

Distribuição de muco no endométrio de éguas em diferentes tempos após a IA

DUVAL, Luzia Hallal¹; SOUZA, João Ricardo¹ FIALA RECHSTEINER, S.M. ¹

¹ HISTOREP – Departamento de Morfologia – Instituto de Biologia – UFPel

E-mail: luzia_hallal_duval@hotmail.com.

1. INTRODUÇÃO

A reação inflamatória do endométrio é fisiológica após a deposição do sêmen, tanto em monta natural como em inseminação artificial, em resposta a introdução de células estranhas ao organismo, como o próprio espermatozoide, e também bactérias e contaminantes (Troedsson, 1995). Segundo Rozeboom et al., 1999, o plasma seminal, componente presente no ejaculado, exerce importante interação no útero, participando diretamente sobre a resposta imunológica, reduzindo essa inflamação, através da inibição da ativação do complemento suprimindo a quimiotaxia das células polimorfonucleares (Troedsson et al., 1999).

Com o objetivo de promover uma rápida eliminação dos agentes casuais da inflamação, (Hughes e Loy, 1969) o útero dispõe de mecanismos de defesa – físicos e celulares – como, por exemplo, o aumento de produção de muco pelas glândulas endometriais, uma resposta típica da mucosa uterina (Freeman, et al., 1990). Essa secreção é composta, além de um infiltrado de neutrófilos, de proteínas séricas e imunoglobulinas A e G, estas produzidas e secretadas pelo próprio endométrio (Widders et al., 1985).

De acordo com Katila (1995), o início dessa reação é muito rápido, sendo encontrados os primeiros neutrófilos em torno de 30 minutos após as IA, entretanto o pico dessa reação é atingido em torno de quatro a 24 horas após a cobertura. Devido ao fato de que algumas éguas conseguem eliminar os produtos da inflamação e outras não, as éguas são classificadas como susceptíveis ou resistentes, considerando fatores predisponentes como a má conformação perineal, a localização do útero e a contratilidade do miométrio abaixo do ideal (LeBlanc M.M., 1999).

Induzida pela cobertura, a inflamação persistente do endométrio tem sido sugerida como responsável pela diminuição da fertilidade em éguas, alterando o microambiente uterino e impedindo a sobrevivência embrionária. Devido a isso, com esse experimento objetivou-se comparar o tamanho das glândulas endometriais com e sem secreção e a quantidade de muco produzido pelas mesmas, relacionando com reação inflamatória presente nos diferentes momentos pós IA.

2. METODOLOGIA

Para a realização deste experimento foram utilizadas 14 éguas, com condição corporal mínima 2 (Hennecke et al., 1983, modificada por Malschitzky,

1998), destinadas ao abate. Para isto, todas as éguas do experimento foram submetidas a exame ginecológico, constituído por exames ultrassonográficos, bacteriológicos e citológicos. Assim, somente éguas clinicamente saudáveis foram incorporadas ao experimento. As éguas foram inseminadas com 500×10^6 espermatozóides resfriados em Equitainer por 18 a 22 horas e abatidas 0,5 horas, 1 hora, ou 2 horas após a inseminação artificial. Foram coletados três fragmentos endometriais, representativos do corpo e de cada corno uterino, com auxílio de uma tesoura, para posterior análise histológica (KENNEY, 1978). Os fragmentos endometriais foram fixados em solução de formol, lavados em água, processados e corados pela técnica do Ácido Periódico de Schiff, técnica esta que consiste em desparafinizar e hidratar a amostra através dos xilóis e álcoois. Posteriormente foi feita a imersão em H₂O destilada, oxidação em solução de KIO₄ (ácido periódico) e H₂O+HNO₃, lavagem em H₂O corrente, aplicação do reativo de SCHIFF, imersão das peças em 3 banhos rápidos de metabissulfito de sódio à 0,5%, nova lavagem com água destilada corrente, aplicação de solução de hematoxilina com a finalidade de corar os núcleos, desidratação e montagem da lâmina.

Após a preparação e coloração das lâminas, as mesmas foram submetidas à leitura através de microscopia óptica. As mesmas foram analisadas quanto a presença de glândulas endometriais com e sem secreção. Posteriormente foi realizada análise morfométrica, medindo a altura (M1) e a largura (M2) das glândulas, assim como das secreções utilizando o Software Motic Images plus 2.0. Os resultados foram submetidos à análise de variância pelo software Statistix 59 9.0® (2008) e a comparação de médias foi realizada utilizando Diferença mínima significativa.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A quantidade excessiva de muco pode interferir com a penetração de antibióticos intra-uterinos, motilidade espermática e migração do embrião, resultando em subfertilidade (Causey et al., 2008). Na Tabela 1 podem ser observados os valores de altura (M1) e largura (M2) das glândulas com presença ou ausência de secreção, assim como a quantidade de secreção observada. As glândulas que apresentavam secreção estavam mais dilatadas, provavelmente devido a secreção. Estas glicoproteínas serviriam de veículo de locomoção para os espermatozóides e também de local de adesão para os mesmos. A variação na distribuição destas glicoproteínas pode ser devida a fatores tais como: variabilidade individual, tempo de permanência do sêmen no útero, entre outros (Neves et al., 2010). Neste estudo não foi verificada diferença ($P > 0,05$) no tamanho das glândulas com e sem secreção comparada ao local em que foi coletada a amostra. Quando se analisou a quantidade de secreção verificou-se uma maior altura de secreção nas glândulas localizadas no corno esquerdo ($P < 0,05$), o que pode ser devido ao fato de que neste estudo foram utilizadas éguas clinicamente normais, classificadas como resistentes a endometrite pós-cobertura, com os seus mecanismos de defesa aptos.

Tabela 1: Tamanho das glândulas endometriais com e sem secreção e da secreção

Variável		Tamanho (µm)
Gl. sem secreção	M1	4,07
	M2	2,48
Gl. com secreção	M1	1,99
	M2	1,24
Secreção	M1	2,82
	M2	1,68

Na tabela 2 podem ser observadas as médias de tamanho das glândulas e a quantidade de secreção, de acordo com o tempo decorrido após a IA. Espermatozoides podem ser observados no interior das glândulas endometriais em mais de 84% das éguas entre 1 e 4 horas após a IA (Fiala et al., 2008). Um excesso de muco pode interferir na motilidade espermática e se aderir aos mesmos, provocando diminuição da fertilidade. A altura (M1) das glândulas sem secreção não variou em função do tempo ($P=0,2778$), porém a largura foi maior a partir de 60 minutos após a IA, demonstrando que estas glândulas se dilatam com aporte da reação inflamatória pós- cobertura. Nas glândulas com secreção houve uma diminuição das medidas com o passar do tempo ($P<0,05$), o mesmo ocorrendo com a quantidade de secreção.

Tabela 2: Tamanho das glândulas e quantidade de secreção média e valores de P de acordo com o tempo após IA

Variável		Tamanho (µm)			
		0,5	1	2	p
Gl. sem secreção	M1	4,15 ^A	3,47 ^A	4,15 ^A	0,2778
	M2	2,72 ^A	2,12 ^B	2,05 ^B	0,0001*
Gl. com secreção	M1	2,95 ^{AB}	3,54 ^A	2,71 ^B	0,0955*
	M2	1,93 ^A	1,85 ^{AB}	1,39 ^B	0,0002*
Secreção	M1	2,06 ^A	1,66 ^A	1,67 ^A	0,0233*
	M2	1,31 ^A	1,06 ^{AB}	0,98 ^B	0,0002*

^{A,B e AB} Expoentes distintos indicam significância estatística na linha ($P < 0,05$).

4. CONCLUSÕES

Não há diferença no tamanho das glândulas com e sem secreção em relação a porção do útero. O tamanho das glândulas e a quantidade da secreção tendem a diminuir com o passar do tempo após a IA.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Freeman K.P., Roszel J.F., Slusher S.H., Castro M. Variation in glycogen and mucins in the equine uterus related to physiologic and pathologic conditions. **Theriogenology**; v. 33, p.799-808, 1990.

Fiala S.M., Jobim M.I.M., Gregory R.M., Mattos R.C. Sperm distribution in the oviduct and uterus of mares within two hours after artificial insemination. **Pferdeheilkunde**, v. 24, p. 96-98, 2008

Hennecke, D.R., Potter, G.D., Kreider, J.L., Yeates, B.F..Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. **Eq. Vet. J.** v.15, p.371-372, 1983.

Hughes J.P. & Loy R.G. Investigations on the effect of intrauterine inoculations of *Streptococcus zooepidemicus* in the mare. **American Association of Equine Practitioners** p.289-292, 1969.

Katila, T. Onset and durations of uterine inflammation response of mares with fresh semen. **Biol. Reprod. Mono** v. 1, p.515-517,1995.

LeBlanc M.M. The equine endometrium and the pathophysiology of endometritis. **Proc Soc Theriogenol** p.78–81, 1999.

Kenney RM. Cyclic and pathologic changes in the mare's endometrium as detected by biopsy, with a note on early embryonic death. **J Am Vet Med Assoc.**, v.62, p.172-241, 1978.

Malschitzky, E. 1998. **Efeito de diferentes tratamentos pós-cobertura na fertilidade de éguas Puro Sangue de Corrida**. Tese (Mestrado em Ciências Veterinárias) Faculdade de Veterinária da UFRGS, Porto Alegre.

Neves, A. P; Cruz, L., Rodrigues, R, Fiala, **S PRESENÇA DE GLICOPROTEÍNAS NO ENDOMÉTRIO DE ÉGUAS EM DIFERENTES MOMENTOS APÓS IA** Em: Acessado em 31 julho 2014
http://www2.ufpel.edu.br/cic/2010/cd/pdf/CA/CA_01350.pdf

Rozeboom K.J., Troedsson M.H.T., Crabo R.G. Characterization of uterine leukocyte infiltration in gilts after artificial insemination. **J.An. Sci** v.77, n.8, p.2001-2206, 1999.

Troedsson M.H.T. Uterine response to semen deposition in the mare. **Proc Soc Theriogenol**, v. 5, p.130, 1995.

Troedsson M.H.T., Franklin R.K., Crabo, B.G. Suppression of PMN-chemotaxis by different molecular weight fractions of equine seminal plasma. **Pferdeheilkunde**, v. 15, p.568-573, 1999

Widders, P.R., Stokes, C.R., David, J.S.E., Boume, F.J.. Immunohistological studies of the local immune system in the reproductive tract of the mare. **Res. Vet. Sci.** V 38 p 88-95, 1995.