

FATORES ENVOLVIDOS NOS MECANISMOS DE ABERTURA CERVICAL EM CADELAS COM PIOMETRA

Rodrigo Volpato¹
Maria Denise Lopes²

RESUMO

No Brasil, existe uma grande população de cadelas com risco de desenvolver um quadro de piometra, pois apenas uma pequena porcentagem de cadelas sadias é normalmente submetida à ovariosalpingohisterectomia eletiva. A patogênese da piometra canina não é completamente esclarecida e pode se apresentar de forma aberta ou fechada, caracterizada pela presença ou ausência de secreção vaginal, respectivamente. O relaxamento cervical é um fator importante para o diagnóstico, para o estabelecimento do prognóstico e para a escolha do tratamento eficiente. A indução do relaxamento cervical, independente do ciclo estral, poderia também facilitar a realização de exames citológicos e histopatológicos do endométrio para diagnóstico de processos inflamatórios e neoplásicos. Inúmeros fatores devem ser considerados quando se estuda os mecanismos de abertura e fechamento cervical, tais como: a concentração sérica de estrógeno e progesterona, os receptores hormonais no útero, a porcentagem de colágeno na cérvix, infiltrado inflamatório, prostaglandinas, interleucinas e óxido nítrico. O objetivo desta revisão bibliográfica é elucidar possíveis fatores envolvidos nos mecanismos de abertura cervical em cadelas portadoras de piometra.

Palavras-chave: piometra, cérvix, cadela.

FACTORS INVOLVED IN OPENING CERVICAL MECHANISMS IN BITCHES WITH PYOMETRA

ABSTRACT

In Brazil, there is a large population of female dogs at risk of developing pyometra, since only a small percentage of healthy bitches is usually submitted to elective ovariohysterectomy. Pathogenesis of canine pyometra is not fully understood and can be presented in open or closed forms characterized by the presence or absence of vaginal discharge, respectively. The cervical opening is an important factor for diagnosis, prognosis and for choosing an effective treatment. The cervical opening, regardless of the estrous cycle, would also facilitate cytological and histopathological tests for endometrial inflammatory and neoplastic processes diagnosis. Numerous factors must be considered when studying the mechanisms of cervical opening and closing, such as the serum concentration of estrogen and progesterone hormone, receptors in the uterus, the percentage of collagen in the cervix, inflammatory infiltrate, prostaglandins, interleukins and nitric oxide. The aim of this review is to elucidate the factors involved in the mechanisms of cervical opening in bitches with pyometra.

Keywords: pyometra, cervix, bitch.

¹ Doutorando do Departamento de Reprodução Animal, FMVZ-UNESP/Botucatu. Contato principal para correspondência

² Professora Titular do Departamento de Reprodução Animal, FMVZ-UNESP/Botucatu

FACTORES QUE INTERVIENEN EN LOS MECANISMOS DE APERTURA CERVICAL EN PERRAS CON PIOMETRA

RESUMEN

En Brasil, hay una gran población de perros con riesgo de desarrollar un panorama de la piometra ya que sólo un pequeño porcentaje de perros sanos se presenta generalmente a ovariectomía electiva. La patogénesis de la piometra canina no se entiende completamente y puede presentar una forma abierta o cerrada, caracterizado por la presencia o ausencia de secreción vaginal, respectivamente. El relajamiento cervical es un factor importante para el diagnóstico, para establecer el pronóstico y para elegir el mejor tratamiento. La inducción de la relajación cervical, independiente del ciclo estral, también podría facilitar los exámenes citológicos e histopatológicos del endometrio para el diagnóstico de procesos inflamatorios y neoplásicos. Hay numerosos factores que deben tenerse en cuenta al estudiar los mecanismos de apertura y cierre de cuello de útero, como la concentración sérica de estrógeno y progesterona, los receptores de hormonas en el útero, el porcentaje de colágeno en el cuello del útero, infiltrado inflamatorio, prostaglandinas, interleucinas y óxidos de nitrógeno. El propósito de esta revisión de la literatura es dilucidar los factores que intervienen en los mecanismos de la abertura del cuello uterino en las hembras que sufren de piometra.

Palabras clave: piometra, cervix, perra.

INTRODUÇÃO

A cadela é uma espécie monoéstrica anual, não estacional, sendo que as ovulações ocorrem uma ou duas vezes ao ano com intervalos de cinco a doze meses (1). Nos últimos anos, o conhecimento a respeito da fisiologia reprodutiva dos cães aumentou muito, mas doenças importantes e frequentes na clínica reprodutiva, como a piometra, ainda não são completamente elucidadas, existindo, inclusive, controvérsias entre os autores quanto a sua etiologia (2).

No Brasil, existe uma grande população de cadelas com risco de desenvolver um quadro de piometra, pois apenas uma pequena porcentagem de cadelas sadias é normalmente submetida à ovariosalpingohisterectomia (OSH) eletiva. Em nosso país, a maioria das castrações é realizada como consequência de alterações clínicas. A situação é diferente em outros países onde a prática da castração é comum e realizada em mais de 85% das cadelas (3).

A patogênese da piometra canina não é completamente esclarecida, a despeito de décadas de estudo sobre a etiologia desta doença. O conceito de Síndrome Hiperplasia Endometrial Cística/Piometra, introduzido por Dow (4-5), sugere que mudanças hormonais são responsáveis por um quadro de hiperplasia endometrial cística (HEC) que tornam o útero mais susceptível à infecção bacteriana secundária. Dow (5) e Sandholm et al. (6) propuseram que a endometrite subaguda é seguida pela HEC, a qual predispõe a piometra.

Doenças uterinas ligadas com o ciclo estral são importantes causas de infertilidade em carnívoros. Alterações hormonais resultantes de uma fase proliferativa longa, folículos ovarianos persistentes ou cistos ovarianos e infecções bacterianas apresentam uma influência importante no útero, provocando sua degeneração (7). A fase progestacional prolongada, invariavelmente após cada fase folicular, simultaneamente à participação bacteriana são os fatores mais importantes para a etiologia da piometra.

Clinicamente, a piometra pode se apresentar de forma aberta ou fechada, caracterizada pela presença ou ausência de secreção vaginal, respectivamente. A cérvix é considerada uma

barreira física importante, prevenindo a infecção ascendente pela secreção de muco e constrição. Na mulher, a dilatação cervical durante o parto correlaciona-se com a extensão do infiltrado de neutrófilos, entretanto, os mecanismos de dilatação cervical nas cadelas não são totalmente esclarecidos (8).

A abertura ou fechamento da cérvix nas cadelas são ciclo dependente. Sob a influência estrogênica, a cérvix se abre permitindo a entrada de bactérias da microbiota normal da vagina para o interior do lúmen uterino. Os produtos da secreção das glândulas, inicialmente estéreis, contêm nutrientes e pH favoráveis ao crescimento bacteriano e, com a diminuição da resposta inflamatória, a piometra pode se instalar (9, 10). Trabalhos envolvendo investigação sobre a indução de piometra canina demonstraram que entre os dias onze e trinta, após o pico de LH, o útero torna-se mais susceptível à infecção (11).

Algumas cadelas com piometra aberta podem apresentar fechamento da cérvix durante o curso da doença, assim como cadelas com piometra fechada podem apresentar abertura cervical. Esse mecanismo de abertura e fechamento cervical pode ser devido a interações hormonais, ou pode ser apenas um fator mecânico pela pressão exercida pelo próprio acúmulo de secreção no interior do útero. De qualquer forma, o mecanismo de relaxamento cervical necessita maiores estudos.

A taxa de mortalidade da piometra é de 3 a 4 % em países desenvolvidos que apresentam modernas rotinas de tratamento. O diagnóstico tardio e/ou tratamento pode conduzir esses animais a sépsis e ao desfecho fatal (12). As piometras abertas são menos tóxicas e mais fáceis de serem tratadas. Portanto, ao se conhecer os mecanismos de relaxamento cervical, seria possível, no mínimo, estimular a abertura cervical e induzir a eliminação do conteúdo uterino. Esta revisão bibliográfica visa atualizar os conhecimentos sobre a piometra canina, principalmente no tocante aos mecanismos de abertura e fechamento cervical nas cadelas.

FISIOLOGIA DO CICLO ESTRAL

O ciclo estral possui duração de 5 a 12 meses e consiste de quatro fases consecutivas: anestro (com duração de 80 a 240 dias), proestro (3 a 16 dias), estro (4 a 12 dias) e o diestro relativamente longo (60 a 90 dias) (7,13). A puberdade nas cadelas ocorre entre 6 e 14 meses de idade, variando de acordo com a raça e porte do animal (13). O ciclo estral das cadelas é conhecido como um dos mais primitivos de todos os mamíferos (7).

Dentre os hormônios relevantes no ciclo estral das cadelas, o hormônio folículo estimulante (FSH), o hormônio luteinizante (LH), estrógeno e progesterona são os mais envolvidos. Sob a influência do FSH, os folículos ovarianos se desenvolvem e as células foliculares produzem estrógenos, os quais estimulam a proliferação das células epiteliais da mucosa vaginal, aumentam a espessura da camada endometrial, promovem abertura da cérvix, aumentam o fluxo sanguíneo e a resposta inflamatória celular. As respostas ou efeitos provocados pelos estrógenos e progesterona no útero têm efeito cumulativo a cada ciclo estral (9,10).

A piometra tem sido associada a repetidas respostas ao estrógeno durante o estro, seguida por longos intervalos de dominância da progesterona, levando a modificações no endométrio (11,14). A estimulação progestacional resulta em proliferação do endométrio, secreção das glândulas uterinas e diminuição das contrações do miométrio. A inibição leucocitária no útero sensibilizado pela progesterona facilita a infecção bacteriana. O endométrio, sob o estímulo da progesterona, torna-se hiperplásico devido ao aumento no número e no tamanho de suas glândulas, as quais aumentam a atividade secretora e um fluido estéril pode se acumular no lúmen do útero. As respostas aos efeitos hormonais podem ser mais exacerbadas com o uso de progestágenos exógenos (14-16).

MECANISMOS ENVOLVIDOS NA ABERTURA CERVICAL

A cérvix apresenta poucas fibras musculares lisas e grande quantidade de tecido conjuntivo. A mucosa cervical é constituída por epitélio prismático simples de células produtoras de muco e lâmina própria onde se encontram as glândulas cervicais. Na fase secretória do ciclo estral, os elevados níveis de progesterona influenciam as glândulas a produzirem um muco viscoso, o qual impede a passagem de micro-organismos e de espermatozoides para o interior da cavidade uterina (17).

As propriedades mecânicas da cérvix são derivadas da concentração de colágeno, uma vez que o músculo liso constitui apenas 15% da massa do órgão. Feixes de colágeno proporcionam rigidez, a qual pode ser alterada rapidamente por ação das colagenases. A fonte de colagenase e seu controle são temas atuais de pesquisas e debates. Os colágenos da cérvix são principalmente dos tipos I, III e IV, tornando a cérvix uma estrutura bastante rígida, sendo a colagenase a enzima necessária para o relaxamento do órgão (18).

Os tratamentos clínicos da piometra envolvem medicamentos que estimulam a contração uterina, além disso, o relaxamento cervical é um fator importante para o diagnóstico, para o estabelecimento do prognóstico e para a escolha de um tratamento eficiente, pois a parede uterina muitas vezes apresenta-se friável e pode se romper, contaminando a cavidade abdominal (19).

Os mecanismos envolvidos na abertura e fechamento da cérvix não são completamente elucidados e inúmeros fatores devem ser considerados.

Nível Sérico de Estrógeno e Progesterona

O estrógeno induz a proliferação das glândulas endometriais e a progesterona induz a ramificação glandular, sendo também responsável pelo início da secreção glandular para o lúmen uterino (20).

Ainda é desconhecido o processo pelo qual podemos diferenciar a formação de piometra aberta ou fechada. Algumas hipóteses já foram levantadas, sendo a de Weiss et al. (1) bastante expressiva. Ao analisar a concentração hormonal de cadelas com diagnóstico de piometra, cadelas em diestro ou início de anestro, o estradiol não apresentou diferença significativa entre o grupo piometra aberta e piometra fechada. Quanto à análise da progesterona, os resultados apresentaram diferenças significativas sendo de $4,8 \pm 0,9$ ng/mL para a piometra aberta e de $13,2 \pm 5,5$ ng/mL para a piometra fechada.

No estudo realizado por Volpato (21), não foi observada diferença significativa entre as concentrações de progesterona quando foram comparados os grupos de piometra aberta e fechada. No referido trabalho, foram observadas variações individuais de 0,54 ng/mL a 35,43 ng/mL. Segundo o autor, tal variação deve-se à fase do ciclo estral no qual foi realizado o diagnóstico de piometra. Resultado semelhante foi encontrado no estudo realizado por Tamada et al. (19).

O aglepristone, que tem forte afinidade pelos receptores de progesterona, é utilizado no tratamento de piometra com a intenção de diminuir a ação desse hormônio e culminar na abertura cervical. O uso dessa medicação terapêutica tem sido bastante eficiente, é sabido do envolvimento da progesterona no mecanismo de abertura cervical, mas sua real função ainda precisa ser esclarecida (22).

Receptores de estrógenos e de progesterona

Investigações têm explorado a possibilidade de a piometra canina ser induzida por resposta exagerada do útero a níveis normais de hormônios (23). A expressão de receptores

parece ser diferente no útero comprometido com HEC e piometra quando comparado com o útero de cadelas sadias (20,23).

Estudos sobre receptores hormonais no útero de cadelas já foram realizados. Segundo Kunkitti et al. (24), os receptores de estrógeno e progesterona controlam a abertura e fechamento cervical durante o ciclo estral, porém, o mecanismo envolvido, as mudanças e associações bioquímicas que ocorrem nesse processo não são totalmente esclarecidos.

No estudo realizado por De Bosschere et al. (25) avaliou-se, por ensaio imunoistoquímico, a expressão de receptores estrogênicos (RE) e receptores de progesterona (RP) no útero de cadelas normais, com piometra e com HEC. As contagens de RE e RP foram mais elevadas nos animais com HEC, quando comparadas ao útero de cadelas normais ou portadoras de piometra, sendo a menor expressão desses receptores em cadelas com piometra. As diferenças na expressão de receptores de estrógeno e progesterona sugerem fatores distintos na patogênese da HEC e da piometra. Assim, pode-se deduzir que a piometra é desencadeada por uma cascata de fenômenos iniciada apenas pela infecção bacteriana e não pela HEC.

Em consequência da expressão aumentada do RE em cadelas com HEC, o endométrio permanece responsivo ao estrógeno, mesmo com níveis circulantes baixos. Isto pode esclarecer a contínua proliferação das glândulas endometriais durante o estágio de forte influência progesterônica. A ação prolongada simultânea do estrógeno e da progesterona poderia explicar as mudanças na proliferação cística que são características da piometra (20).

Volpato et al. (26), utilizando a técnica de imunoistoquímica, pesquisaram receptores de estrógeno α e β no útero e cérvix de cadelas com piometra aberta e fechada. No referido estudo, foi realizada a identificação e quantificação de tais receptores tanto nas regiões glandular e do estroma uterino, bem como nas regiões epitelial, glandular e do estroma da cérvix. Não foi verificada diferença estatística entre os grupos piometra aberta e piometra fechada em relação à expressão dos receptores de estrógeno α e β e dos locais avaliados.

Comparando a imunorreatividade dos RE α entre as diferentes regiões do útero, Volpato et al. (26) observaram que o epitélio glandular foi corado com maior intensidade do que o estroma. Também na cérvix, o epitélio glandular foi corado mais intensamente quando comparado ao estroma e ao epitélio luminal. Levando em consideração que a concentração de receptores é diretamente proporcional à intensidade da marcação, a região com o maior número de RE α no útero e cérvix é o epitélio glandular. Tais resultados vão de encontro aos observados por Dhaliwal et al. (27), os quais encontraram um escore muito baixo de RE e RP no epitélio glandular do útero.

O número de núcleos positivos para receptores de estrógeno e progesterona não diferiram entre as cadelas com piometra aberta e fechada (24, 26). Entretanto, Volpato et al. (26) identificaram diferenças na marcação dos RPs. Houve maior concentração de receptores de progesterona na cérvix de cadelas com piometra fechada e a reatividade foi mais intensa no estroma quando comparada ao epitélio glandular e luminal.

Os receptores de progesterona são menos expressos no útero de cadelas com HEC/piometra, quando comparadas às fêmeas controle, sadias, durante todo o diestro. Os escores imunoistoquímicos de RPs nas várias camadas do útero com HEC/piometra durante o diestro foram também baixos de acordo com Dhaliwal et al. (27).

Colágenos I e III

O relaxamento da cérvix é regulado pela musculatura lisa, tecido fibroso e elastina. A remodelação da matriz extracelular tem um papel importante na dilatação cervical pela degradação do colágeno. Em trabalho realizado por Chatdarong et al. (28), foi postulado que o útero de cadelas cíclicas tem maior proporção de colágeno em comparação à musculatura lisa, provavelmente em associação ao aumento do estradiol durante o estro. Tal característica

histológica gera menor resistência à tração, causando o relaxamento da cérvix. Resultado semelhante foi observado pelos mesmos autores nas cadelas com piometra de cérvix aberta, sugerindo que a abertura da cérvix está associada à maior proporção de colágenos frente a fibras musculares.

Dezenove tipos de colágenos já foram identificados e a cérvix inclui principalmente os tipos de colágenos I e III. Fisiologicamente, na cérvix aberta, não se observam fibras elásticas e as fibras de colágeno se encontram numa densidade menor quando comparadas à cérvix fechada, onde as fibras de colágeno se encontram mais densas e ordenadas. À medida que a dilatação cervical aumenta, as fibras de colágeno tornam-se mais finas e os espaços entre as fibras, maiores (19).

Volpato et al. (26), utilizando a técnica de imunoistoquímica, identificaram receptores para colágeno I e III nas regiões glandular e muscular, tanto do útero quanto da cérvix de cadelas com piometra aberta e fechada. Os resultados não demonstraram diferenças significativas entre as duas condições avaliadas ou entre as regiões investigadas. O aumento nas concentrações de colágeno não foi identificado na piometra fechada, conforme sugerido por Tamada et al. (19).

Agentes etiológicos e infiltrado inflamatório

A interação da progesterona e do estrógeno é importante no desenvolvimento da piometra, mas a progressão e severidade dessa enfermidade são influenciadas pela migração de bactérias por via ascendente (5).

A bactéria com maior incidência no útero de cadelas com piometra é a *Escherichia coli*, isolada de 57% a 96% das amostras uterinas. Ocasionalmente, outras bactérias como *Staphylococcus schleiferi*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus sp*, *Streptococcus canis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii* e *Pseudomonas aeruginosa* são isoladas do útero de animais infectados (1,12,29). A origem destes micro-organismos é o próprio intestino e trato urinário (1,30,31).

A infecção da cérvix e útero podem levar ao enfraquecimento da cérvix. A atividade da enzima *prostaglandina desidrogenase* é reduzida na presença de infecções, permitindo, portanto, a atuação da prostaglandina na cérvix (1,18).

O relaxamento cervical nas cadelas é normalmente associado à fase de proestro e estro. A contaminação bacteriana do útero ocorre durante tais fases do ciclo estral, não havendo, portanto, diferença entre a piometra aberta e fechada em relação ao momento da contaminação bacteriana. Volpato (21) não encontrou diferença no agente bacteriano isolado nas cadelas com piometra aberta e fechada.

A dilatação da cérvix em fêmeas híginas e com doenças uterinas pode ser controlada por mecanismos diferentes. A expressão dos receptores de estrógenos e progesterona é influenciada pelo ciclo estral em cadelas. A infiltração de neutrófilos no tecido cervical está envolvida na dilatação cervical e pode ocorrer em cadelas com piometra, independente da fase do ciclo estral (24).

Remodelações no tecido da cérvix durante o parto resultam em rápida abertura cervical, caracterizada por infiltração de neutrófilos e macrófagos. Os leucócitos parecem participar da reorganização do tecido conjuntivo da cérvix durante o parto e esse mesmo mecanismo talvez ocorra nos casos de piometra aberta nas cadelas (24)

O relaxamento da cérvix está associado com o influxo de leucócitos, incluindo os neutrófilos, os quais têm um elevado potencial para a liberação de colagenase que podem fazer a quebra do colágeno, este último responsável por proporcionar a rigidez da cérvix. Os neutrófilos são importantes fontes de colagenases específicas, contidas dentro do subconjunto de grânulos do citoplasma (18).

A invasão de células inflamatórias tem sido sugerida como uma possível causa de degradação de colágenos e relaxamento cervical. Em mulheres, o grau de dilatação cervical está diretamente relacionado com a extensão do infiltrado neutrofílico, o qual pode, posteriormente, produzir enzimas colagenolíticas, como proteases e metaloproteinases. O aumento de tais enzimas pode degradar o colágeno recém-sintetizado e, assim, diminuir a proporção colágeno/musculatura lisa na cérvix, interferindo no grau de relaxamento cervical em cadelas com doenças uterinas (24).

No trabalho realizado por Volpato et al. (32), utilizando seis cadelas com piometra aberta e seis cadelas com piometra fechada, não foi encontrada diferença significativa entre o infiltrado leucocitário, tanto no total dos leucócitos, como na quantificação de neutrófilos, linfócitos, macrófagos, eosinófilos e plasmócitos. De acordo com os referidos resultados, a infiltração leucocitária não está associada à abertura cervical na piometra canina.

Prostaglandinas

O mecanismo de dilatação da cérvix inclui uma série de interações por meio de reações químicas estimuladas por diferentes hormônios. A enzima ciclo-oxigenase-2 está envolvida com o aumento local de prostaglandina E2 (PGE2); o qual conduz a diversas alterações associadas ao amadurecimento cervical, tais como a dilatação dos pequenos vasos, aumento da degradação do colágeno, aumento do ácido hialurônico, aumento da quimiotaxia dos leucócitos e aumento do estímulo e liberação da interleucina-8 (IL-8) (33).

A deposição de PGE2 na vagina ou cérvix da mulher, ovelha, égua e vaca origina relaxamento e dilatação cervical *in vivo*, independentemente do estado fisiológico e das concentrações de progesterona. Na mulher, a aplicação de prostaglandinas na cérvix, antes do parto, induz a dilatação cervical (34,35)

Algumas prostaglandinas diminuem a atividade contrátil da musculatura cervical, sendo a PGE2 aquela que apresenta a atividade inibidora mais potente, mesmo em doses baixas. As prostaglandinas facilitam a dilatação cervical ao induzirem a liberação de colagenases, as quais promovem a quebra do colágeno e, como consequência, o relaxamento cervical. O misoprostol, um análogo sintético da PGE1, tem se mostrado altamente eficiente na indução da abertura cervical e no estímulo da atividade contrátil do miométrio (18,34,35).

O mecanismo de ação das prostaglandinas na abertura cervical ainda não está completamente elucidado. É sabido que as prostaglandinas estão envolvidas no amadurecimento cervical fisiológico, sendo os fibroblastos cervicais iniciadores do processo, controlando a permeabilidade e dilatação dos pequenos vasos sanguíneos. As prostaglandinas podem também apresentar efeito direto na estimulação da matriz metaloproteinase. O efeito vasoativo da PGE2 facilita a penetração de leucócitos na cérvix e os neutrófilos abundantes na circulação periférica são uma fonte importante de colagenase para o amadurecimento cervical final (18).

Interleucina

A etiopatologia da piometra vem sendo estudada há décadas e pouco se sabe sobre a ocorrência das células do sistema imunitário no útero canino. Sem dúvida, a falha de imunidade uterina local tem importância no desenvolvimento da piometra (36).

Na instalação da piometra, há recrutamento de leucócitos, citocinas e quimiocinas, os quais desempenham papel crucial na regulação da inflamação e da migração de células do sistema imunológico. Como esperado, as citocinas pró- inflamatórias precoces (IL-1B e TNF- α) foram encontradas em alta quantidade nos úteros de cadelas com piometra. Em contraste, a expressão da citocina anti-inflamatória IL-10 permaneceu inalterada, em comparação a úteros normais. (36)

A presença e migração de células inflamatórias podem causar o aumento das atividades da enzima óxido nítrico sintetase, juntamente com outros agentes inflamatórios, tais como a interleucina-1 (IL-1), fator de necrose tumoral alfa e interleucina-8 (IL-8). Tais mecanismos parecem estar envolvidos na abertura cervical, devido ao processo de remodelação do tecido inflamatório e quebra de pontes químicas entre as fibras de colágeno (33).

O início da abertura cervical nas mulheres pode envolver agentes quimiotáticos neutrofílicos, tais como a IL-8, que tem sido utilizada para promover o amadurecimento de cérvix em cobaia. A estimulação da IL-8 pode ocorrer nos fibroblastos ou em monócitos, em sinergismo com a prostaglandina E2 (18,33).

A IL-8 tem efeito seletivo na estimulação da liberação de metaloproteinases e grânulos que contêm a colagenase. O neutrófilo é uma fonte quase ilimitada de colagenase, carregada para os tecidos por agentes quimiotáticos. A IL-8 de indução e de ativação dos neutrófilos causa o relaxamento cervical em mulheres da mesma maneira que a IL-8 exógena induz a maturação em cobaias (18).

Estudos recentes indicam que a expressão local de IL-8 na cérvix está associada ao relaxamento e à infiltração de neutrófilos. Tamada et al. (19) relataram que a expressão de IL-8 foi positivamente associada à permeabilidade e número de neutrófilos na cérvix, o que sugere que as interleucinas podem concentrar neutrófilos na região e influenciar a permeabilidade.

A interleucina 17, originalmente identificada como linfócito T citotóxico, foi descrita pela primeira vez em 1993 em ratos e humanos. Dois anos depois, esta proteína foi descrita como uma nova citocina e chamada interleucina 17, a qual já foi encontrada em doenças de vias aéreas, gastrintestinais, articulações, de glândulas mamárias e útero de cadelas com piometra (36,37). A IL-17 está envolvida na resposta imune inata de muitos patógenos, incluindo *E. coli* e desempenha papel na regulação da inflamação no trato reprodutivo (36,38)

Os referidos resultados mostram que as interleucinas são muito importantes em doenças inflamatórias, mas ainda há poucos resultados sobre seu papel na piometra canina, sendo um importante campo de estudo para o futuro.

Óxido nítrico

O óxido nítrico (ON) é um radical livre altamente reativo, o qual desempenha importantes funções em diversos sistemas fisiológicos. Ao longo da última década, diversas linhas de pesquisa convergiram para demonstrar que o ON é modulador de processos fisiológicos e patológicos em mamíferos (39).

O ON atua como potente vasodilatador, sendo sintetizado no processo de conversão de L-arginina em l-citrulina pela ON sintetase (NOS). Há três isoformas: endotelial (e-NOS), neuronal (n-NOS) e induzível (i-NOS). As duas primeiras isoformas são dependentes de cálcio, enquanto a iNOS é induzida por citocinas, fatores de crescimento e reação inflamatória (40,41).

O ON parece desempenhar papel importante no processo de relaxamento cervical, visto que seu aumento leva à elevação na atividade de metaloproteinase, apoptose celular e síntese de glicosaminoglicano. Todas estas modificações estão associadas ao processo de amadurecimento cervical. Com o desenvolvimento da piometra, ocorre aumento do influxo de leucócitos e, assim, da concentração de NOS e suas atividades (33).

Diversos agentes podem ser utilizados na tentativa de relaxar a cérvix. Farmacologicamente, são quimiocinas como a interleucina, análogos da prostaglandina e ON. A NOS é encontrada na cérvix de ratos, cobaias e suínos e tem sua concentração elevada durante o parto. Momento esse onde a cérvix se encontra aberta, podendo a NOS interferir na abertura e fechamento cervical mediada pelos leucócitos, situação semelhante às cadelas com piometra. As mudanças observadas na cérvix de suínos após administração de nitroprussiato

de sódio assemelham-se àquelas após maturação fisiológica normal ao nascimento, com influxo de monócitos e granulócitos (18).

Pesquisas recentes estão investigando a ação do sistema óxido nítrico sintetase/óxido nítrico. Esse sistema parece estar associado à regulação do miométrio e da cérvix durante a gestação e o parto das mulheres. Estudos com ratos demonstraram que a atividade do óxido nítrico sintetase/óxido nítrico está associada à latência uterina. Previamente ao amadurecimento cervical, a atividade é baixa e, em seguida, aumenta no momento do trabalho de parto, sendo associada ao relaxamento da cérvix. O sistema óxido nítrico sintetase/óxido nítrico é a via final na indução de mudanças químicas associadas à maturação cervical (33).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A piometra é uma doença frequente nas cadelas e, a despeito de décadas de pesquisa, ainda são necessários estudos utilizando ferramentas mais sofisticadas e grupos de animais em fases hormonais bem definidas, a fim de compreender melhor sua etiologia e os mecanismos de abertura e fechamento cervical. Há um consenso de que as lesões são resultados de uma interação hormonal e participação bacteriana, mas apesar dos vários estudos sobre o tema, clinicamente, a síndrome piometra ainda representa um desafio para a maioria dos profissionais. A abertura cervical mediada por fármacos poderia facilitar o tratamento de animais portadores de piometra fechada, tornando o acesso ao útero mais seguro. Estudos sobre o uso do aglepristone para abertura cervical em cadelas com piometra já foram conduzidos, mas seu mecanismo de atuação ainda não está completamente esclarecido, mesmo sendo de comum consenso entre os autores sua colaboração na abertura cervical. A eliminação da secreção uterina por meio de drogas ecbólicas e antibioticoterapia poderia ser o tratamento de escolha para os animais com finalidade reprodutiva. O relaxamento cervical, independente do ciclo estral, poderia também facilitar a realização de exames citológicos e histopatológicos do endométrio para diagnóstico de processos inflamatórios e neoplásicos. Portanto, o entendimento de mecanismos de abertura cervical poderia auxiliar na clínica reprodutiva.

Após revisão sobre o tema, fatores como os agentes etiológicos causadores da infecção uterina, o infiltrado inflamatório, a concentração sérica de progesterona e estrógeno e os receptores de estrógenos não parecem estar envolvidos nos mecanismos de abertura e fechamento cervical. Em contra partida, os receptores de progesterona e os fatores envolvidos na degradação e remodelamento dos colágenos, tais como prostaglandinas, interleucinas e óxido nítrico parecem interferir na abertura cervical.

REFERÊNCIAS

1. Weiss RR, Calomeno MA, Sousa RS, Briersdorf SM, Muradás P. Avaliação histopatológica, hormonal e bacteriológica da piometra na cadela. *Arch Vet Sci*. 2004;9(2):81-7.
2. Goericke-Pesch S, Schmidt B, Failing K, Wehrend A. Changes in the histomorphology of the canine cervix through the oestrus cycle. *Theriogenology*. 2010;74(6):1075-81.
3. Hagman R, Reezigt BJ, Ledin HB, Karlstam E. Blood lactate levels in 31 female dogs with pyometra. *Acta Vet Scand*. 2009;51(2):11-9.
4. Dow C. The cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. *Vet Rec*. 1957;69:1409-15.

5. Dow C. The cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex in the bitch. *Vet Rec.* 1958;70:1102-8.
6. Sandholm M, Vasenius H, Kivisto AK. Pathogenesis of canine pyometra. *J Am Vet Med Assoc.* 1975;167(11):1006-10.
7. Kempisty B, Bukowska D, Wozna M, Piotrowska H, Jackowska M, Zuraw A, et al. Endometritis and pyometra in bitches: a review. *Vet Med.* 2013;58(6):289-97.
8. Chatdarong K, Kunkitti P, Srisuwatanasagul S. P2 Distribution of Oestrogen Receptor and Progesterone Receptor and Leukocyte Infiltration in Canine Cervical Tissue. In: *Proceedings of 7th Chulalongkorn University Veterinary Science the Animal Company*; 2008; Bangkok. Bangkok: Chulalongkorn University;2008. p.58.
9. Oliveira KS. Cystic endometrial hyperplasia complex. *Acta Sci Vet.* 2007;35(2):270-2.
10. Oliveira PC, Lopes MD, Thomé HE, Balieiro JCC. Avaliação citológica, histológica e hormonal de cadelas normais e com complexo hiperplasia endometrial cística/piometra. *Vet Zootec.* 2008;15(1):150-9.
11. Smith FO. Canine pyometra. *Theriogenology.* 2006;66:610-2.
12. Sharif H, Hagman R, Wang L, Eriksson S. Elevation of serum thymidine kinase 1 in a bacterial infection: Canine piometra. *Theriogenology.* 2013;79:17-23.
13. Concannon PW. Reproductive cycles of the domestic bitch. *Anim Reprod Sci.* 2011;124:200-10.
14. Pretzer SD. Clinical presentation of canine pyometra and mucometra: A review. *Theriogenology.* 2008;70:359-63.
15. De Bosschere H, Ducatelle R, Vermeirsch H, Van Den Broeck W. Cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex in the bitch: should the two entities be disconnected. *Theriogenology.* 2001;55:1509-19.
16. Ragni RA. Pyometra in a bitch following unusual sterilisation. *J Small Anim Pract.* 2005;46:39-40.
17. Junqueira LC, Carneiro J. Aparelho Reprodutor Feminino. In: *Histologia Básica.* 9a ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 1999. p:367-88.
18. Kelly RW. Inflammatory mediators and cervical ripening. *J Reprod Immunol.* 2002;57:217-24.
19. Tamada H, Kawata N, Kawate N, Inaba T, Kida K, Hatoya S, et al. Factors associated with patency of the uterine cervix in bitches with piometra. *Theriogenology.* 2012;93:1203-10.
20. De Cock H, Vermeirsch H, Ducatelle R, De Schepper J. Immunohistochemical analysis of estrogen receptors in cystic-endometritis-pyometra complex in the bitch. *Theriogenology.* 1997;48:1035-47.

21. Volpato R. Análise clínica e imunoistoquímica do útero e cérvix de cadelas com o diagnóstico de piometra [dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2011.
22. Oliveira NG, Koshiyam AMH, Scandura SC, Barros MA, Leme F, Torres MLM, et al. Uso de Aglepristone e cloprostenol no tratamento de piometra em cadela - Relato de Caso. In: VII Encontro Acadêmico de "Produção Científica" do Curso de Medicina Veterinária; 2006; São João da Boa Vista. São João da Boa Vista: Unifeob; 2006. p.328-33.
23. Ververidisa HN, Boscosa CM, Stefanakisb A, Saratsisa P, Stamoua AI, Krambovitisb E. Serum estradiol-17b, progesterone and respective uterine cytosol receptor concentrations in bitches with spontaneous pyometra *Theriogenology*. 2004;62:614-33.
24. Kunkitti P, Srisuwatanasagul S, Chatdarong K. Distribution of estrogen receptor alpha and progesterone receptor, and leukocyte infiltration in the cervix of cyclic bitches and those with pyometra. *Theriogenology*. 2011;75:979-87.
25. De Bosschere H, Ducatelle R, Tshamala M, Cory M. Changes in sex hormone receptors during administration of progesterone to prevent estrus in the bitch. *Theriogenology*. 2002;58:1209-17.
26. Volpato R, Martim I, Ramos RS, Tsunemi RH, Laufer-Amorim R, Lopes MD. Imunoistoquímica de útero e cérvix de cadelas com diagnóstico de piometra. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 2012;64(5):1109-17.
27. Dhaliwal GK, England GCW, Noakes DE. Oestrogen and progesterone receptors in the uterine wall of bitches with cystic endometrial hyperplasia/pyometra. *Vet Rec*. 1999;145(16):455-7.
28. Chatdarong K, Linharattanakul P, Sirivaidyapong S, Srisuwatamasakul S. The proportions of Smooth Muscle and Collagen in the Cervical Tissue of Bitches during Various Stages of the Estrous Cycle and Bitches Developing. In: Proceedings 9th Chulalongkorn University Veterinary Science the Animal Company; 2010; Bangkok. Bangkok: Chulalongkorn University; 2010. p.129.
29. Hagman R, Kuhn I. Escherichia coli strains isolated from the uterus and urinary bladder of bitches suffering from pyometra: Comparison by restriction enzyme digestion and pulsed-field gel electrophoresis. *Vet Microbiol*. 2002;84:143-53.
30. Coggan JA, Oliveira CM, Faustino M, Moreno AM, Von Sydow AC, Melville PA, et al. Microbiological study of intrauterine secretion from bitches with pyometra and research of virulence factors of Escherichia coli isolates. *Arq Instit Biol*. 2004;71 Suppl:1-749.
31. Bartoskova A, Vitasek R, Leva L, Faldyna M. Hysterectomy leads to fast improvement of haematological and immunological parameters in bitches with pyometra. *J Small Anim Pract*. 2007;48(10):564-8.
32. Volpato R, Reis MV, Rodrigues MMP, Tsunemi RH, Lopes MD. Infiltrado leucocitário em cérvix de cadelas com piometra aberta e fechada. In: Anais do XX CBRA; 2013; Uberlândia. Uberlândia: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal; 2013. p.171.

33. Goldberg AE. Role of various hormones in the process of cervical ripening [Internet]. New York: Medscape; 2013 [cited 2013 Mar 8]. Available from: <<http://emedicine.medscape.com/article/263311-overview#aw-2aab6b5>>
34. Nunes F, Rodrigues R, Meirinho M. Randomized comparison between intravaginal misoprostol and dinoprostone for cervical ripening and induction of labor. *Am J Obstet Gynecol.* 1999;181(3):626-9.
35. Barbas JP, Gonçalves SC, Marques CC, Horta AEM. Efeito da aplicação vaginal de agentes dilatadores do cérvix durante a fase folicular do ciclo em ovelhas. In: *Anais do III Congresso Ibérico de Reprodução Animal; 2001; Porto, Portugal.* Porto: Federação Ibérica de Reprodução Animal; 2001. p.299-307.
36. Bartoskova A, Turanek-Knotigova P, Matiasovic J, Oreskovic Z, Vicenova M, Stepanova H. γ δ T lymphocytes are recruited into the inflamed uterus of bitches suffering from piometra. *Vet J.* 2012;194(3):303-8.
37. Mensikova M, Stepanova H, Faldyna M. Interleukin-17 in veterinary animal species and its role in various diseases: A review. *Cytokine.* 2013;64(1):11-7.
38. Scurlock AM, Frazer LC, Andrews JRCW, O'Connell CM, Foote IP, Bailey SL. Interleukin-17 contributes to generation of Th1 immunity and neutrophil recruitment during *Chlamydia muridarum* genital tract infection but is not required for macrophage influx or normal resolution of infection. *Infect Immun.* 2011;79(3):1349-62.
39. Dixit VD, Parvizi N. Nitric oxide and the control of reproduction. *Anim Reprod Sci.* 2001;65(1-2):1-16.
40. Stuehr DJ. Mammalian nitric oxide synthases. *Biochim Biophys Acta* 1999;1411(2-3):217-30.
41. Hayashia KG, Hosoeb M, Takahashia T. Placental expression and localization of endothelin-1 system and nitric oxide synthases during bovine pregnancy. *Anim Reprod Sci.* 2012;134(3-4):150-7.

Recebido em: 03/12/2013

Aceito em: 29/05/2015