no fluido uterino. Portanto, foi constatado que o sêmen estimula uma resposta inflamatória mais severa no ambiente uterino das éguas susceptíveis.

Palavras- chave: éguas, endometrite, sêmen.

UTERINE INFLAMMATORY RESPONSE AFTER ARTIFICIAL INSEMINATION IN MARES RESISTANT AND SUSCEPTIBLE TO ENDOMETRITIS

ABSTRACT

Post breeding endometritis (PBE) is the major cause of fertility reduction in mares. Such disorder can result in a great economic injury to producers due to the possible fall in the rate of conception, increase in the number of service per conception and impaired embryonic survival. The aim of this study was to verify semen's stimulus on inflammatory response in mares resistant and susceptible to PBE after artificial insemination (AI). 15 mares susceptible to PBE and 8 mares resistant to PBE were selected based on their reproductive index, ultrasonographic and cytological examination. The concentration of polymorphonuclear (PMNs) cells in the

¹ Mestranda do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária da FMVZ UNESP – Campus de Botucatu. Correspondência fernandasr@hotmail.com

² Aluno de graduação da FMVZ UNESP – Campus de Botucatu

³ Doutorando do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária da FMVZ UNESP – Campus de Botucatu

⁴ Professor Adjunto do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária da FMVZ UNESP – Campus de Botucatu

uterine secretion, exfoliative cytology of the uterus and uterine fluid accumulation observed by ultrasonography were analyzed in both group of animals (1) 24 hours before AI and (2) 24 hours after AI with fresh semen. PMNs in uterine secretion were quantified by the use of Neubauer chamber and the lecture of endometrial cytology samples were analyzed by optical microscopy using immersion, considering the percentage of neutrophils/100 cells in an alleatory form. The results showed that semen can stimulate a major inflammatory response inside the uterine environment in susceptible mares when compared to resistant mares, by increasing the amount of fluid inside the uterus verified by ultrasonographic exam, increase in PMN number observed in uterine cytology, and increase in concentration of PMN in uterine fluid. Therefore, it was found that semen stimulate a more severe inflammatory response inside the uterine environment of susceptible mares.

Keywords: mares, endometritis, semen.

RESPUESTA INFLAMATORIA DEL ÚTERO DESPUÉS DE LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN YEGUAS RESISTENTES Y SUSCEPTIBLES A ENDOMETRITIS

RESUMEN

Endometritis después de la cobertura es la principal causa de disminución de la fertilidad en yeguas. Este trastorno puede causar una gran pérdida económica para los creadores debido a la posible disminución de la tasa de concepción de los animales, el aumento del número de servicios por concepción y supervivencia de los embriones afectada. El objetivo de este estudio fue evaluar el estímulo del semen en la respuesta inflamatoria uterina de yeguas resistentes y susceptibles a la endometritis después de la inseminación artificial (IA). 8 yeguas resistentes y 15 susceptibles a endometritis fueron seleccionadas en base a sus índices reproductivos, exámenes de ultrasonido y citológicos. La concentración de las células polimorfonucleares (PMN) en la secreción uterina, citología exfoliativa y la acumulación de fluido uterino observado en el examen de ultrasonido uterino se analizaron en ambos grupos de animales (1) 24 horas antes de la IA, y (2) 24 horas después de la inseminación artificial (IA) con semen fresco. Las células polimorfonucleares en las secreciones uterinas se cuantificaron utilizando una cámara de Neubauer y la lectura de las muestras para citología se realizó por inmersión usando microscopía óptica, mientras que el porcentaje de células neutrófilos/100 al azar. Los resultados mostraron que había una respuesta inflamatoria más intensa en las yeguas susceptibles en comparación con las resistentes al aumentar la cantidad de fluido observado en ultrasonido uterino, incremento en el número de células polimorfonucleares observados en citología exfoliativa endometrial y aumento de la concentración de estas células en el fluido uterino. Por lo tanto, se encontró que el semen estimula una respuesta inflamatoria en el entorno uterino más grave en yeguas susceptibles.

Palabras clave: yeguas, endometritis, semen.

INTRODUÇÃO

Com a expansão da equinocultura nas últimas décadas, na qual o Brasil se destaca por estar entre os 3 países com maior número de animais puros de raça, os criadores procuram otimizar a eficiência reprodutiva dos reprodutores, buscando incrementar a produção por meio de um grande número de embriões coletados por égua doadora. Porém, a excessiva manipulação do trato reprodutivo tem levado ao aumento das desordens uterinas, com conseqüente comprometimento da fertilidade da fêmea equina.

Desta maneira, tais desordens podem acarretar grande prejuízo econômico para os produtores, devido à possível queda na taxa de concepção dos animais, aumento do número de serviço por concepção e sobrevivência embrionária prejudicada.

Segundo a literatura, a inflamação uterina induzida pela cobertura/inseminação é uma resposta ao sêmen depositado no útero, sendo um processo transitório, pelo qual os espermatozoides são eliminados do trato genital feminino. A reação é necessária para a sobrevivência e desenvolvimento do embrião. Porém, quando exacerbada, apresenta uma intensa migração de células polimorfonucleares para o interior do útero originada pela presença dos espermatozoides, resultando em perda embrionária ou interferindo na sobrevivência do embrião.

A EPPC caracteriza-se por uma rápida infiltração de neutrófilos uma hora após a inseminação artificial (1, 2). A mucosa do sistema reprodutivo apresenta um sistema imune que retira os contaminantes pela combinação entre os fatores celulares, humorais e mecânicos de drenagem que permitem a depuração uterina e a eliminação desse processo fisiológico em até 72 horas. A endometrite se instala de forma exacerbada quando há uma falha em algum desses mecanismos naturais de defesa (3). Éguas que apresentam inflamação persistente apresentam vários fatores predisponentes, como uma conformação perineal alterada, idade avançada, localização uterina fora dos padrões anatômicos ou uma falha no “clearance” uterino devido a uma contração miometrial deficiente (1).

Assim, após o contato do sêmen com o útero, ocorre uma forte reação inflamatória entre 4 e 24 horas (1). O pico da reação ocorre entre 6 e 12 horas, e esta decresce entre 24 e 48 horas (4).

O estudo de Troedsson (5) mostra que durante a realização do exame ginecológico pode ser difícil identificar éguas susceptíveis antes da cobertura. Alguns animais apresentam líquido livre no lúmen uterino antes da cobertura, mas a maioria destes não o apresenta até que sejam cobertos. Se há suspeita de EPPC, a égua deve ser monitorada por ultrassonografia transretal de 6 até 48 horas após cobertura.

Assim, os animais acometidos pela EPPC podem apresentar alta contagem de leucócitos, aumento do fluxo sanguíneo uterino, edema uterino com acúmulo de fluido, útero distendido e flácido, ciclo estral com menor duração (devido à regressão precoce do corpo lúteo) (6), histórico de repetição de cio e cultura endometrial positiva (7).

O objetivo deste estudo foi avaliar a resposta inflamatória uterina após inseminação artificial em éguas resistentes e susceptíveis à endometrite, a fim de facilitar a detecção dos animais susceptíveis e assim auxiliar o útero na limpeza de produtos inflamatórios e contaminantes após a cobertura para manter os níveis de prenhez em níveis satisfatórios.

MATERIAIS E MÉTODOS

Seleção dos animais e local da pesquisa

Foram utilizadas 23 éguas, sem raça definida, com peso médio entre 300 e 400 kg e idade entre 5 e 18 anos. Os animais pertenciam à FMVZ – UNESP Botucatu, e eram mantidos no Posto de Monta desta instituição, latitude 22°53'09'', altura 804 metros. Todos os animais apresentavam ótimo estado de condição corporal e eram alimentados diariamente com ração e feno e recebiam sal mineral e água *ad libitum*. Os animais foram divididos em duas categorias: 15 éguas susceptíveis, com idade maior que 10 anos, sendo duas éguas com 6 anos, apresentando histórico de acúmulo de fluido intrauterino após a cobertura por mais de 24 horas após IA, determinado por ultrassonografia e baixa taxa de recuperação embrionária (<30%), e 8 éguas resistentes, com idade inferior a 10 anos sem qualquer tipo de alteração no aparelho

reprodutivo, que não apresentavam histórico de acúmulo de líquido e queda na taxa de fertilidade.

Colheita de sêmen e preparo das doses inseminantes

A colheita de sêmen foi realizada com o auxílio de vagina artificial modelo Botucatu. Imediatamente após a obtenção do sêmen foi retirada a fração gel por filtração e o sêmen foi diluído com produto comercial a base de leite desnatado Botu-semen® (Biotech, Botucatu/SP, Brasil) na proporção de 1:1. O mesmo produto foi utilizado para todas as amostras de sêmen utilizadas. Após a diluição, a motilidade dos espermatozoides foi mensurada por meio de análise computadorizada (Hamilton Thorne Research, Danvers, USA) e a concentração mensurada em câmara de Neubauer. Após esses procedimentos, foram separadas doses contendo 800×10^6 de espermatozoides móveis.

Inseminações artificiais

As éguas resistentes e as susceptíveis foram inseminadas em ciclos estrais consecutivos com o mesmo garanhão, utilizando-se sêmen fresco com uma dose de 800 milhões de espermatozoides totais.

Ao se detectar um folículo de 35 milímetros e edema uterino compatível, as éguas foram induzidas à ovulação com 1 miligrama de acetato de deslorelina intramuscular. Cada animal foi inseminado uma vez por ciclo. Nos ciclos em que a ovulação não ocorreu dentro do período desejado, as colheitas foram descartadas e o ciclo estral, desconsiderado.

Colheita e processamento do material uterino

Foram realizadas citologias exfoliativas uterinas 24 horas antes da IA e 24 horas após a IA. As coletas foram feitas com o auxílio de um aparelho para coleta de citologia uterina equina, cuja função é proteger a escova ginecológica do contato com o ambiente vaginal e cervical da fêmea, além de facilitar sua entrada no útero, como descrito por Alvarenga e Iwana de Matos (8). Após a coleta, as lâminas foram secas em temperatura ambiente e coradas pelo método Panótico Rápido. A leitura das amostras foi feita por microscopia óptica utilizando imersão, considerando a porcentagem de neutrófilos/100 células de forma aleatória.

Foram realizados exames ultrassonográficos 24 horas antes da IA e 24 horas após, a fim de se detectar a presença de fluido uterino acumulado na região de bifurcação dos cornos uterinos e mensuração do mesmo. Em tais momentos, foi realizada a coleta da secreção uterina com um tampão de algodão (absorvente feminino modelo mini - OB® - Johnson & Johnson), utilizando um aplicador especialmente preparado de aço inox. Para facilitar a remoção do tampão, o mesmo teve seu puxador aumentado com fio cordonê grosso estéril. A retirada do tampão ocorreu após 30 minutos com a introdução da mão enluvada via vaginal e tração do fio cordonê, mantendo-o protegido do contato com o canal vaginal da égua. Imediatamente após a retirada do tampão do interior do útero o mesmo foi colocado em uma seringa estéril até a total liberação do líquido absorvido em um tubo estéril. A partir desta amostra foi separada uma alíquota para obtenção da concentração de neutrófilos/mililitros (mL) em câmara de Neubauer e microscopia óptica.

Em algumas éguas, não foi possível recuperar fluido uterino nos momentos antes da IA, desta maneira, tais animais não foram utilizados na mensuração da concentração de células PMNs no fluido uterino.

Análise estatística

Para os valores da concentração de células polimorfonucleares no fluido uterino, porcentagem de neutrófilos na citologia uterina e acúmulo de fluido analisado pelo exame ultrassonográfico, nos diferentes momentos e grupos de éguas foram realizados os cálculos das

médias e desvio padrão e os dados foram comparados pelo teste T pareado, utilizando o Programa GraphPad InStat 3®. O nível de significância considerado foi de 5%.

RESULTADOS

Ao se comparar as duas categorias de éguas, no momento pré inseminação artificial, não houve diferença estatística ($p>0,05$) em todos os parâmetros avaliados (concentração de PMNs no fluido uterino, porcentagem de PMNs na citologia exfoliativa uterina e acúmulo de fluido observado no exame ultrassonográfico) (Tabela 1 e figuras 1,2 e 3).

Tabela 1. Médias e desvio padrão do número de células polimorfonucleares no fluido uterino (PMN's; n resistentes=7; n susceptíveis =12); porcentagem de polimorfonucleares na citologia uterina (CIT) e quantidade de fluido uterino (FLU) entre éguas susceptíveis (n=15) e resistentes (n=8) 24 horas antes da inseminação artificial.

PRÉ IA	RESISTENTES	SUSCEPTIVEIS
PMN'S (células x 10 ³ /ml)	237,86 ± 219,5 ^a	406,4 ± 416,6 ^a
CIT (%)	2,25 ± 1,6 ^a	6 ± 12,4 ^a
FLU (mm)	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a

^{ab} Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si ($p<0,05$).

Após a IA, a concentração de PMNs no fluido uterino, porcentagem de PMNs na citologia exfoliativa uterina e acúmulo de fluido observado no exame ultrassonográfico foram estatisticamente diferentes ($p<0,05$) entre as duas categorias de éguas, apresentando valores maiores para as éguas susceptíveis (Tabela 2 e figuras 1, 2 e 3).

Tabela 2. Médias e desvio padrão do número de células polimorfonucleares no fluido uterino (PMN's; n resistentes=7; n susceptíveis=12); porcentagem de polimorfonucleares na citologia uterina (CIT) e quantidade de fluido uterino (FLU) entre éguas susceptíveis (n=15) e resistentes (n=8) 24 horas após inseminação artificial.

PÓS IA	RESISTENTES	SUSCEPTIVEIS
PMN'S (células x 10 ³ /ml)	611,43 ± 324,8 ^a	3536,25 ± 3626,6 ^b
CIT (%)	26,63 ± 10,7 ^a	69,93 ± 12,5 ^b
FLU (mm)	0,25 ± 0,7 ^a	11,07 ± 6,6 ^b

^{ab} Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si ($p<0,05$).

Comparando-se os momentos pré e pós inseminação artificial na categoria de éguas resistentes, foi observado aumento significativo ($p<0,05$) na concentração de PMNs no fluido uterino e na porcentagem de PMNs na citologia exfoliativa uterina, enquanto que a quantidade de fluido uterino mensurada na ultrassonografia não apresentou diferença estatística entre os momentos ($p>0,05$) (Tabela 3 e figuras 1,2 e 3).

Tabela 3. Médias e desvio padrão das células polimorfonucleares no fluido uterino (PMN's n=7); porcentagem de polimorfonucleares na citologia uterina (CIT; n=8) e quantidade de fluido uterino (FLU; n=8) nas éguas resistentes 24 horas antes e 24 horas após a inseminação artificial.

RESISTENTES	Pré IA	Pós IA
PMN's (células x 10 ³ /ml)	237,86 ± 219,5 ^a	611,43 ± 324,8 ^b
CIT (%)	2,25 ± 1,6 ^a	26,63 ± 10,7 ^b
FLU (mm)	0 ± 0 ^a	0,25 ± 0,7 ^a

^{a,b} Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si (p<0,05).

Já nos animais susceptíveis, todos os parâmetros aumentaram e diferiram significativamente após a inseminação artificial (p<0,05) (Tabela 4 e figuras 1,2 e 3).

Tabela 4. Médias e desvio padrão das células polimorfonucleares no fluido uterino (PMN's n=12); porcentagem de polimorfonucleares na citologia uterina (CIT n=15) e quantidade de fluido uterino (FLU n=15) nas éguas susceptíveis 24 horas antes e 24 horas após a inseminação artificial.

SUSCEPTÍVEIS	Pré IA	Pós IA
PMN's (células x 10 ³ /ml)	406,42 ± 416,6 ^a	3536,2 ± 3626,6 ^b
CIT (%)	6,0 ± 12,4 ^a	69,93 ± 12,5 ^b
FLU (mm)	0 ± 0 ^a	11,07 ± 6,6 ^b

^{a,b} Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si (p<0,05).

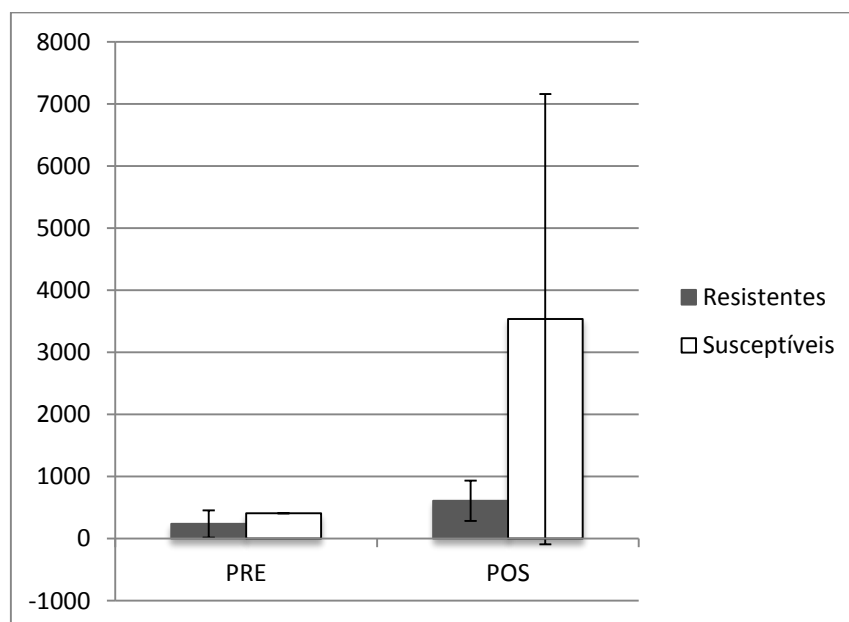


Figura 1. Médias e desvio padrão da concentração (x10³/mL) de células polimorfonucleares no fluido uterino (PMN's) nos momentos pré (PRE) e 24 horas após (POS) inseminação artificial, nas éguas resistentes (Resistentes) e susceptíveis (Susceptíveis) à endometrite persistente.

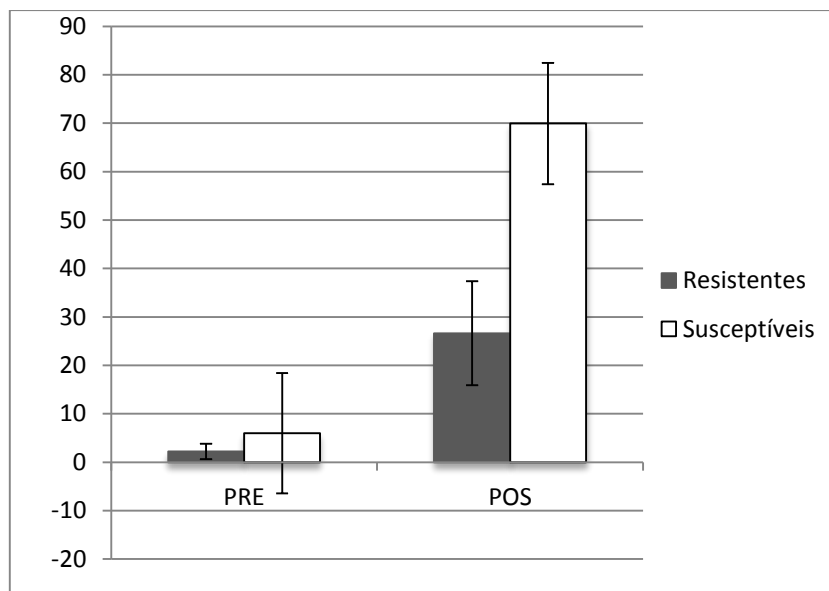


Figura 2. Médias e desvio padrão da porcentagem de células polimorfonucleares na citologia uterina nos momentos 24 horas pré (PRÉ) e 24 horas após (PÓS) inseminação artificial, nas éguas resistentes (Resistentes) e susceptíveis (Susceptíveis) à endometrite persistente.

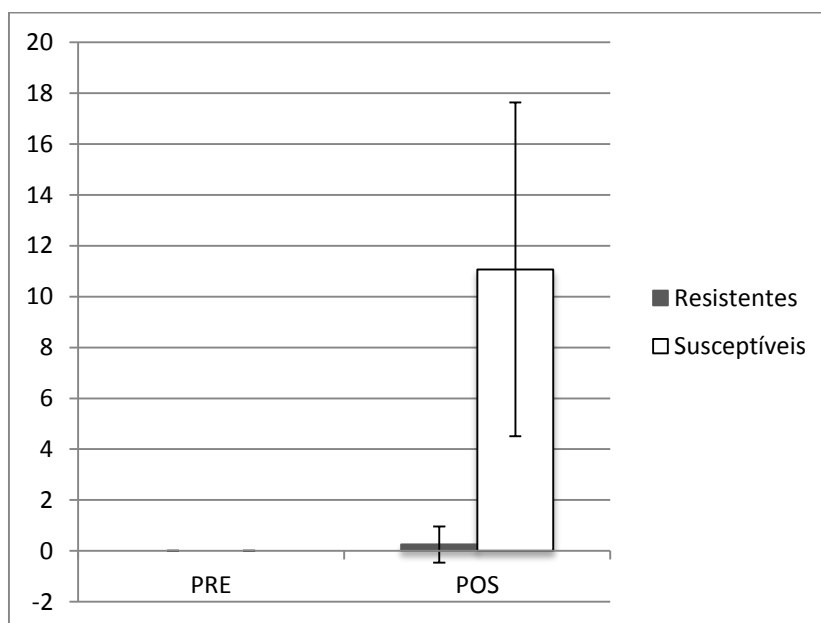


Figura 3. Médias e desvio padrão da quantidade de fluido uterino avaliada na ultrassonografia (mm), nos momentos 24 horas pré (PRÉ) e 24 horas após (PÓS) inseminação artificial, nas éguas resistentes (Resistentes) e susceptíveis (Susceptíveis) à endometrite persistente.

DISCUSSÃO

A contaminação bacteriana ou espermática provoca uma rápida infiltração de PMNs no lúmen uterino após a IA ou monta natural. Este processo inflamatório a princípio é benéfico; contudo, se for exacerbado e /ou persistir por um período de tempo superior ao esperado pode prejudicar a função espermática no caso de uma segunda inseminação artificial ou cobertura, causar luteólise prematura, assim como pode interferir na viabilidade embrionária após migração do embrião para o útero, devido aos efeitos tóxicos do conteúdo uterino.

O objetivo do presente trabalho foi comparar a resposta inflamatória uterina pela concentração de células polimorfonucleares no fluido uterino, percentual de polimorfonucleares na citologia exfoliativa uterina e pelo acúmulo de fluido intrauterino avaliado por ultrassonografia 24 horas antes e 24 horas após a inseminação artificial em éguas resistentes e susceptíveis à endometrite persistente.

Os resultados do presente experimento mostraram que o fluido uterino mensurado durante o exame ultrassonográfico aumentou significativamente 24 horas após a inseminação artificial nas éguas susceptíveis quando comparadas às éguas resistentes, dados condizentes com os encontrados por Fioratti (9), o qual observou um acúmulo de praticamente o dobro da quantidade de fluido nas éguas susceptíveis, e com Troedsson (5), que relata que quando há presença de fluido uterino no período maior que 12 horas após a inseminação artificial, a égua pode ser considerada como susceptível à endometrite pós cobertura/inseminação artificial. Troedsson e Liu (10) relataram que as éguas susceptíveis acumularam até seis vezes mais fluido no útero após desafio bacteriano do que as éguas resistentes.

A porcentagem de neutrófilos presentes em uma amostra de citologia uterina é usada para determinar o grau da inflamação presente no útero. No presente experimento foi utilizada a classificação realizada por Brook (11), na qual a presença de menos do que 5% de neutrófilos é indicativo de um endométrio não inflamado, de 15 a 30% uma inflamação moderada e acima de 30% uma inflamação severa.

O influxo de células PMNs nos tecidos é o marco da resposta inflamatória aguda. Segundo Katila (12), os primeiros neutrófilos entram no útero 1 hora após a inseminação artificial, tendo seu pico entre 6 e 12 horas. Em éguas resistentes à endometrite, os PMNs têm seu número reduzido gradualmente até 48 horas após a inseminação, o que não ocorre com os animais susceptíveis, que mantêm seus níveis de neutrófilos elevados por um período de tempo mais longo. Estes dados corroboram com os achados do presente experimento, no qual 24 horas após a inseminação artificial, as éguas susceptíveis apresentaram número de neutrófilos bastante elevados, indicando um processo inflamatório ativo, diferentemente das éguas resistentes, que apresentaram relação neutrófilos/células endometriais significativamente menor quando comparadas às éguas susceptíveis, sendo esta relação considerada aceitável. Tais achados concordam com os resultados de Katila (12), e discordam com os de Liu et al. (13), no qual ambas as categorias não apresentaram diferenças na migração de células polimorfonucleares para o útero. Portanto, no presente estudo, o processo inflamatório uterino foi mais intenso nas éguas susceptíveis do que nas resistentes.

Verificou-se ainda, neste estudo, a presença de neutrófilos por citologia exfoliativa antes da inseminação artificial, tanto no grupo de éguas resistentes, como no de éguas susceptíveis. As éguas resistentes apresentaram tais neutrófilos numa proporção aceitável para o período de estro, e algumas susceptíveis apresentaram esses valores mais elevados, porém sem acúmulo de líquido no interior do útero, dados que estão de acordo com os encontrados por Fioratti (9). Nikolakopoulos e Watson (14) observaram uma pequena população de neutrófilos no útero em éguas controle, que fazem parte do ambiente uterino normal.

A presença de espermatozóides no útero resulta em um processo inflamatório no local, resultando em alteração na permeabilidade dos vasos sanguíneos e liberação de fatores quimiotáticos que provocam influxo de neutrófilos no local agredido (15). No presente estudo, observou-se que a quantidade de células PMNs recuperadas no fluido uterino foi significativamente maior nas éguas susceptíveis quando comparadas às resistentes, concordando com o estudo de Fioratti (9), após a inseminação artificial. A concentração elevada de tais células inflamatórias nos animais susceptíveis 24 horas após a IA corrobora com os resultados de Katila (12), mostrando uma resposta inflamatória exacerbada na categoria de éguas susceptíveis, e de Nikolakopoulos e Watson (16) que estudaram a resposta inflamatória em éguas resistentes e susceptíveis à EPPC após IA e monta natural, e observaram que o fluido

recuperado dos animais susceptíveis se apresentava mais turvo do que o das éguas resistentes, demonstrando assim o maior número de células presentes pela intensa neutrofilia detectada na secreção uterina.

CONCLUSÃO

A partir dos resultados, e nas condições em que o experimento foi realizado, pode-se concluir que o processo inflamatório uterino após a inseminação artificial foi mais intenso nas éguas susceptíveis do que nas éguas resistentes.

REFERÊNCIAS

1. Card C. Post-breeding inflammation and endometrial cytology in mares. *Theriogenology*. 2005;64:580-8.
2. Troedsson MHT. Uterine clearance and resistance to persistent endometritis in the mare. *Theriogenology*. 1999;52:461-71.
3. Leblanc MM. Persistent mating-induced endometritis. In: Robinson NE. *Current therapy in equine medicine*. 5ª ed. St. Louis: Elsevier Science; 2003. p.234-7.
4. Troedsson MHT. Uterine defense mechanisms in the mare. *Arch STD/HIV Res*. 1994;8:259-69.
5. Troedsson MHT. Breeding-induced endometritis in mares. *Vet Clin North Am Equine Pract*. 2006;22:705-12.
6. Morel MCGD. *Equine reproductive physiology, breeding and study management*. 3ª ed. Oxon: CAB International; 2003.
7. Bucca S, Carli A, Buckley T, Dolci G, Fogarty U. The use of dexamethasone administered to mares at breeding time in the modulation of persistent mating induced endometritis. *Theriogenology*. 2008;70:1093-100.
8. Alvarenga MA, Iwana de Matos MC. Utilização da escova ginecológica cytobrush na coleta de material endometrial de éguas. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 1990;42:67-8.
9. Fioratti EG. Efeito dos anti-inflamatórios esteróides na reação inflamatória e na fertilidade de éguas normais e susceptíveis à endometrite persistente após inseminação artificial [dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2010.
10. Troedsson MHT, Liu IKM. Measurement of total volume and protein concentration of intrauterine secretion after intrauterine inoculation of bacteria in mares that were either resistant or susceptible to chronic infection. *Am J Vet Res*. 1992;53:1641-4.
11. Brook D. Uterine cytology. In: McKinnon AO, Voss JL, editors. *Equine reproduction*. Philadelphia: Lea & Febiger; 1993. p.246-53.

12. Katila T. Onset and duration of uterine inflammatory response of mares after insemination with fresh semen. *Biol Reprod Monogr Ser.* 1995;1:515-7.
13. Liu IKM, Cheung ATW, Walsh EM, Ayin S. The functional competence of uterine-derived polymorpho-nuclear neutrophils (PMN) from mares resistant and susceptible to chronic uterine infection: a sequential migration analysis. *Biol Reprod.* 1986;35:1168-74.
14. Nikolakopoulos E, Watson ED. Effect of infusion volume and sperm numbers on persistence of uterine inflammation in mares. *Equine Vet J.* 2000;32:164-6.
15. Palm F, Walter I, Budik S, Aurich C. Influence of different semen extenders and seminal plasma on the inflammatory response on the endometrium in estrous mares. *Anim Reprod Sci.* 2006;94:286-9.
16. Nikolakopoulos E, Watson ED. Does artificial insemination with chilled, extended semen reduce the antigenic challenge to the mare's uterus compared with natural service? *Theriogenology.* 1997;47:583-90.

Recebido em: 30/01/2013

Aceito em: 09/06/2014