

RESPOSTA ENDOMETRIAL DE ÉGUAS SUBMETIDAS À INFUSÃO UTERINA COM QUEROSENE E IODO POVIDINE

(ENDOMETRIAL RESPONSE OF MARES SUBMITTED TO INTRA-UTERINE INFUSION WITH KEROSENE AND POVIDONE IODINE)

(RESPUESTA ENDOMETRIAL DE YEGUAS SOMETIDAS A INFUSIÓN UTERINA CON QUEROSENO Y YODOPOVIDINE)

F. C. MARTINS¹, A. C. PIMENTEL²

RESUMO

Este trabalho foi delineado com a finalidade de se avaliar a resposta endometrial de éguas submetidas à infusão intra-uterina com querosene e iodo povidine (PVPI). Foram utilizadas 36 éguas mestiças divididas em 3 grupos. O grupo 1 recebeu infusão intra-uterina de 50 ml de querosene comercial puro; o grupo 2, 50 ml de PVPI a 10% e o grupo 3, 50 ml de solução glicosada a 5%. De cada égua removeu-se um fragmento endometrial para biópsia nos dias 0 (antes do tratamento); 1, 7 e 30 dias após a infusão. Histologicamente, os endométrios foram classificados subjetivamente em graus de acordo com cada variável considerada. Verificou-se um maior grau de inflamação ($p < 0,05$) no grupo do querosene (71,87%), às 24 h pós-tratamento que nos grupos do PVPI e glicose (47,92% e 40,00%, respectivamente). O grau de infiltração de neutrófilos no estrato compacto foi maior ($p < 0,05$) no grupo do querosene (75,00%) que nos grupos do PVPI e glicose (47,92% e 42,50%, respectivamente). O grupo 1 apresentou maior intensidade de resposta inflamatória e mais rápida recuperação endometrial. A presença de neutrófilos no estrato esponjoso e linfócitos no estrato compacto mostraram uma variação temporal significativa ($p < 0,05$), mas inespecífica para os tratamentos. As demais variáveis analisadas não mostraram qualquer efeito dos tratamentos nem do tempo. Pode-se concluir que a infusão intra-uterina de querosene causa uma resposta inflamatória aguda mais intensa que o PVPI a 10% e uma recuperação mais rápida do endométrio à normalidade.

PALAVRAS-CHAVE: Endométrio. Éguas e querosene.

SUMMARY

This experiment was designed to evaluate the endometrial response of mares submitted to intra-uterine infusion of kerosene and povidone iodine (PVPI). Thirty-six mixed breeds mares were divided in 3 groups. Group 1 received 50 ml of intra-uterine infusion with undiluted commercial kerosene; group 2, 50 ml of 10% solution of PVPI and group 3, 50 ml of 5% glucose solution. Fragments of endometrial tissue were removed from each mare for endometrial biopsy at days 0 (just before treatments), day 1, 7 and 30 (after treatments). Histological evaluation disclosed that the endometria were ranked subjectively into scores according to each variable considered. These data were subjected to analysis of variance and showed a greater ($p < 0.05$) degree of inflammation in the kerosene group at 24 h post-treatment (71.87%) than PVPI and glucose (47.92% and 40.00%, respectively). There was also a more severe neutrophilic infiltration ($p < 0.05$) in the stratum compactum in the kerosene group at 24 h post-treatment (75.00%) than PVPI and glucose (47.92% and 42.50%, respectively). In these two variables there was a faster recovery time for the group that received kerosene. The presence of neutrophils in the stratum spongiosum and lymphocytes in the stratum compactum varied over time ($p < 0.05$) but not between

¹ Médico Veterinário. Professor Adjunto. Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal (UNIDERP), Rua Alexandre Herculano, 1400, Campo Grande MS, CEP: 79037-280, Brasil. E-mail: martinscf68@yahoo.com.br

² Médico Veterinário. Professor Pesquisador. Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Capão do Leão, Rio Grande do Sul RS, Brasil. pimentel.sul@terra.com.br

treatments, indicating an inespecific temporal variation. The other variables examined did not show variation between treatments nor over time. It can be concluded that intra-uterine kerosene infusion caused a more acute inflammatory response in the superficial layers of the endometrium and a faster histological recovery than 10% solution of PVPI.

KEY-WORDS: Endometrium. Mares. Kerosene.

RESUMEN

Este trabajo fue delineado con la finalidad de evaluar la respuesta endometrial de yeguas sometidas a infusión intrauterina con queroseno y yodopovidine (PVPI). Fueron utilizadas 36 yeguas mestizas divididas en tres grupos. El grupo 1 recibió infusión intrauterina de 50 ml de queroseno comercial puro; el grupo 2, 50 ml de PVPI al 10%; y el grupo 3, 50 ml de solución glucosada al 5%. En cada yegua se removió un fragmento endometrial para biopsia en los días 0 (antes del tratamiento); 1, 7 y 30 días después de la infusión. Histológicamente los endometrios fueron clasificados subjetivamente en grados, de acuerdo con cada variable considerada. Veinticuatro horas después del tratamiento se verificó mayor grado de inflamación ($p < 0,05$) en el grupo de queroseno (71,87%) que en los grupos PVPI y glucosa (47,92 y 40,00%, respectivamente). El grado de infiltración de neutrófilos en el estrato compacto fue mayor ($p < 0,05$) en el grupo queroseno (75,00%) que en los grupos de PVPI y glucosa respectivamente (47,92% e 42,50%, respectivamente). El grupo 1 presentó mayor intensidad en la respuesta inflamatoria y más rápida recuperación endometrial. La presencia de neutrófilos en el estrato esponjoso y linfocitos en el estrato compacto, mostraron variación temporal significativa ($p < 0,05$), pero inespecífica para los tratamientos. Las demás variables analizadas no mostraron cualquier efecto de los tratamientos ni del tiempo. Se puede concluir que la infusión intrauterina de queroseno causa una respuesta inflamatoria aguda más intensa que el PVPI a 10% y una recuperación más rápida del endometrio.

PALABRAS-CLAVE: Endometrio. Yeguas y queroseno.

INTRODUÇÃO

Dados sobre a taxa de natalidade de éguas demonstram que se trata da espécie de menor índice de fertilidade dentre as domésticas (VOSS, 1984).

Taxas de natalidade por estação reprodutiva em equinos selvagens oscilam entre 23% a 82% (BRISTOL, 1987). Dados sobre a raça Hannoverana (MERKT et al., 1979) indicam que durante cerca de 150 anos não se observaram progressos nas taxas de natalidade, que sempre oscilaram entre 50% e 60%, apesar dos avanços tecnológicos durante o período. Segundo Osborne (1975), a taxa de natalidade oficial para éguas da raça PSI (Puro Sangue Inglês de Corrida), registrada em 4 países durante o período de 1960 a 1970, situou-se entre 45% e 50%. Segundo Voss (1993), tem-se verificado uma melhora na eficiência reprodutiva quando procedimentos múltiplos de manejo e controle de doenças são aplicados, especificamente no que se refere a falhas do corpo lúteo, mortalidade embrionária e aborto. As principais causas de infertilidade da fêmea podem ser resumidas em três grandes grupos, segundo Voss (1984): irregularidades do ciclo estral (transtornos endócrinos), deficiências nutricionais e inflamações uterinas.

Levantamentos de frequência de endometrites em éguas, principalmente da raça PSI, demonstram que de 10 a 37% dessas fêmeas apresentam-se positivas

(WINGFIELD-DIGBY & RICKETTS, 1982). Essa elevada frequência pode ser atribuída a certos fatores predisponentes da espécie e/ou de certas raças. Além disso, as éguas podem ser divididas em 2 grandes grupos: suscetíveis e resistentes, conforme a capacidade de seus neutrófilos fagocitarem os agentes bacterianos e a capacidade de sua musculatura uterina eliminar mecanicamente o conteúdo (WATSON, 1988).

Vários são os fatores que levam éguas a se tornarem suscetíveis a endometrite: conformação perineal defeituosa (CASLICK, 1937, PASCOE, 1979); idade; número de partos; falhas nos mecanismos imunológicos (ASBURY, 1984) de defesa uterina - imunoglobulinas (ASBURY et al., 1980), mecanismos celulares de fagocitose (MATTOS et al., 1999), mecanismos não celulares - opsoninas (ASBURY, 1984); mecanismos de contractilidade uterina (TROEDSSON et al., 1993) e falhas nos mecanismos de drenagem linfática (LeBLANC et al., 1995).

Visando resolver problemas de endometrites em equinos, diversos tratamentos têm sido experimentados. Inicialmente pelo fato de a espécie equina e a bovina serem de grande porte, permitindo a manipulação da genitália via retal e vaginal, os anti-sépticos colocados diretamente na cavidade uterina tiveram a preferência dos clínicos. Götze (1949) conseguiu um bom efeito hiperêmico e curativo com soluções de iodo e iodeto de potássio e

água. Mais tarde, foram utilizadas soluções iodadas, como o lugol, com 3% de iodo livre. O iodo era preferido nas infusões. Essa substância continha propriedades de se dissociar, pondo-se em contato com os tecidos modificados patologicamente e com os líquidos, deixando livre pequenas quantidades de iodo, sendo rapidamente absorvido pela mucosa do útero (BENESCH, 1965).

Soluções de iodo-povidona diluídas foram utilizadas nas lavagens uterinas, entretanto, diluições maiores que 10% tem sido consideradas muito irritantes para o endométrio (MATHER et al., 1979). Harold e Gert (1985) verificaram os efeitos do iodo povidine na migração de neutrófilos em pessoas, ratos, cães e coelhos, presenciando um significativo estímulo na migração de neutrófilos, *in vitro*. Concentrações maiores que 10% podem produzir reação excessiva (NEELY, 1983). Já Mather et al. (1976) demonstraram que irritantes como o lugol causaram severa endometrite, seguida por aderência transluminal cervical e uterina.

Com a finalidade de se obter uma curetagem química para tratamento de subfertilidade, na Austrália, eram utilizadas infusões com querosene, uma mistura de hidrocarbonetos de petróleo (10-16 carbonos por molécula), sendo a quinta fração da destilação de petróleo (WINDHOLZ, 1983), com dose letal em coelhos de 28 ml/kg para o tratamento de sub-fertilidade, sem documentação científica de seus efeitos sobre o endométrio, segundo Bracher & Allen (1991), documentação científica de seus efeitos sobre o endométrio. Estes autores documentaram que o querosene induz a uma intensa inflamação aguda do endométrio com duração curta. Rangel et al. (1993) testaram a eficácia terapêutica da infusão de querosene em 15 éguas Puro-Sangue Inglês com 8 a 21 anos de idade e com histórico de infertilidade. Os índices de gestação atingiram 69%, sendo atribuído à infusão de querosene.

Com o advento dos antibióticos, por uma questão de tradição, continuaram sendo depositados no interior do útero. Foi mais tarde demonstrado que a via sistêmica era mais eficaz que a tópica numa série de circunstâncias (GUSTAFSSON e OTT, 1981). Posteriormente, devido ao insucesso, em termos de fertilidade, dos tratamentos que visavam apenas eliminar o agente etiológico (anti-sépticos e antibióticos), passou-se a utilizar tratamentos supostamente capazes de estimular as próprias defesas do organismo (DEWES, 1980, ASBURY, 1984, COUTO & HUGHES, 1985, LeBLANC et al., 1989, TROEDSSON et al., 1993, MATTOS et al., 1995).

Este trabalho teve por objetivo avaliar, histologicamente, o efeito da infusão de querosene intra-uterino, comparando-o com iodo povidine (PVPI), já que sucessos terapêuticos têm sido atribuídos ao querosene por clínicos de diversos países, tendo originariamente sido registrado na Austrália (BRACHER e ALLEN, 1991, RANGEL et al., 1993, HENRY et al., 1996).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 36 éguas mestiças, com idade entre 4 a 20 anos, sendo classificadas quanto ao seu *status* reprodutivo em: 12 éguas virgens, 20 éguas de serviço que não vinham sendo colocadas em cria e 4 éguas com potro ao pé.

Previamente à determinação dos tratamentos, todas as éguas foram submetidas a um exame ginecológico, estabelecendo-se a fase do ciclo estral, bem como as características individuais em termos de função ovariana e uterina à palpação retal, seguida de um exame vaginal por meio do vaginoscópio de Caslick, previamente flambado (BAKER e KENNEY, 1980).

Após o exame ginecológico, foi realizada a biópsia uterina. Os fragmentos endometriais foram coletados nos dias zero (logo após o exame ginecológico, antes da infusão no útero), 1, 7 e 30 dias após. Para a interpretação dos achados histológicos do endométrio das éguas, foi determinado a presença e intensidade de inflamação, presença e grau de fibrose (com base nas alterações inflamatórias e degenerativas, sendo o endométrio classificado histologicamente em quatro categorias, conforme Pimentel et al. (1989). A intensidade de alteração histológica para cada variável foi registrada. Foram atribuídos graus de 0 a 4 para inflamação (INF), dilatação glandular (DG), linfáticos dilatados (LD), neutrófilos no estrato compacto (NEC), neutrófilos no estrato esponjoso (NEE), linfócitos no estrato compacto (LEC) e linfócitos no estrato esponjoso (LEE). O grau 0 (zero) foi atribuído quando não havia alteração e assim, progressivamente, atribuiu-se grau 4 (quatro) quando a intensidade do comprometimento era máxima. Para dilatação glandular e dilatação de linfáticos, estimou-se a proporção de glândulas ou linfáticos que apresentavam um diâmetro superior a 30% dos demais, calculando-se, subjetivamente a proporção dessas alterações. A intensidade de fibrose (FIB) foi registrada numa escala de 0 a 100%, baseando-se numa avaliação subjetiva da proporção de epitélio comprometido com relação às glândulas inalteradas. Foi considerado comprometimento glandular toda fibrose periglandular com mais de 3 camadas de fibroblastos associada a uma dilatação glandular onde o lúmen apresentava um diâmetro de, pelo menos, 30% maior que os das demais glândulas (Tabela 1).

Conforme os exames histopatológicos realizados neste experimento, as éguas foram classificadas de acordo com o grau de comprometimento endometrial, em grau 1 (n=32) e grau 2 (n=3).

Após o exame ginecológico e a primeira biópsia, as 36 éguas foram divididas em três grupos de doze (12).

O grupo 1 recebeu infusão intra-uterina de 50 ml de querosene comercial puro; o grupo 2, 50 ml de PVPI a 10% (polivinil pirrolidona - iodo) e o grupo 3 (considerado testemunho), 50 ml de solução glicosada a 5%.

Tabela 1 - Características histológicas pré-tratamento dos endométrios das éguas utilizadas no experimento.

Grupo	Animais (idade/anos)	NEC	NEE	LEC	LEE	FIB	INF	GD	LD	GRAU
Querosene	5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Querosene	5	1	0	0	0	10	0	2	0	1
Querosene	13	1	0	2	0	0	2	0	1	2
Querosene	4	1	0	1	1	3	1	0	1	1
Querosene	12	0	0	0	0	5	0	0	0	1
Querosene	4	0	0	0	0	15	0	1	1	1
Querosene	12	1	1	2	1	30	2	4	0	2
Querosene	11	0	0	2	0	3	1	0	1	1
Querosene	5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Querosene	6	0	0	0	0	20	0	3	0	1
Querosene	4	2	1	0	0	0	1	0	0	1
PVPI	5	0	0	0	0	25	0	2	0	1
PVPI	4	0	0	0	1	10	1	1	1	1
PVPI	10	0	0	0	2	5	1	1	0	1
PVPI	6	0	0	1	0	0	1	0	0	1
PVPI	5	0	0	1	1	0	1	0	0	1
PVPI	4	0	0	0	0	5	0	1	0	1
PVPI	6	0	0	0	0	0	0	0	0	1
PVPI	6	0	0	0	0	0	0	0	2	1
PVPI	5	0	0	1	1	0	0	0	0	1
PVPI	8	0	0	2	0	3	1	1	1	1
PVPI	11	0	0	0	0	5	0	1	3	1
PVPI	20	0	0	1	1	0	1	0	1	1
GLICOSE	12	0	0	0	1	10	0	3	0	1
GLICOSE	6	0	0	0	0	20	0	3	1	1
GLICOSE	12	0	0	0	0	0	0	0	1	1
GLICOSE	4	0	0	0	0	0	0	0	0	1
GLICOSE	4	1	1	1	0	0	1	0	0	1
GLICOSE	6	1	0	1	0	0	1	0	2	1
GLICOSE	4	0	0	0	0	3	0	0	1	1
GLICOSE	13	1	0	1	1	0	1	0	1	1
GLICOSE	4	1	1	2	2	20	2	4	1	2
GLICOSE	10	0	0	1	0	5	1	3	1	1
GLICOSE	16	3	2	0	0	0	2	0	1	1
GLICOSE	9	1	0	2	0	2	1	0	0	1

Do grupo de éguas que recebeu querosene, 7 delas encontravam-se em anestro, 2 ciclando e 3 no período transicional. Já as que receberam PVPI, 7 estavam em anestro e 5 ciclando. Fizeram parte do grupo controle (Glicose a 5%) 5 éguas em anestro, 5 ciclando e 2 no período transicional.

Para fins de análise estatística, os graus de inflamação, dilatação glandular, linfáticos dilatados, neutrófilos no estrato compacto, neutrófilos no estrato esponjoso, linfócitos no estrato compacto e linfócitos no estrato esponjoso, foram transformados para porcentagem, sendo zero quando não havia inflamação; 25% quando o grau era um; 50% quando o grau era dois; 75% quando o grau era três; 100% quando o grau era quatro. Esse último grau (ou 100%) foi atribuído às lâminas que apresentavam a intensidade máxima de resposta inflamatória ou de dilatação glandular e linfática.

A análise de variância foi realizada com base nessas porcentagens sem necessidade de transformação, já que, pelos testes de Martinez-Iglewicz e D'Agostino Skewness (HINTZE, 1995), verificou-se homogeneidade das variâncias e normalidades das distribuições.

PESQUISA MICROBIOLÓGICA

Tabela 2 - Caracterização bioquímica da cepa de *Streptococcus* β -hemolítico utilizada para testar o efeito anti-séptico dos produtos utilizados nas infusões intra-uterinas.

Açúcares	Reação
Arabinose	-
Lactose	+
Maltose	+
Manitol	-
Inulina	-
Salicina	-
Trealose	-
Sorbitol	+
Rafinose	-
Meio 6,5% NaCl	-
Edward's esculina	-

No Laboratório de Bacteriologia (Faculdade de Veterinária - UFPEL, 1997), foi realizado um ensaio para se verificar o efeito anti-séptico dessas substâncias utilizadas no experimento sobre o cultivo de bactérias isoladas do

endométrio de éguas com endometrite.

Para a realização do experimento, utilizou-se uma cepa de *Streptococcus equi* subespécie *zooepidemicus*. A caracterização da cepa (QUINN et al., 1983) foi feita pelas suas características tintoriais, utilização de carboidratos e outras provas bioquímicas (Tabela 1).

A avaliação da atividade anti-séptica foi realizada utilizando-se discos impregnados com querosene, PVPI e glicose. A utilização de discos impregnados com as substâncias em teste foi realizada segundo Bier (1975), para a determinação de sensibilidade a antibióticos. Discos de papel filtro com 6 mm foram impregnados com 20µl de cada uma das substâncias (PVPI diluído a 10%, 2%, 0,4%, 0,08% e 0,016% em salina e querosene puro). Como testemunha, utilizaram-se discos embebidos em soro glicosado 5% e 20% e ainda discos com penicilina cristalina a 500UI/ml, no mesmo volume.

RESULTADOS

Foram perdidas informações de uma das 12 éguas destinadas ao tratamento com querosene.

Todos os tratamentos provocaram uma resposta inflamatória aguda. A intensidade da inflamação foi diferente ($p < 0,05$) entre eles, vinte e quatro horas após infusão no endométrio.

Intensidade de inflamação - Antes das infusões

já havia uma discreta inflamação no endométrio de 51,4% das éguas. Com a infusão dos produtos na cavidade uterina 24 horas mais tarde, houve uma resposta inflamatória no grupo do querosene que foi superior 23,9 pontos percentuais ao PVPI e 31,8 pontos percentuais à glicose ($p < 0,05$). A seguir, houve uma queda progressiva da percentagem de inflamação (aos 7 e 30 dias após a infusão) até o final do experimento não havendo diferença significativa entre os tratamentos, entretanto, mostrando tendência a uma mais rápida recuperação no grupo 1 (Tabela 3).

Presenças de células inflamatórias nas camadas: superficial (estrato compacto) e profunda (estrato esponjoso) do endométrio - Na Tabela 4 observa-se que vinte e quatro horas após a infusão dos produtos na cavidade uterina ocorreu um incremento no número de neutrófilos no estrato compacto sendo a resposta do grupo 1 27,1 pontos percentuais superior ao grupo 2 e 32,5 pontos percentuais ao grupo 3 ($p < 0,05$). A partir daí, houve uma regressão progressiva da presença dessas células inflamatórias nos tecidos, considerando que os três tratamentos foram semelhantes (22,7 para o querosene, 18,7 para PVPI e 22,9 para glicose) uma semana e trinta dias mais tarde (6,8% para o querosene, 10,4 para PVPI e 16,6 para glicose).

A variação da percentagem de neutrófilos no estrato esponjoso não foi diferente entre os tratamentos durante o período experimental. Entretanto, nos três tratamentos

Tabela 3 - Variação da intensidade de inflamação durante o período experimental nos três tratamentos.

Tratamentos	n	Tempo (Dias)			
		0	1	7	30
		(INF) %	(INF) %	(INF) %	(INF) %
Querosene	11	15,90 ^A	71,87 ^A	20,45 ^A	6,81 ^A
Pvpi	12	12,50 ^A	47,91 ^B	20,83 ^A	10,41 ^A
Glicose	12	18,75 ^A	40,00 ^B	33,33 ^A	18,75 ^A
Total	35				

Letras diferentes correspondem à diferença significativa ($p < 0,05$)

Tabela 4 - Variação da presença de neutrófilos no estrato compacto (NEC) durante o período experimental nos três tratamentos.

Tratamentos	n	Tempo (Dias)			
		0	1	7	30
		(NEC) %	(NEC) %	(NEC) %	(NEC) %
Querosene	11	13,63 ^A	75,00 ^A	22,72 ^A	6,81 ^A
Pvpi	12	-2,30 ^A	47,91 ^B	8,75 ^A	10,41 ^A
Glicose	12	6,66 ^A	42,50 ^B	22,91 ^A	16,66 ^A
Total	35				

Letras diferentes correspondem à diferença significativa ($p < 0,05$)

Tabela 5 - Efeito do tratamento e tempo sobre o percentual de neutrófilos no estrato esponjoso (NEE).

	Tempo (Dias)			
	0	1	7	30
(NEE) %	4,29 (35)	13,33* (30)	4,98 (35)	1,38 (35)

* Diferem significativamente ($p < 0,05$).

Tabela 6 - Efeito do tratamento e tempo sobre o percentual de linfócitos no estrato compacto (LEC).

	Tempo (Dias)			
	0	1	7	30
(LEC) %	15,02 ^A (35)	15,90 ^A (30)	24,93* (35)	17,61 ^A (35)

* Diferem significativamente ($p < 0,05$).

verificou-se um aumento de 4,2% antes da aplicação para 13,3% vinte e quatro horas após ($p < 0,05$) e, a partir daí, houve uma queda progressiva (4,9% aos sete dias a 1,3% aos trinta dias), como ilustrado na Tabela 5.

Não houve (Tabela 6) efeito dos tratamentos sobre a percentagem de linfócitos no estrato compacto, entretanto, houve variação em função do tempo ($p < 0,05$). Nos três tratamentos constatou-se presença de linfócitos antes da primeira coleta (15%), ocorrendo um incremento de 0,9 pontos percentuais vinte e quatro horas após a infusão, atingindo 24,9% uma semana mais tarde, havendo queda progressiva de linfócitos no estrato compacto para 17,6% trinta dias após.

As infiltrações de linfócitos no estrato esponjoso, grau de linfáticos dilatados, grau de dilatação glandular e grau de fibrose não foram afetados pelos tratamentos e não sofreram modificações durante o período experimental ($p < 0,05$).

Atividade anti-séptica - O querosene apresentou halo de inibição de 8 mm no primeiro disco e 11 mm no segundo disco. Já o PVPI, em concentrações de 10% e inferiores não apresentaram halo. Somente quando foi utilizado puro, o PVPI formou halos de 11 mm no primeiro disco e 10 mm no segundo disco. Não houve formação de halo nos discos impregnados com glicose tanto a 10% como a 20%. Foram também utilizados 2 discos com penicilina cristalina de 10UI apresentando halo de 39 mm no primeiro disco e 33 mm no segundo disco.

DISCUSSÃO

O critério utilizado neste experimento de se estimar as modificações histopatológicas ocorridas, embora subjetivo, oferece uma maneira quantitativa de se avaliar a resposta endometrial à infusão intra-uterina de substâncias irritantes, com objetivos anti-sépticos e estimulantes de células inflamatórias (curetagem segundo BRACHER e ALLEN, 1991) no útero de éguas.

A diferença entre as éguas se procurou diminuir com as repetições dos tratamentos.

Os resultados deste trabalho demonstraram uma reação inflamatória mais intensa e rápida dos endométrios das éguas tratadas com querosene do que os endométrios das éguas tratadas com PVPI e Glicose (Tabela 3; $p < 0,05$). Também, no grupo do querosene, houve uma mais rápida recuperação dessa resposta inflamatória uma semana após o tratamento (Tabela 3). Já aos 30 dias, endométrio das éguas tratadas com querosene apresentavam-se com grau de inflamação significativamente inferior ao grau encontrado antes da aplicação dos tratamentos. No grupo do querosene, a percentagem média de inflamação endometrial foi de 15,9% antes do tratamento e 6,8% aos 30 dias, ocorrendo uma redução de 9,1 pontos percentuais. Essa diferença foi de 12,5% para 10,4% (2,1 pontos percentuais) no grupo do PVPI e no grupo da glicose não houve diferença (18,75%) antes e após 30 dias. Pode-se atribuir ao querosene um efeito benéfico na redução do grau de inflamação com relação ao PVPI.

Estes achados podem colaborar com a explicação do sucesso terapêutico das endometrites atribuído pelos clínicos (BRACHER et al., 1991), bem como pelos trabalhos experimentais (RANGEL et al., 1993).

Contrariamente à observação de Henry et al. (1996), que trabalharam com infusão de confrei e querosene, não encontrando diferença na resposta inflamatória, o tratamento intra-uterino com querosene causou uma reação distinta dos demais tratamentos vinte e quatro horas após a infusão dos produtos no útero ($p < 0,05$).

A análise da infiltração linfocitária no estrato compacto, que indica um efeito crônico da resposta inflamatória, mostrou um aumento significativo na primeira semana que, no entanto, não foi diferente entre os 3 tratamentos. Isso significa que a resposta mononuclear não é específica de qualquer dos tratamentos, enquanto HENRY et al. (1996) não detectaram infiltração linfocitária durante o período experimental. Essa resposta mononuclear caracteriza uma etapa da reação inflamatória que

normalmente segue ao processo agudo, indicando recuperação endometrial (Tabela 6). No estrato esponjoso, a infiltração mononuclear não revelou resposta aos tratamentos nem mostrou variação durante o período experimental, indicando que esses produtos pouco afetam as camadas mais profundas do endométrio. Pode-se especular que toda vez que se fizer necessário um tratamento de endometrite com predominância de células inflamatórias no estrato esponjoso (camada mais profunda do endométrio), esse tratamento deve ser sistêmico, já que os agentes causadores dessa inflamação (se bactérias) não estariam sendo afetados por esse tipo de tratamento tópico, conforme Bennett (1987).

Bracher & Allen (1991) também encontraram, através de videoendoscopia, ausência de alterações inflamatórias aos 7 dias pós-infusão de querosene. Esses autores também não encontraram neutrófilos, ou muito poucos, entre 14 e 21 dias pós-tratamento. Citaram como resposta característica à infusão com querosene, a infiltração linfocitária, que ocorreu entre 4 e 7 dias pós-tratamento, porém, neste trabalho, tanto a infusão com PVPI como com glicose, também determinou reações semelhantes, o que permite inferir que se trata de uma resposta inespecífica do endométrio a substâncias irritantes e não típica do querosene.

O uso da glicose a 5% foi delineado para se obter um grupo testemunha recebendo uma solução hipotônica e sem propriedades irritantes. A reação inflamatória observada nesse grupo pode ser atribuída à intervenção ginecológica que, embora realizada com máxima assepsia, não deixa de ser uma técnica invasiva que determina uma reação tecidual e certo grau de contaminação não pode ser descartado. Também foram observadas reações inflamatórias no endométrio de éguas que receberam solução fisiológica, com alterações significativas de duração do ciclo estral (ARTHUR, 1970, ARTHUR, 1975), atribuídas à irritação causada pela solução salina e subsequente liberação de PGF_{2a} (NEELY, 1983).

Além da capacidade irritante do querosene (curetagem química, segundo BRACHER e ALLEN, 1991), esse produto revelou uma capacidade de inibir o crescimento de *Streptococcus* b-hemolítico em placas de ágar-sangue (halo de inibição de 11 e 8 mm), enquanto o PVPI a 10% não foi capaz de inibir o crescimento dessas colônias. Somente na sua formulação pura o PVPI formou um halo de inibição de 10 e 11 mm. As soluções de glicose 5 a 20% mostraram-se sem capacidade anti-séptica, o que era esperado. Possivelmente o sucesso terapêutico atribuído ao querosene em éguas portadoras de endometrite, no que se refere a taxas de prenhez (BRACHER e ALLEN, 1991, RANGEL et al., 1993) deva-se, em parte, à reação inflamatória aguda e de curta duração causada ao endométrio (BRACHER e ALLEN, 1991, HENRY et al., 1996), bem como a sua capacidade anti-séptica perante os agentes infecciosos, verificada neste trabalho.

No presente estudo, verificou-se um afluxo de neutrófilos no estrato compacto das éguas tratadas às 24 h pós-infusão para os 3 tratamentos, sendo significativamente superior ($p < 0,05$) no grupo que recebeu querosene (Tabela 4). Esse resultado caracteriza uma resposta neutrofílica diferenciada para o grupo do querosene, sugerindo que toda vez que se deseja um estímulo leucocitário do endométrio, o querosene deve proporcionar um efeito superior. Ainda observando-se a Tabela 4, verifica-se que aos 30 dias pós-tratamento o grau de infiltração de neutrófilos no grupo que recebeu querosene foi mais reduzido que nos outros dois tratamentos, mostrando uma recuperação mais rápida do endométrio ao estímulo inflamatório.

Quando se analisou a infiltração de neutrófilos no estrato esponjoso, verificou-se um incremento significativo (Tabela 5) nas 24 h após a infusão, que não foi diferente nos 3 tratamentos, caracterizando uma resposta inespecífica e de menor intensidade desses estímulos inflamatórios nas camadas mais profundas do endométrio.

O receio de que a infusão intra-uterina de substâncias irritantes como o querosene (BRACHER e ALLEN, 1991) e soluções à base de iodo (MATHER et al., 1976, MATHER et al., 1979) pudessem causar alterações graves (aderências e fibrose) e irreversíveis no endométrio (MATHER et al., 1979) puderam ser descartadas com base nos resultados deste trabalho. Não se verificou incremento no grau de fibrose endometrial em nenhum dos tratamentos. Vários intentos têm sido levados a efeito visando reduzir o grau de fibrose endometrial, principalmente à base de DMSO (LEY e SPONENBERG, 1985, FRAZER et al., 1988, LEY et al., 1989, LEY et al., 1990). Como seria de esperar, os resultados desses trabalhos não apresentam evidências científicas que justifiquem o seu uso para esse fim, já que a substituição de tecido cicatricial por parênquima funcional, especialmente no tecido endometrial, ainda não tem sido demonstrada. Estudos complementares são necessários para determinar o efeito do tratamento com querosene nas endometrites crônicas, tendo em vista que este experimento constou apenas de animais com baixo grau de comprometimento endometrial. No entanto, uma importante constatação deste trabalho consiste na não formação de tecido fibroso em resposta aos tratamentos. Também existe a preocupação da toxicidade do querosene em animais. Esses efeitos foram testados em ratos, cães e humanos, não sendo encontrados quaisquer sinais clínico-patológicos de toxicidade do querosene inalado por esses animais na concentração de 0,1 mg/l (14 ppm) durante vários períodos de até 8 h durante 6 dias consecutivos (CARPENTER et al., 1976).

Seria esperado que os mecanismos de drenagem linfática do conteúdo anormal do útero (fluidos inflamatórios) pudessem causar uma dilatação dos vasos linfáticos em decorrência desses tratamentos (LeBLANC et al., 1995). A análise de variância não revelou nenhum

efeito significativo no grau de linfáticos dilatados, sugerindo-se o pequeno volume infundido e ainda a contratilidade miometrial responsáveis por este acontecimento apesar de as éguas estarem em bom número em anestro.

Em certos casos individuais, observou-se um maior número de glândulas dilatadas após infusões uterinas com querosene. Acreditando-se na possibilidade de que a dilatação glandular pudesse ser uma consequência do tratamento com querosene e de se tratar de um dos prováveis mecanismos de defesa local uterina, decidiu-se avaliar quantitativamente o grau dessa dilatação glandular. A ausência de diferenças entre os tratamentos e mesmo entre as observações não permitiu que se detectasse esse tipo de efeito.

CONCLUSÕES

O querosene estimula uma resposta inflamatória aguda de curta duração, além de possuir capacidade anti-séptica. Os efeitos causados por esta curetagem química não induziram à fibrose endometrial sendo indicado como uma forma terapêutica alternativa para éguas com endometrites superficiais.

ARTIGO RECEBIDO: Março / 2005
APROVADO: Agosto / 2005

REFERÊNCIAS

- ARTHUR, G. H. Influence of intrauterine saline infusion upon the oestrus cycle of the mare. **Journal Reproduction Fertility**, v.23, p.231-234, 1975. Suppl.
- ARTHUR, G. H. The induction of oestrus in mares by uterine infusion of saline. **Veterinary Record**, v.86, p.584-586, 1970.
- ASBURY, A. C., HALLIWELL, R. E. W., FOSTER, G. W., LONGINO, S. J. Immunoglobulins in uterine secretions of mares with differing resistance to endometritis. **Theriogenology**, v.4, p.299-308, 1980.
- ASBURY, A. C. Uterine defense mechanisms in the mare: The use of intrauterine plasma in the management of endometritis. **Theriogenology**, v.21, p.387-393, 1984.
- BAKER, C. B., KENNEY, R. M. Systematic approach to the diagnosis of the infertile or subfertile mare, In: Morrow, D. A. **Current Therapy in Theriogenology**. ed. N. Edvard Robinson W. B. Saunders Company. Philadelphia, 1980, p.721-736.
- BENESCH, F. **Tratado de obstetricia y ginecologia veterinarias**. 2nded. Barcelona: labor, 1965. 853 p.
- BENNETT, D. G. Diagnosis and treatment of equine bacterial endometritis. **Journal Equine Veterinary Science**, v.7, p.345-352, 1987.
- BIER, O. **Bacteriologia e imunologia**. 16thed. São Paulo: Universidade de São Paulo, 1975. cap.49, p. 853-869.
- BRACHER, A. N., ALLEN, W. R. The effect of intra-uterine infusion of kerosene on the endometrium of mares. **Journal Reproduction Fertility**, v.44, p.706-707, 1991. Suppl.
- BRISTOL, F. Fertility of pasture bred mares in synchronized oestrus. **Journal Reproduction Fertility**, v.35, p.39-43, 1987. Suppl.
- CARPENTER, C.P., GEARY Jr., D.L., MYERS, R.C., NACHREINER, D.J., SULLIVAN, L.J., KING, J.M. Petroleum hydrocarbon toxicity studies. XI. Animal and human response to vapor of deodorized kerosene. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 36, p. 443-456, 1976.
- CASLICK, E. A. The vulva and the vulvo-vagina orifice and its relation to genital health of the thoroughbred mare. **Cornell Veterinarian**, v. 27, p. 178-187, 1937.
- COUTO, M.A., HUGHES, J.P. Intrauterine inoculation of a bacteria-free filtrate of *Streptococcus zooepidemicus* in clinically normal and infected mares. **Journal Equine Veterinary Science**, v.5, p.81-86, 1985.
- DEWES, H.F. Preliminary observations on the use of colostrum as an uterine infusion in thoughtbred mares. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 28, p. 7-8, 1980.
- FRAZER, G.S., ROSOL, T.J., THRELFALL, W.R. Effect of serial intrauterine dimethyl sulfoxide infusions on the incidence of periglandular fibrosis in category II horse endometria. **Theriogenology**, v. 29, p. 1091-1098, 1988.
- GÖTZE, R. 1949. Esterilidad en la yegua. In: BENESCH, F. **Tratado de obstetricia y ginecologia veterinaria**. Labor, 1965. Cap 5. p.721.
- GUSTAFSSON, B. K., OTT, R. S. Current trends in the treatment of genital infections in large animals. **The Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian** v. 3, p. 147-152, 1981.
- HAROLD, W. T., GERT, O. T. Effect of povidone, povidone-iodine, and iodine on locomotion (in vitro) of neutrophils from people, rats, dogs, and rabbits. **American Journal Veterinary Research**, v.46, p.1797-1800, 1985.

HENRY, M.C.C., BARTOLOMEU, MELLO, S.V. The effect of intrauterine infusion of kerosene and/or confrey extract (*Symphytum* sp) on degenerative changes of the endometrium of donkeys. Equid Research Unit - School - U.F.M.G. **International Congress of the Animal Reproduction**, p.17-18, 1996.

HINTZE, J. **NCSS 6.0.2. Statistical System for Windows**, Number Cruncher Statistical Systems, 1995.

LeBLANC M.M., ASBURY, A. C., LYLE S. K. Uterine clearance mechanisms during the early postovulatory period in the mare. **American Journal Veterinary Research**, v.50, p.864-867, 1989.

LeBLANC, M.M., JOHNSON, R. D., CALDERWOOD MAYS, M. B., VALDERRAMA, C. Lymphatic clearance of India ink in reproductively normal mares and mares susceptible to endometritis. **Biology Reproduction**, v.1, p.501-506, 1995.

LEY, W. B., BOWEN, J. M., SPONENBERG, D. P., LESSARD, P. N. Dimethyl sulfoxide intrauterine therapy in the mare: Effects upon endometrial histological features and biopsy classifications. **Theriogenology**, v.32, p.263-276, 1989.

LEY, W. B., OCHS, D. L., METCALF, E. S., PYLE, H., PURSWELL, B. J., BOWEN, J. M. Dimethyl sulfoxide intrauterine therapy in the mare: Effects upon uterine-derived neutrophil function. **Theriogenology**, v.33, p.1177-1189, 1990.

LEY, W. B., SPONENBERG, D. P. Dimethyl sulfoxide (DMSO) intrauterine therapy in the mare. **Proceedings Society For Theriogenology**, p.186-198, 1985.

MATHER, E. C., HURTGEM, J. P., VANLEEUEWEN, W. The effect of intrauterine manipulation and treatment on the equine oestrous cycle. **Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination**, , 8, 1976, Krakow. **Proceeding...** p.601-60, 1976.

MATHER, E. C., REFSAL, K. R., GUSTAFSSON, B. K., SEGUIN, B. E., WHITMORE, H. L. The use of fibre-optic techniques in clinical diagnosis and visual assessment of experimental intrauterine therapy in mares. **Journal Reproduction Fertility**, v.25, p.293-297, 1979. Suppl.

MATTOS R.C., CASTILHO L.F.F., MALSCHITZKY E., MATTOS R., GREGORY R.M. Treatment of endometritis of experimentally infected mares: I – effect of lavage, plasma and leucocytes on uterine bacterial clearance. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**. v.27, p.49-60, 1999.

MATTOS, R.C., ROCHA, A. L. A., ZIMMER JR., O., MATTOS, R.C., WALD, V. B., GREGORY, R. M. Use of methylergorovine maleate and cloprostenol during uterine involution to improve conception rates of foal heat. **Biology of Reproduction**, n.1, p.533-537, 1995.

MERKT, H., JACOBS, K. O., KLUG, E., AUKES, E. An analysis of stallion fertility rates (foals born alive) from the breeding documents of the landgestüt celle over. 158-year period. **Journal Reproduction Fertility**, v.27, p.73-77, 1979. Suppl.

NEELY, D. P. Evaluation and therapy of genital disease in the mare. In: NEELY, D. P., LIU, I.K.M., ILLMAN, R.B. **Equine Reproduction**, Hoffman LaRoche, Inc., Nutley, NJ, 1983. Cap. III. p. 39-56.

OSBORNE, V.E. Factors influencing foaling percentages in Australian mares. **Journal Reproduction Fertility**. v. 23, p. 477-483, 1975. Suppl.

PASCOE, R.R. Observations on the length and angle of declination of the vulva and its relation to fertility in the mare. **Journal Reproduction Fertility**, v.27. p.299-305, 1979. Suppl.

PIMENTEL, C. A., SANTOS, P. F. M., ALVES, A. N., HAMMES, A. M. Biópsia endometrial em equinos. In: Laboratório Regional de Diagnósticos. **Doenças diagnosticadas no ano de 1989**. Pelotas: UFPEL. p. 47-49, 1989.

QUINN, P.S., CARTER, M.E., MARKEY, B., CARTER, G.R. **Clinical veterinary microbiology**. London: Wolpe , 1983. cap.9, p.127-136.

RANGEL, J. F., MATTOS, R.C., ZIMER Jr, O., GREGORY, R. M. Infusão intra-uterina de querosene em éguas com histórico de infertilidade. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 10, 1993, Belo Horizonte. **Anais...** v.2, p.303.

TROEDSSON, M. H. T., LIU, I. K. M., 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 Reproduction Fertility**, v.99, p.307-313, 1993.

VOSS, J. L. Breeding Efficiency. In: McKinnon, A. & Voss, J.L. **Equine Reproduction**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. p.1109-1111.

VOSS, J. L. Introduction: Intrauterine infection in mares. In: SYMPOSIUM ON MARE INFERTILITY, 1984, Las Vegas. **Proceedings ...** p.5-7.

WATSON, E. D. Opsonins in uterine washings influencing in vitro activity of equine neutrophils. **Equine Veterinary Journal**, v.20, p.435-437, 1988.

WINDHOLZ, M. **The Merk Index:** an encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals. 10thed. New Jersey: Merck & Co., 1983.

WINGFIELD-DIGBY, N.J., RICKETTS, S.W. Results of concurrent bacteriological and cytological examinations of the endometrium of mares in routine stud farm practice 1978-1981. **Journal Reproduction Fertility**, v.32, p.181-185, 1982. , Suppl.