

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA**

**Reorganização estromal em lesões uterinas de cadelas: Evidências  
histoquímicas e implicações dos exossomos**

Ingrid Rhayane do Nascimento Martins  
*Magister Scientiae*

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2025**

**INGRID RHAYANE DO NASCIMENTO MARTINS**

**Reorganização estromal em lesões uterinas de cadelas: Evidências  
histoquímicas e implicações dos exossomos**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Fabricio Luciani Valente

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2025**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

M386r  
2025  
Martins, Ingrid Rhayane do Nascimento, 1996-  
Reorganização estromal em lesões uterinas de cadelas:  
evidências histoquímicas e implicações dos exossomos / Ingrid  
Rhayane do Nascimento Martins. – Viçosa, MG, 2025.  
1 dissertação eletrônica (48 f.): il. (algumas color.).

.  
Orientador: Fabrício Luciani Valente.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,  
Departamento de Veterinária, 2025.

Referências bibliográficas: f. 44-48.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2025.751>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Cães - Ferimentos e lesões. 2. Útero - Ferimentos e  
lesões. 3. Piometra. 4. Hiperplasia endometrial. 5. Colágeno.  
6. Exossomos. I. Valente, Fabrício Luciani, 1980-  
II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de  
Veterinária. Programa de Pós-Graduação em Medicina  
Veterinária. III. Título.

CDD 22. ed. 636.708971079

**INGRID RHAYANE DO NASCIMENTO MARTINS**

**Reorganização estromal em lesões uterinas de cadelas: Evidências  
histoquímicas e implicações dos exossomos**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 4 de agosto de 2025.

Assentimento:

---

Ingrid Rhayane do Nascimento Martins  
Autora

---

Fabricio Luciani Valente  
Orientador

Essa dissertação foi assinada digitalmente pela autora em 04/12/2025 às 21:31:53 e pelo orientador em 05/12/2025 às 15:01:57. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **GK7P.NSX9.MYPC** e clique no botão 'Validar documento'.

À minha mãe e à minha avó materna, por todo o amor, apoio incondicional e por serem fonte constante de inspiração e força ao longo da minha caminhada. Levo comigo o carinho de ambas em cada conquista.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por estar comigo em todos os momentos, guiando meus passos, fortalecendo minha fé e fazendo da minha jornada uma história de superação.

À minha mãe, Rosimeire, e à minha avó Josefa Pequena (Nininha), pelo amor, cuidado e por serem meu alicerce. Amo vocês profundamente.

À minha família materna, por todo apoio e carinho — em especial ao meu avô Rozendo (in memoriam); às minhas tias Rozalia, Josy e Josinete (in memoriam); e aos meus tios Alenilson, Agenilson, José, Carlos. Agradeço também aos primos e primas.

À minha família paterna, especialmente ao meu pai Aderruan; às minhas irmãs Any Laís, Any Larissa e Ângela Débora; ao meu avô Ailton (in memoriam); à minha avó Josefa; e a todos os demais familiares.

Aos amigos da UFS – Campus do Sertão, especialmente Neide, Alessia, Abraão, Aécio, Lucas, Eduardo e Greny, pela amizade e pelos momentos compartilhados.

Às amigadas que a vida me deu — Leonardo, Jaira, Tainara, Luana, Bruna, Daiane, Vanessa, Andressa, Jozinha, Josilene, Irazinha, Alana, Maria, Beatriz, Henrique, Hebert, Álvaro, Val, Madalena e Dona Lourdes. Aos meus padrinhos, pelo carinho e incentivo de sempre.

Aos professores que marcaram minha formação, com especial gratidão à Geyanna, minha orientadora de graduação, e também a Natália, Nailson, Marcos Eric, Arthur, Monalyza, Kalina, Patrícia Rosalba, Paula e Rita Selene, pela inspiração e ensinamentos.

Ao deputado estadual Chico do Correio, pela luta que possibilitou a instalação da Universidade Federal de Sergipe em Nossa Senhora da Glória/SE — onde tive o orgulho de me formar. Que seu exemplo siga inspirando a democratização do ensino superior no sertão.

Sou profundamente grata pelo acolhimento e carinho recebidos em Minas Gerais. À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade da pós-graduação.

Ao grupo de pesquisa HistoFisioVet, essencial para a realização deste trabalho, com especial agradecimento ao professor e orientador Fabricio Luciani Valente, por todo apoio, paciência e amizade ao longo deste percurso. À Elaine pela amizade e apoio, à Natalie pela amizade e parceria no mestrado, à Thays pela colaboração e materiais cedidos, e a Eugênio, Daniella e Mayara pela constante disponibilidade. Ao Hospital Veterinário e ao Departamento de Medicina Veterinária (DVT/UFV), minha sincera gratidão a todos — dos serviços básicos aos pesquisadores — que contribuíram de alguma forma para minha formação.

Ao Laboratório de Histopatologia do DVT/UFV, agradeço pela estrutura e suporte, especialmente aos professores Bartolomeu e Carlos Eduardo, e à equipe técnica, Seu Adão e Cláudio, pela colaboração e atenção.

Ao professor Miller, do Laboratório de Anatomia Vegetal da UFV, pela disponibilidade e por ceder o espaço e equipamentos essenciais à pesquisa. Sou grata também pelas amizades que o DVT/UFV me proporcionou — Betânia, Shara, Tayná, Noua, Júlia, Marcela e Wenderson — e deixo um carinho especial aos amigos Jackson e Vanderley, pela amizade sincera, pelo apoio e pela torcida de sempre.

E não poderia deixar de agradecer às minhas companheiras fiéis: minhas gatas Kira, Fiona e Abelhinha.

A todos os animais, fonte de inspiração e razão da minha escolha profissional, e a todos que, de alguma forma, contribuíram para esta conquista, deixo meu mais sincero e emocionado agradecimento.

Este trabalho foi realizado com o apoio das seguintes agências de pesquisa brasileiras: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

“Sabemos que todas as coisas cooperam para o bem daqueles que amam a Deus,  
daqueles que são chamados segundo o Seu propósito”.  
(Romanos 8:28)

## RESUMO

MARTINS, Ingrid Rhayane do Nascimento, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2025. **Reorganização estromal em lesões uterinas de cadelas: Evidências histoquímicas e implicações dos exossomos.** Orientador: Fabricio Luciani Valente.

As doenças uterinas inflamatórias, como a piometra, são comuns em cadelas e representam um importante desafio na medicina veterinária reprodutiva. Essas alterações envolvem processos complexos de inflamação, proliferação e remodelação tecidual, que ainda não são totalmente compreendidos. Dentre os mecanismos envolvidos, os exossomos têm se destacado por seu papel na comunicação intercelular, modulando a inflamação e contribuindo para a regeneração e remodelação da matriz extracelular. Seu conteúdo molecular diversificado os torna promissores para o diagnóstico precoce e o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas. Este trabalho teve como objetivo geral avaliar, por meio de revisão sistemática e análise histoquímica, o papel potencial dos exossomos e da remodelação do tecido conjuntivo em lesões uterinas inflamatórias em cadelas, com foco na organização das fibras colágenas. Esta dissertação foi dividida em dois capítulos, o primeiro capítulo consistiu em uma revisão sistemática sobre o papel dos exossomos em lesões uterinas inflamatórias e proliferativas em fêmeas mamíferas. No segundo capítulo, foi conduzido um estudo experimental com fragmentos de endométrio de cadelas diagnosticadas com hiperplasia endometrial cística e piometra. As amostras foram submetidas à coloração com Picrosirius red e analisadas em microscopia de luz polarizada para avaliar a distribuição e organização dos colágenos tipos I e III. Observou-se que o colágeno tipo III esteve mais associado à piometra, condição marcada por inflamação aguda e intensa presença de neutrófilos. Já o colágeno tipo I foi mais evidente em casos de hiperplasia endometrial cística, relacionados a um perfil inflamatório crônico com infiltrado linfoplasmocitário. Apesar de não haver diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, a análise morfológica revelou padrões distintos de remodelação da matriz extracelular, sugerindo uma resposta adaptativa e funcional do estroma mesmo diante de processos inflamatórios intensos. A correlação positiva entre densidade e alinhamento das fibras também indica a importância da organização do colágeno na manutenção da integridade endometrial. Os resultados obtidos reforçam o papel dos exossomos e da matriz extracelular na fisiopatologia uterina e abrem perspectivas para futuras abordagens diagnósticas e terapêuticas na medicina veterinária. O conjunto dos

achados amplia o entendimento da resposta estromal em afecções uterinas inflamatórias, contribuindo para a ciência reprodutiva comparada. No entanto, mais estudos são necessários para aprofundar os mecanismos moleculares envolvidos e validar o uso clínico desses marcadores em cadelas.

Palavras-chave: cadelas; colágeno; endométrio; exossomos; matriz extracelular

## ABSTRACT

MARTINS, Ingrid Rhayane do Nascimento, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August, 2025. **Stromal reorganization in uterine lesions of bitches: Histochemical evidence and implications of exosomes.** Adviser: Fabricio Luciani Valente.

Inflammatory uterine diseases, such as pyometra, are common in female dogs and represent a significant challenge in veterinary reproductive medicine. These conditions involve complex processes of inflammation, proliferation, and tissue remodeling that are not yet fully understood. Among the mechanisms involved, exosomes have emerged as key mediators of intercellular communication, modulating inflammation and contributing to extracellular matrix regeneration and remodeling. Their diverse molecular content makes them promising tools for early diagnosis and the development of novel therapeutic strategies.

The main objective of this study was to evaluate, through a systematic review and histochemical analysis, the potential role of exosomes and connective tissue remodeling in inflammatory uterine lesions in female dogs, with a focus on collagen fiber organization. This dissertation is divided into two chapters. The first chapter consists of a systematic review on the role of exosomes in inflammatory and proliferative uterine lesions in mammalian females. The second chapter presents an experimental study conducted with endometrial tissue samples from bitches diagnosed with cystic endometrial hyperplasia and pyometra. The samples were stained with Picrosirius red and analyzed under polarized light microscopy to assess the distribution and organization of type I and III collagens.

Type III collagen was more closely associated with pyometra, a condition characterized by acute inflammation and intense neutrophilic infiltration. In contrast, type I collagen was more prominent in cases of cystic endometrial hyperplasia, which showed a chronic inflammatory profile with lymphoplasmacytic infiltrates. Although no statistically significant differences were found between the groups, morphological analysis revealed distinct patterns of extracellular matrix remodeling, suggesting an adaptive and functional stromal response even under intense inflammatory conditions. The positive correlation between fiber density and alignment further highlights the importance of collagen organization in maintaining endometrial integrity.

The results obtained reinforce the relevance of exosomes and the extracellular matrix in uterine pathophysiology and open perspectives for future diagnostic and therapeutic approaches in veterinary medicine. Altogether, the findings contribute to a broader understanding of stromal

responses in inflammatory uterine disorders, supporting advancements in comparative reproductive science. However, further studies are needed to deepen the understanding of the molecular mechanisms involved and to validate the clinical application of these markers in bitches.

Keywords: bitches; collagen; endometrium; exosomes; extracellular matrix

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Fluxograma do processo de seleção dos artigos .....	26
Figura 2 – Fotomicrografia do endométrio de cadela corado por <i>Picrosirius Red</i> .....	37
Figura 3 – Corte histológico do endométrio de cadela com hemorragia .....	41
Figura 4 – Microscopia de endométrio hiperplásico de cadela .....	42
Quadro 1 – Estratégia PICOS utilizada para delineamento da revisão sistemática ..	18
Quadro 2 – Descritores utilizados na estratégia de busca (em inglês e português)..	20
Quadro 3 – Critérios de qualidade metodológica avaliados na revisão sistemática ..	22
Quadro 4 – Temas centrais identificados na revisão sistemática .....	25
Quadro 5 – Síntese metodológica dos artigos selecionados.....	27

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Colágeno tipo I e III em tecido uterino avaliado por *Picrosirius red* .....40

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO GERAL .....	15
CAPÍTULO 1: REVISÃO SISTEMÁTICA: O PAPEL DOS EXOSSOMOS EM LESÕES UTERINAS REPRODUTIVAS/INFLAMATÓRIAS EM FÊMEAS MAMÍFERAS .....		
1.	INTRODUÇÃO.....	17
2.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	18
2.1.	PICOS.....	18
2.2.	Pergunta de Pesquisa .....	19
2.3.	Estratégia de Busca .....	19
2.3.1.	Forma de realização das buscas.....	19
2.3.2.	Fontes de busca .....	19
2.3.3.	Idioma .....	19
2.3.4.	Descritores.....	19
2.3.5.	Expressão de busca – String.....	20
2.3.6.	Data e horário da busca .....	20
2.4.	Seleção dos Estudos.....	21
2.4.1.	Critérios de inclusão .....	21
2.4.2.	Critérios de exclusão .....	21
2.4.3.	Triagem dos artigos .....	21
2.4.4.	Ficha de elegibilidade.....	22
2.4.5.	Avaliação da Qualidade Metodológica dos Estudos Incluídos.....	22
2.5.	Extração dos Dados .....	23
2.5.1.	Ficha para extração dos dados .....	23
2.5.2.	Síntese dos Dados .....	24
2.6.	Apresentação dos Resultados .....	24
2.7.	Avaliação da Revisão Sistemática .....	25

2.8. Sumarização de Resultados.....	25
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	25
4. CONCLUSÕES.....	33
CAPÍTULO 2: CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E ANÁLISE HISTOQUÍMICA DO TECIDO CONJUNTIVO EM PIOMETRA DE CADELAS COM ÊNFASE EM REMODELAÇÃO DO COLÁGENO .....	
1. INTRODUÇÃO.....	34
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	35
2.1. Comitê de ética.....	35
2.2. Materiais dos pacientes.....	35
2.3. Avaliação histológica e quantificação das fibras colágenas tipo I e III .....	36
2.4. Análise estatística.....	38
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	38
4. CONCLUSÕES.....	43
REFERÊNCIAS .....	44

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

A piometra é uma enfermidade inflamatória grave e frequente em fêmeas caninas, sendo motivo comum de atendimento emergencial na clínica de pequenos animais (Camozzi et al., 2023). Caracteriza-se por um processo infeccioso e inflamatório do útero, geralmente associado à influência hormonal e à contaminação bacteriana ascendente, levando a alterações estruturais importantes no endométrio. Esse contexto inflamatório afeta diretamente o estroma endometrial, promovendo mudanças teciduais significativas, especialmente relacionadas à reorganização do tecido conjuntivo (Woźna-Wysocka et al., 2021; Santana et al., 2024).

A remodelação da matriz extracelular, especialmente das fibras colágenas, é um processo dinâmico e essencial na resposta tecidual frente a estímulos inflamatórios (Li; Bratlie, 2018). No útero, esse processo envolve a reorganização das fibras de colágeno, o recrutamento de células inflamatórias e a ativação de vias de reparo tecidual. Compreender essas alterações é importante para interpretar as consequências das inflamações uterinas sobre a integridade e funcionalidade do endométrio (Ramella-Roman et al., 2024).

Nos últimos anos, os exossomos têm despertado interesse por sua participação em diversos processos biológicos, incluindo inflamação, regeneração e remodelação da matriz (Wang et al., 2020; Lin et al., 2021). Essas vesículas carregam proteínas, lipídios e RNAs que podem modular o microambiente tecidual e influenciar a comunicação intercelular (Xiang et al., 2024). No entanto, apesar de seu potencial papel imunomodulador e reparador (Sun et al. (2019), ainda há poucos estudos que investigam a atuação dos exossomos em lesões uterinas inflamatórias, principalmente em tecidos de interesse veterinário.

Considerando essa lacuna, torna-se relevante explorar a participação dos exossomos e da remodelação estromal no contexto da piometra em cadelas, a fim de ampliar o conhecimento sobre os mecanismos envolvidos nas respostas inflamatórias e reparadoras do útero. Essa compreensão pode contribuir para o desenvolvimento de novas abordagens diagnósticas e terapêuticas na medicina veterinária reprodutiva. Dessa forma, o objetivo do presente trabalho é avaliar, por meio de revisão sistemática e análise histoquímica, o papel potencial dos exossomos e a remodelação do tecido

conjuntivo em lesões uterinas inflamatórias (piometra) em cadelas, com foco na organização das fibras colágenas.

# **CAPÍTULO 1: REVISÃO SISTEMÁTICA: O PAPEL DOS EXOSSOMOS EM LESÕES UTERINAS REPRODUTIVAS/INFLAMATÓRIAS EM FÊMEAS MAMÍFERAS**

## **1. INTRODUÇÃO**

As lesões uterinas inflamatórias e proliferativas, como a hiperplasia endometrial cística, piometra, endometrite e o câncer endometrial, são frequentemente observadas em fêmeas mamíferas e representam importantes causas de infertilidade e morbidade. Essas condições estão associadas a distúrbios hormonais, inflamação crônica e crescimento celular desordenado, afetando negativamente o microambiente uterino e a função reprodutiva (Zhou et al., 2021; Camozzi et al., 2023; Santana et al., 2024).

Nos últimos anos, os exossomos — um tipo de vesícula extracelular (VE) com tamanho nanométrico — vêm ganhando destaque por sua atuação na comunicação intercelular. Liberados por diferentes tipos celulares, os exossomos estão relacionadas ao transporte de biomoléculas, funcionando como importantes mediadores em diversos processos fisiológicos e patológicos, incluindo inflamação, regeneração e desenvolvimento tecidual (Xiang et al., 2024; Xu et al., 2024).

No contexto das lesões uterinas, evidências iniciais indicam que essas vesículas participam da modulação da resposta inflamatória, do remodelamento endometrial e da progressão de lesões proliferativas. Além disso, os exossomos têm sido apontados como potenciais biomarcadores diagnósticos e alvos terapêuticos promissores (Wang et al., 2020; Lin et al., 2021; Zhang et al., 2021). Embora existam estudos veterinários, a maioria foca em espécies de produção, como bovinos, e os modelos humanos ou murinos predominam na literatura.

Estudos em pequenos animais, como cadelas e gatas, ainda são escassos, evidenciando a necessidade de mais pesquisas para compreender o papel dos exossomos nessas espécies. Esta revisão sistemática busca analisar os achados sobre exossomos em lesões uterinas inflamatórias e proliferativas em fêmeas mamíferas, destacando avanços, limitações e oportunidades para a medicina veterinária.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1. PICOS

Nesta revisão sistemática, o modelo P (população), I (intervenção/exposição), C (comparação), O (desfecho/resultado) e S (tipo de estudo), foi utilizado para estruturar a pergunta de pesquisa e orientar a seleção dos estudos incluídos, conforme apresentado no quadro 1, que ilustra o modelo PICOS preparado para a execução desta revisão sistemática.

Quadro 1 – Estratégia PICOS utilizada para delineamento da revisão sistemática

População (P)	Intervenção / Exposição (I)	Comparação (C)	Desfecho / Resultado (O)	Tipo de estudo (S)
Fêmeas mamíferas	Exossomos	Tecido uterino normal e lesado (lesões uterinas inflamatórias ou proliferativas)	Participação dos exossomos na fisiopatologia das lesões uterinas ou Evidências sobre atuação dos exossomos em inflamação, regeneração ou remodelação uterina	Observacionais e Experimentais

Fonte: Elaboração própria (2025)

A população de interesse compreende fêmeas mamíferas com lesões uterinas inflamatórias ou proliferativas, independentemente da espécie ou idade. A exposição considerada é a presença, análise ou caracterização de exossomos em tecidos uterinos acometidos por essas alterações.

A comparação, quando disponível, considera tecidos uterinos normais versus lesados (com lesões inflamatórias ou proliferativas). Contudo, estudos sem grupo comparativo também foram considerados, desde que apresentem dados relevantes sobre o papel dos exossomos.

O desfecho analisado envolve a atuação dos exossomos no contexto fisiopatológico das lesões uterinas, incluindo sua participação em processos inflamatórios, regenerativos ou proliferativos, além do potencial uso como biomarcadores ou ferramentas diagnósticas.

Foram incluídos estudos observacionais e experimentais que investigaram diretamente os exossomos em lesões uterinas de fêmeas mamíferas, utilizando diferentes técnicas analíticas, desde que relacionadas à temática proposta.

## **2.2. Pergunta de Pesquisa**

Quais são as evidências disponíveis na literatura sobre o papel dos exossomos em lesões inflamatórias e proliferativas do útero em fêmeas mamíferas?

## **2.3. Estratégia de Busca**

### **2.3.1. Forma de realização das buscas**

Os procedimentos de pesquisa foram conduzidos por dois revisores de maneira independente, utilizando fontes de busca específicas, com critérios de pesquisa, datas e horários pré-definidos. Em caso de discrepâncias, os revisores resolverão as diferenças por meio de consenso.

### **2.3.2. Fontes de busca**

As buscas de evidências serão realizadas em bases de dados bibliográficas eletrônicas:

- PUBMED
- SCOPUS
- SCIENCE DIRECT

### **2.3.3. Idioma**

Preferencialmente, serão priorizados artigos em inglês, dado que é amplamente reconhecido como o idioma mais universalmente aceito para publicações científicas.

### **2.3.4. Descritores**

Os descritores foram definidos com base na pergunta de pesquisa e na estratégia PICOS, de modo a orientar a busca sistemática nas bases de dados. A

população-alvo da pesquisa são fêmeas mamíferas com lesões uterinas inflamatórias ou proliferativas. A intervenção ou exposição de interesse diz respeito à presença, caracterização e atuação dos exossomos ou vesículas extracelulares. Quando presentes, as comparações envolvem tecidos uterinos normais versus lesados. Os desfechos considerados abrangem os efeitos biológicos, remodelação estromal, resposta inflamatória e possíveis aplicações diagnósticas dos exossomos. Serão incluídos estudos observacionais e experimentais que abordem diretamente essa temática.

Os descritores foram identificados por sua pertinência ao tema central e à pergunta de pesquisa desta revisão sistemática, sendo organizados conforme apresentado no quadro 2.

Quadro 2 – Descritores utilizados na estratégia de busca (em inglês e português)

<b>P</b>	<b>I</b>	<b>C</b>	<b>O</b>	<b>S</b>
Female mammals / Fêmeas mamíferas	Exosomes / Exossomos	Uterine tissue with inflammatory or proliferative lesions vs. normal uterine tissue (if applicable) / Tecido uterino com lesões inflamatórias ou proliferativas vs. tecido uterino normal (se aplicável)	Inflammatory modulation, stromal remodeling, regenerative roles, diagnostic/biomarker potential / Modulação inflamatória, remodelação estromal, funções regenerativas, potencial diagnóstico/biomarcador	Observational or Experimental studies / Estudos observacionais ou experimentais

Fonte: Elaboração própria (2025)

### 2.3.5. Expressão de busca – String

(female mammal) AND (exosome) AND (uterine disease OR uterine tissue) AND (inflammation OR proliferation OR lesion).

### 2.3.6. Data e horário da busca

O período de busca para esta pesquisa foi realizado em um único dia da semana, em 10 de junho de 2025, das 08h00 às 18h00, com o propósito de coletar informações relevantes.

## **2.4. Seleção dos Estudos**

### **2.4.1. Critérios de inclusão**

- (I) Artigos científicos completos, publicados em periódicos indexados e revisados por pares;
- (I) Estudos que investiguem a presença, função ou caracterização de exossomos em tecido uterino (endométrio) de fêmeas mamíferas;
- (I) População composta por fêmeas mamíferas (incluindo humanas ou não humanas), com lesões uterinas inflamatórias endométrio (ex: endometrite, metrite, piometra) e/ou proliferativas (ex: hiperplasia, tumores);
- (I) Estudos com delineamento observacional (ex: estudos de caso-controle, coorte, seccionais) ou experimental (ex: estudos in vitro, in vivo, modelos animais).

### **2.4.2. Critérios de exclusão**

- (E) Trabalhos que não sejam artigos originais, tais como resumos, anais de congresso, relatos de caso isolado, teses, dissertações, editoriais, capítulos de livros e livros;
- (E) Revisões de literatura, revisões sistemáticas ou integrativas;
- (E) Estudos que não envolvam vesículas extracelulares, especificamente exossomos, como objeto de análise;
- (E) Estudos que não abordem o tecido uterino (endométrio), mas sim outros órgãos, como ovários, mamas, fígado, rins, entre outros, mesmo que em fêmeas;
- (E) Estudos em machos ou em espécies que não sejam mamíferos;
- (E) Artigos que não apresentem dados primários, análise metodológica clara ou que estejam indisponíveis em texto completo.

### **2.4.3. Triagem dos artigos**

Após a etapa de busca, os resultados obtidos de todas as bases foram inseridos e organizados no Software StArt (State of the Art through Systematic Review), desenvolvido pelo LaPES, UFSCAR. Durante essa fase, ocorreu a remoção de quaisquer artigos duplicados. Posteriormente, os artigos foram submetidos a uma triagem preliminar, realizada por dois revisores de forma independente, que

examinaram os títulos e resumos. No caso de divergências entre os revisores, as mesmas resultaram na resolução por consenso entre eles.

#### 2.4.4. Ficha de elegibilidade

A confirmação da elegibilidade dos artigos selecionados após a triagem preliminar foi realizada por meio da leitura completa de cada artigo. Para essa etapa, empregou-se uma ficha de avaliação contendo critérios específicos de elegibilidade, a fim de registrar os motivos para inclusão ou exclusão de cada artigo. Esse processo de confirmação conduziu-se por dois revisores independentes, e eventuais divergências entre eles resolvidas por meio de consenso.

#### 2.4.5. Avaliação da Qualidade Metodológica dos Estudos Incluídos

A avaliação da qualidade metodológica dos estudos selecionados foi realizada utilizando um formulário estruturado no software StArt (State of the Art through Systematic Review), baseado em escala numérica. Essa etapa é fundamental para garantir que os dados extraídos apresentem confiabilidade e rigor científico.

O formulário adotado foi composto por oito critérios avaliativos, cada um pontuado de 0 a 10, considerando a qualidade metodológica apresentada. A pontuação foi atribuída por dois revisores independentes. Em caso de discordâncias, foi realizada uma nova avaliação consensual. Os critérios foram selecionados com base nas diretrizes PRISMA 2020, adaptados ao escopo da presente revisão e apresentados de acordo com o quadro 3.

Quadro 3 – Critérios de qualidade metodológica avaliados na revisão sistemática

<b>Critério</b>	<b>Opções de avaliação</b>	<b>O que analisa</b>
Objetivos bem definidos	Ruim (0), Regular (5), Bom (10)	Clareza na formulação do objetivo da pesquisa
Justificativa e relevância do estudo	Fraca (0), Moderada (5), Forte (10)	Se o estudo apresenta importância clara e alinhamento com o tema da revisão
Métodos adequados e bem descritos	Incompletos (0), Parcialmente claros (5), Completos e adequados (10)	Coerência entre objetivos e métodos utilizados
Descrição clara da população/amostra	Inexistente (0), Parcial (5), Clara e completa (10)	Se a população estudada e os critérios de seleção são adequadamente descritos

Análise dos dados e tratamento estatístico	Nenhuma (0), Descritiva (5), Analítica e adequada (10)	Tipo e adequação da análise estatística empregada
Apresentação e transparência dos resultados	Confusa (0), Parcialmente clara (5), Clara e completa (10)	Clareza, uso de tabelas, gráficos e boa comunicação dos achados
Conclusões fundamentadas nos resultados	Não justificadas (0), Parcialmente (5), Totalmente fundamentadas (10)	Se estão logicamente baseadas nos dados obtidos
Avaliação do risco de viés (se aplicável)	Não avaliado (0), Parcial (5), Avaliado e discutido (10)	Se o artigo discute possíveis limitações ou fontes de viés

Fonte: Elaboração própria (2025)

## 2.5. Extração dos Dados

### 2.5.1. Ficha para extração dos dados

Os dados extraídos dos artigos selecionados foram predominantemente qualitativos. A extração dos dados foi realizada por meio do software Start, por dupla de revisores, de forma independente. As discordâncias foram solucionadas por consenso entre os revisores.

As informações extraídas de cada artigo incluíram:

- Ano de publicação;
- Espécie e características da população estudada (ex: espécie animal, idade, condição clínica);
- Tipo de lesão uterina abordada (inflamatória ou proliferativa);
- Biomarcador (métodos utilizados para identificação, caracterização ou análise do estudo dos exossomos);
- Métodos de detecção dos biomarcadores, como imuno-histoquímica, análises moleculares, microscopia, entre outros;
- Características da amostra, incluindo tipo e origem do material (ex: tecido endometrial, sangue, soro);
- Principais achados relacionados à função, expressão, implicações fisiopatológicas ou potenciais diagnósticos dos exossomos, que serão abordados na discussão;
- Conclusões dos autores e possíveis lacunas identificadas, que também serão abordadas na discussão.

### 2.5.2. Síntese dos Dados

A consolidação dos dados foi realizada por meio da organização dos estudos em tabelas descritivas, agrupando-os conforme os objetivos, a população investigada, os métodos utilizados para caracterização das vesículas extracelulares e os principais achados observados.

Foram destacados dados como:

- Tipo de lesão uterina abordada (inflamatória ou proliferativa);
- Espécie avaliada e características da amostra (ex: idade, fase do ciclo, condição clínica);
- Técnicas laboratoriais utilizadas para isolamento, identificação ou análise dos exossomos;
- Biomoléculas associadas (ex: RNAs, proteínas, marcadores específicos);

Posteriormente, os achados foram analisados de forma crítica, considerando a diversidade de modelos biológicos, técnicas empregadas e o grau de evidência apresentado. Buscou-se identificar padrões de expressão e atuação dos exossomos nas diferentes condições uterinas, bem como lacunas de conhecimento relevantes para o avanço da pesquisa experimental, especialmente na área da medicina veterinária.

Essa síntese permitiu uma visão integrada e comparativa sobre o papel dos exossomos em lesões uterinas, fornecendo embasamento teórico para o desenvolvimento de estudos futuros com foco na remodelação do tecido conjuntivo e nos potenciais efeitos imunomoduladores dessas vesículas em cadelas com piometra.

## 2.6. Apresentação dos Resultados

Os resultados das buscas, bem como o processo de seleção e elegibilidade dos estudos incluídos ou excluídos na revisão, foram detalhados utilizando um fluxograma, conforme as diretrizes do guia Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA). A síntese, as interpretações e as discussões dos dados foram estruturadas em seções específicas que compuseram a revisão sistemática, proporcionando uma apresentação organizada e clara dos achados obtidos.

## 2.7. Avaliação da Revisão Sistemática

A análise da revisão sistemática foi conduzida utilizando uma lista de verificação baseada no guia Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA).

## 2.8. Sumarização de Resultados

A apresentação dos resultados obtidos na revisão sistemática será organizada de forma objetiva e temática, com base nos dados extraídos dos estudos selecionados. Os achados serão categorizados conforme a natureza da lesão uterina (inflamatória ou proliferativa), a espécie avaliada e as implicações funcionais dos exossomos descritas em cada estudo.

A organização e sumarização dos achados foram realizadas com base em eixos temáticos previamente definidos conforme mostra o quadro 4.

Quadro 4 – Temas centrais identificados na revisão sistemática

Eixo Temático	Descrição dos Dados Apresentados
Tipo de Lesão Uterina	Quantificação dos estudos que abordam lesões inflamatórias (ex: endometrite, piometra) vs. proliferativas (ex: hiperplasia, tumores).
Espécie e População	Distribuição dos estudos por espécie (canina, felina, humana, outros) e principais características das amostras.
Técnicas de Análise de Exossomos	Métodos laboratoriais empregados para isolamento, caracterização e análise dos exossomos (ex: ultracentrifugação, NTA, western blot, PCR, EM).
Biomoléculas Identificadas	Principais RNAs, proteínas ou marcadores específicos detectados nos exossomos, relacionados a inflamação, remodelação ou proliferação.
Aplicações Diagnósticas/Terapêuticas	Potencial uso dos exossomos como biomarcadores, ferramentas de diagnóstico precoce ou estratégias terapêuticas inovadoras.
Comparação entre Tecido Lesado × Tecido Normal	Avaliação dos estudos que realizaram comparações entre tecidos uterinos saudáveis e alterados.
Lacunas de Conhecimento	Temas pouco explorados, técnicas subutilizadas ou espécies com escassez de estudos identificadas na revisão.

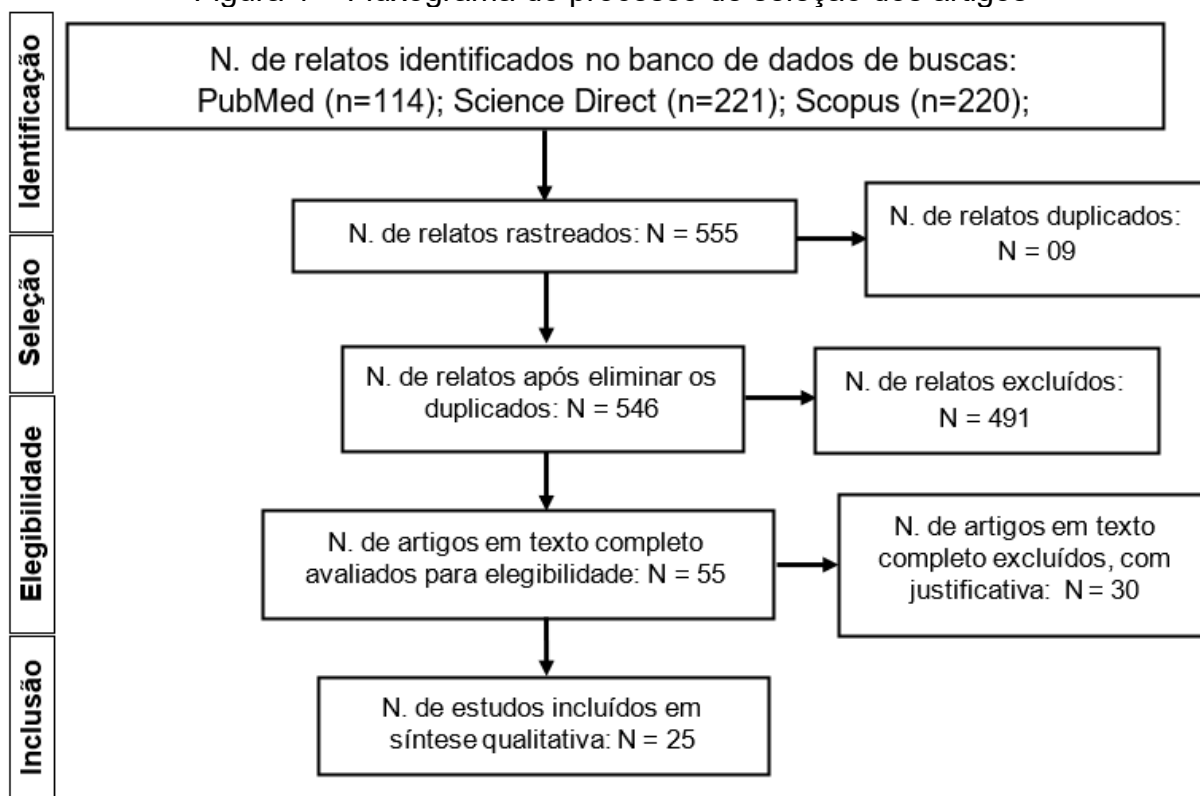
Fonte: Elaboração própria (2025)

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a aplicação dos critérios estabelecidos pelo protocolo PRISMA, juntamente com os critérios de inclusão e exclusão definidos para esta revisão, foram

selecionados 25 artigos para compor a amostra da revisão sistemática. O fluxograma apresentado na figura 1, ilustra as etapas seguidas durante o processo de seleção.

Figura 1 – Fluxograma do processo de seleção dos artigos



Fonte: Elaboração própria (2025).

Legenda: Fluxograma elaborado com base nos critérios do protocolo PRISMA.

A maioria dos estudos selecionados foi conduzida na China, refletindo uma concentração significativa da produção científica sobre exossomos em lesões uterinas nesse país. No total, os trabalhos analisados foram desenvolvidos em seis diferentes países. As técnicas metodológicas empregadas variaram conforme o tipo de amostra biológica (tecido, sangue, soro e/ou plasma), incluindo análises histopatológicas, imuno-histoquímica (IHQ), ensaio imunoenzimático (ELISA), reação em cadeia da polimerase (PCR) e suas variações, Western blot, citometria de fluxo, microscopia eletrônica de transmissão (MET), além de abordagens moleculares como análise de expressão gênica e de microRNAs. O quadro 5 apresenta de forma detalhada a distribuição dessas metodologias entre os estudos avaliados, bem como as características dos modelos experimentais utilizados.

Quadro 5 – Síntese metodológica dos artigos selecionados

1º AUTOR	ANO	PAÍS	ESPÉCIE	TIPO DE LESÃO	BIOMARCADOR	DETECÇÃO	AMOSTRA
Lin	2021	China	Camundongos ( <i>Mus musculus</i> )	Lesão mecânica induzida	Exossomos derivados de células-tronco adiposas (ADSC-exo) em hidrogel	Imuno-histoquímica (IHQ)	Tecido
Lin	2023	China	Humanos ( <i>Homo sapiens</i> ) e camundongos ( <i>Mus musculus</i> )	Endometriose e endométrio (normal)	Exossomos contendo miR-21-5p	IHQ; Isolamento de exossomos; Quantificação de microRNA (miRNA)	Soro Tecido
Zhang	2023	China	Humanos ( <i>Homo sapiens</i> )	Aderência intrauterina	Exossomos derivados de sangue menstrual (MenSCs) e células estromais endometriais (EndoSCs)	Imunofluorescência (IF); Microscopia eletrônica de transmissão (MET); Reação em Cadeia da Polimerase Quantitativa com Transcrição Reversa (RT-qPCR); Técnicas de análise de rastreamento de nanopartículas (NTA); Western blot	Sangue menstrual Tecido
Li	2022	China	Camundongos ( <i>Mus musculus</i> )	Aderência intrauterina induzida por raspagem	Exossomos de células-tronco mesenquimais (MSCs) tratadas com fator de necrose tumoral- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ) (T-MSCs)	Citometria de fluxo; IF; Isolamento e caracterização dos exossomos; qPCR; Triagem proteômica e análise de vias; Western blotting	Tecido
Bonavina	2024	EUA	Humanos ( <i>Homo sapiens</i> )	Alteração endometrial	Exossomos derivados de hBMDSCs (Células-tronco derivadas da medula óssea humana) contendo miRNAs	MET; NTA; RT-Qpcr	Tecido
Wang	2020	China	Bovinos ( <i>Bos taurus</i> )	Endometrite (inflamação uterina)	miR-218 em exossomos derivados de células epiteliais endometriais (EECs)	MET	Tecido
Zhou	2021	China	Camundongos ( <i>Mus musculus</i> ) Humanos ( <i>Homo sapiens</i> )	Câncer endometrial (adenocarcinoma)	miR-765, eixo ER $\beta$ /miR-765/PLP2/Notch; exossomos derivados de células T CD8+	Citometria de fluxo; IF; MET; Purificação de exossomos; RT-qPCR; Sequenciamento de quantificação de	Tecido

						microRNA (miRNA-seq); Sequenciamento de RNA mensageiro (mRNA-seq); Western blotting	
Jiang	2024	China	Bovinos ( <i>Bos taurus</i> ) Camundongos ( <i>Mus musculus</i> )	Endometrite induzida por lipopolissacarídeo (LPS)	Exossomos / miR-331 / Notch1 / IKK $\alpha$ / NF- $\kappa$ B	Isolamento, caracterização, rotulagem e captação de exossomos; IF; Western blotting; Coimunoprecipitação; Qpcr	Tecido
Wu	2018	China	Humanos ( <i>Homo sapiens</i> ) Camundongos nude ( <i>Mus musculus</i> )	Endometriose com fibrose	miR-214; Fator de crescimento do tecido conjuntivo (CTGF); Colágeno $\alpha$ 1	IHQ; Isolamento e administração de exossomos; RT-PCR; Western blotting	Tecido
Chen	2024	China	Humanos ( <i>Homo sapiens</i> ) Camundongos nude ( <i>Mus musculus</i> )	Endometrite induzida por lipopolissacarídeo (LPS)	miR-124-3p; DUSP6; p-p65; p-ERK1/2	Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA) - (IL-6, IL-10, TGF- $\beta$ ); Isolamento e rotulagem de exossomos (ultracentrifugação, NTA, MET, PKH26); RT-qPCR; Western blot	Células-tronco embrionárias humanas (HEEC) Tecido
Sun	2018	China	Humanos ( <i>Homo sapiens</i> )	Endométrio eutópico com endometriose e endométrio normal	Exossomo	Citometria de fluxo; IF; Isolamento de exossomos; MET; NTA; Western blot	Células estromais endometriais; Células endoteliais; Neurônios de gânglio da raiz dorsal (DRG)
Zhang	2020	China	Humanos ( <i>Homo sapiens</i> )	Câncer endometrial	miR-320a / EVs de fibroblastos associados ao câncer (CAF)	Ensaio de microarray; qRT-PCR	Tecidos tumorais humanos; Células de câncer endometrial; Fibroblastos associados ao câncer (CAF)
Ma	2024	China	Humanos ( <i>Homo sapiens</i> ) Camundongos nude ( <i>Mus musculus</i> )	Adenocarcinoma endometrial	lncRNA TRPM2-AS / eixo miR-497-5p-SPP1	Imunoprecipitação de RNA (RIP); Purificação de exossomos; qRT-PCR; Western blotting	Tecido

Björk	2024	Suécia	Humanos ( <i>Homo sapiens</i> )	Endometriose	MICA/B, ULBP1-3, FasL, TRAIL (marcadores exossomais imunossuppressores)	Análise proteica; Isolamento de exossomos	Tecido
Zhang	2018	China	Camundongos nude ( <i>Mus musculus</i> )	Endometriose	miR-138, CD11b, NF-κB, VEGF	Citometria de fluxo; ELISA; IF; Microarray; RT-qPCR; Western blot	Tecido
Liang	2025	China	Camundongos nude ( <i>Mus musculus</i> )	Aderência intrauterina (IUA) induzida por eletrocoagulação	Exossomos de células-tronco mesenquimais da placenta (PMSCs) / miR-143 / via NF-κB / MyD88	Análise de bioinformática de microarray e mRNA; RT-PCR	Tecido
Saribas	2020	Turquia	Camundongos nude ( <i>Mus musculus</i> )	Lesão endometrial	Células-tronco mesenquimais (MSCs) derivadas do útero; Exossomos	Histoquímica; IHQ	Tecido
Song	2022	China	Humanos ( <i>Homo sapiens</i> ) Camundongos nude ( <i>Mus musculus</i> )	Câncer endometrial	SERPINA5; Exossomos	ELISA; Exossomos; IHQ; Isolamento de RNA e RT-PCR quantitativo; MET; NAT; Western blotting	Plasma; Tecidos endometriais humanos (normais e tumorais); Linhagens celulares (HEC-1A, KLE, HEK293)
Liu	2021	China	Humanos ( <i>Homo sapiens</i> ) Camundongos nude ( <i>Mus musculus</i> )	Aderência intrauterina induzida por LPS	Células-tronco mesenquimais ósseas (BMSCs); exossomos derivados de BMSCs (BMSCs-exo; miR-223-3p, NLRP3, IL-18, IL-1β	IF; Isolamento, purificação e cultura de células estromais mesenquimais (MSCs) e células progenitoras endoteliais (EPCs) <i>in vitro</i> ; Purificação de MSCs-exo; qPCR; Western blot	Tecido Soro
Bian	2024	China	Humanos ( <i>Homo sapiens</i> ) Camundongos nude ( <i>Mus musculus</i> )	Câncer endometrial metastático	CTHRC1 (em exossomos); Defactinibe	Análise proteômica quantitativa de exossomos; Captação do exossomo pelas células endoteliais; Co-IP ((imunoprecipitação de proteínas); ELISA; IF;	Células tumorais de câncer endometrial (linhagens celulares); Fibroblastos associados ao câncer (CAF);

						Isolamento do exossomo; Extração de proteínas; Extração de RNA e qRT-PCR; Western blot	Fibroblastos normais (NF); Exossomos
Koh	2020	Australia	Bovinos ( <i>Bos taurus</i> )	Inflamação endometrial	Exossomos circulantes (alta/baixa fertilidade)	ELISA; Extração de RNA e síntese de cDNA; RT-PCR	Sangue; Células epiteliais e estromais endometriais bovinas
Song	2025	China	Humanos ( <i>Homo sapiens</i> )	Aderência intrauterina (AIU)	eMSCs (células-tronco/estromais mesenquimais endometriais) (diferenciação para miofibroblastos); Via TGF- $\beta$	IHQ; Purificação do exossomo e formação do tubo vascular	Tecido
Taravat	2023	Iran	Camundongos nude ( <i>Mus musculus</i> )	Endometrite induzida por LPS	Ácido rosmarínico (RA); Exossomos; RA carregado em exossomos	Avaliação do tamanho das partículas do exossomo; Extração de RNA e expressão gênica; IHQ; MET; Western blotting	Tecido
Wang	2023	China	Humanos ( <i>Homo sapiens</i> ) Camundongos nude ( <i>Mus musculus</i> )	Endometrite induzida por LPS	Exossomos derivados de células-tronco derivadas de tecido adiposo (ADSCs)	Extração de Exossomos de células-tronco derivadas do tecido adiposo (ADSCs); IHQ; MET; RT-qPCR; Western Blot	Tecido
Zhang	2021	China	Humanos ( <i>Homo sapiens</i> ) Camundongos nude ( <i>Mus musculus</i> )	Endometriose	miR-214-3p exossômico e CCN2	Extração de RNA e qRT-PCR; Western Blotting; IHQ; Exossomos; Rastreamento de fluorescência de exossomos	Tecido; Soro; Cultura celular

Fonte: Elaboração própria (2025)

A presente revisão sistemática demonstra que os exossomos são protagonistas na regulação das respostas celulares associadas a diversas lesões uterinas, englobando processos inflamatórios, fibrogênicos, angiogênicos e neoplásicos. A ampla diversidade de estudos aponta para a importância desse tipo de vesículas extracelulares na fisiopatologia uterina, atuando tanto como biomarcadores diagnósticos quanto como potenciais vetores terapêuticos.

No âmbito da endometriose, Sun et al. (2019), evidenciaram que exossomos derivados de células estromais endometriais anormais promovem neuroangiogênese, fenômeno essencial para o estabelecimento e progressão das lesões endometrióticas. Complementando essa visão, Zhang et al. (2019) demonstraram que a regulação negativa do microRNA-138 (miR-138) mediada por exossomos influencia a inflamação e apoptose em células endoteliais uterinas, modulando as vias VEGF/NF- $\kappa$ B e, conseqüentemente, promovendo um ambiente favorável à evolução da doença. Ademais, Wu et al. (2018), e Zhang et al. (2021), destacaram o papel do miR-214 exossômico na inibição da fibrose endometriótica por meio da regulação do fator de crescimento do tecido conjuntivo (CCN2), sugerindo que o aumento desse microRNA pode representar uma abordagem terapêutica inovadora para controlar a fibrose característica da endometriose. Esses achados reforçam a relevância dos exossomos como mediadores da comunicação intercelular que influenciam os processos de fibrogênese e angiogênese no microambiente endometrial.

Em paralelo, a endometrite, uma inflamação do endométrio que compromete a fertilidade e resulta em perdas econômicas na produção animal, também tem sido alvo da investigação do papel dos exossomos. Wang et al. (2020), identificaram que exossomos contendo miR-218, liberados por células epiteliais endometriais bovinas, atuam como moduladores da resposta imune, inibindo a produção de citocinas pró-inflamatórias e mantendo o equilíbrio imunológico local. Wang et al. (2023), ampliaram esse conceito ao mostrar que exossomos derivados de células-tronco do tecido adiposo (ADSCs) promovem a proliferação celular, inibem a apoptose e suprimem a inflamação em células estromais endometriais humanas, por meio da via miR-21/TLR4/NF- $\kappa$ B. Taravat et al. (2023), complementam essa perspectiva ao demonstrarem que o ácido rosmarínico encapsulado em exossomos melhora significativamente a endometrite induzida experimentalmente, através da modulação das vias TLR4-NLRP3, reduzindo a expressão de citocinas inflamatórias e a atividade da mieloperoxidase. Esses estudos reforçam o potencial dos exossomos como veículos para a entrega de terapias anti-inflamatórias direcionadas ao útero.

Ainda no campo da fibrose uterina, Zhang et al. (2023), destacaram o papel das células estromais derivadas do sangue menstrual (MenSCs) e seus exossomos na atenuação da fibrose endometrial, especialmente quando potencializados por fatores de crescimento como o PDGFBB. Os exossomos derivados dessas células modulam a via AKT/NF- $\kappa$ B e promovem a ubiquitinação de YAP, reduzindo a fibrogênese por

meio da inibição da interação YAP/SMAD3. Esse mecanismo evidencia uma via promissora para o tratamento da adesão intrauterina, uma condição marcada por fibrose e comprometimento da fertilidade.

Na área oncológica, o câncer endometrial apresenta uma complexidade biológica amplamente influenciada pela comunicação mediada por exossomos. Zhang et al. (2020), mostraram que exossomos liberados por fibroblastos associados ao câncer carregam o miR-320a, cuja baixa expressão está correlacionada à progressão tumoral, uma vez que o microRNA inibe a expressão de HIF1 $\alpha$  e VEGFA, reduzindo a proliferação celular. Zhou et al. (2021), também enfatizaram que exossomos derivados de células T CD8<sup>+</sup> infiltrantes têm impacto significativo na modulação da sinalização mediada por estrogênio e na regulação do eixo ER $\beta$ /miR-765/PLP2/Notch, influenciando a proliferação e invasão das células tumorais em câncer endometrial. Estes dados revelam que os exossomos podem atuar tanto na promoção quanto na supressão tumoral, dependendo do perfil molecular do seu conteúdo, o que os posiciona como alvos potenciais para intervenções terapêuticas.

Além disso, evidências sobre mecanismos moleculares específicos foram descritas por Zhang et al. (2021), que confirmaram que os exossomos transportam o miR-214-3p que regula negativamente a expressão do CCN2, inibindo a fibrose em lesões ectópicas de endometriose, enquanto Zhang et al. (2023), ampliaram esse conhecimento ao demonstrar o efeito antifibrótico dos exossomos de MenSCs na adesão intrauterina, destacando a versatilidade e o alcance terapêutico dos exossomos na reparação tecidual uterina.

Os estudos revisados também apontam para a capacidade dos exossomos em influenciar processos imunológicos. A regulação da inflamação uterina, seja por meio da supressão da via de sinalização TLR4-NLRP3 (Taravat et al., 2023), ou pela modulação da ativação das células endoteliais e macrófagos (Zhang et al., 2019), sugere que os exossomos funcionam como reguladores finos do microambiente uterino, equilibrando respostas pró e anti-inflamatórias, o que é fundamental para a manutenção da homeostase uterina e para a prevenção da progressão das lesões.

Por fim, a possibilidade de utilizar os exossomos como biomarcadores diagnósticos para diferentes lesões uterinas é ressaltada pelos dados que apontam variações na expressão de microRNAs exossômicos, como o miR-218 na endometrite bovina (Wang et al., 2020), e o miR-214 em lesões endometrióticas (Zhang et al.,

2021), abrindo caminho para o desenvolvimento de ferramentas não invasivas para detecção precoce e monitoramento da resposta terapêutica.

Apesar dos resultados promissores, esta revisão sistemática apresentou algumas limitações importantes, como a variação nos modelos experimentais utilizados (in vitro, in vivo, humanos e animais), a diversidade de métodos para isolamento e caracterização dos exossomos, além da falta de estudos clínicos padronizados. Essas questões dificultam a comparação direta entre os estudos e limitam a aplicação dos achados na prática clínica, principalmente na medicina veterinária.

#### **4. CONCLUSÕES**

Os dados analisados nesta revisão sistemática indicam que os exossomos desempenham um papel relevante na fisiopatologia das lesões uterinas inflamatórias e proliferativas, influenciando processos cruciais como a resposta inflamatória, a fibrose e a regeneração tecidual. Além disso, essas vesículas extracelulares despontam como potenciais biomarcadores e alvos terapêuticos promissores para doenças uterinas em fêmeas mamíferas, incluindo espécies de interesse veterinário. Avanços no entendimento dos mecanismos moleculares mediados por exossomos poderão contribuir significativamente para o aprimoramento de estratégias diagnósticas e terapêuticas na prática clínica veterinária.

## CAPÍTULO 2: CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E ANÁLISE HISTOQUÍMICA DO TECIDO CONJUNTIVO EM PIOMETRA DE CADELAS COM ÊNFASE EM REMODELAÇÃO DO COLÁGENO

### 1. INTRODUÇÃO

A matriz extracelular (MEC) desempenha um papel essencial na preservação da homeostase do tecido uterino, influenciando processos como regeneração, inflamação, cicatrização e remodelação. Avanços recentes na engenharia tecidual têm evidenciado a relevância da MEC na regulação da resposta inflamatória e na reorganização estrutural do tecido, como demonstram estudos que investigaram mecanismos capazes de direcionar a polarização de macrófagos e estimular a regeneração por meio da remodelação controlada da MEC (Xiang et al., 2024; Ojha et al., 2024).

Nesse contexto, afecções uterinas em cadelas, como a hiperplasia endometrial cística (HEC) e a piometra, ilustram bem como alterações na MEC podem comprometer a integridade tecidual. Essas condições estão associadas a alterações morfológicas expressivas, incluindo dilatação glandular, presença de infiltrado inflamatório e modificações do estroma. Tais mudanças afetam negativamente a arquitetura e a densidade celular estromal, configurando um microambiente uterino alterado e desorganizado (Camozzi et al., 2023; Santana et al., 2024).

Entre os componentes da MEC envolvidos nesse processo, destacam-se os colágenos tipos I e III, cuja expressão diferencial reflete os estágios de maturação tecidual. O colágeno tipo I, mais espesso e organizado, está associado a fases avançadas de maturação da matriz extracelular, ao passo que o colágeno tipo III, de padrão reticulado e delicado, predomina nos estágios iniciais de remodelação tecidual, sendo fundamental nos processos de reparo e regeneração em lesões uterinas (Zhorai et al., 2021; Shuai et al., 2023).

O *Picrosirius Red* é uma coloração histoquímica sensível usada para evidenciar fibras colágenas, especialmente os tipos I e III. Quando analisado sob luz polarizada, permite diferenciar essas fibras pela birrefringência, sendo útil em estudos de remodelação tecidual e fibrose (Coelho et al., 2018).

Considerando o exposto, este estudo tem como objetivo avaliar a remodelação do tecido conjuntivo em lesões uterinas inflamatórias, como piometra, em cadelas,

com ênfase na organização das fibras colágenas. Para isso, será realizada a caracterização e quantificação das fibras de colágeno tipos I e III por meio de análises histoquímicas e morfológicas.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1. Comitê de ética**

Este projeto foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Viçosa (CEUA/UFV), sob o protocolo nº 52/2024.

### **2.2. Materiais dos pacientes**

Foram selecionadas 13 amostras de lesões uterinas inflamatórias com foco no endométrio, obtidas a partir de blocos de parafina de cadelas com diagnóstico histopatológico de carcinoma mamário. Destas, oito amostras foram provenientes dos arquivos do Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Viçosa (UFV), e cinco foram cedidas pela médica veterinária e patologista Thais Barroso Sarandy, profissional autônoma que atua na região de Viçosa (MG). As amostras referem-se a cadelas atendidas para procedimentos de esterilização no Hospital Veterinário (HOV) da UFV e para diagnóstico histopatológico de alterações uterinas em clínicas privadas.

Foram incluídas no estudo apenas as amostras de tecidos incluídos em blocos de parafina e as lâminas de microscopia que apresentavam qualidade adequada para avaliação histopatológica e morfométrica.

As informações referentes aos animais e às suas condições clínicas foram obtidas a partir das fichas de atendimento do Hospital Veterinário da UFV (HOV/UFV) e dos registros fornecidos pela profissional autônoma responsável pelo envio das amostras, sendo coletados dados como idade, raça, histórico reprodutivo e diagnóstico.

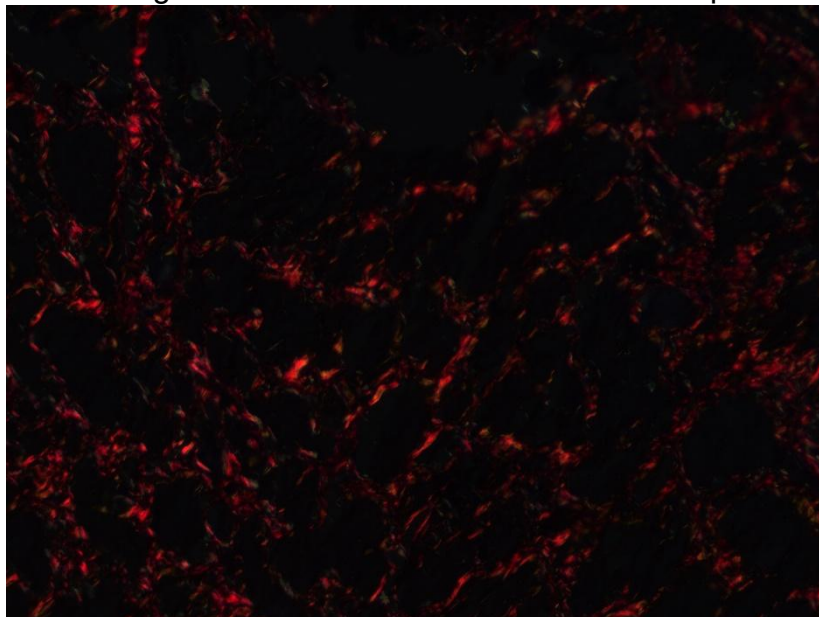
### 2.3. Avaliação histológica e quantificação das fibras colágenas tipo I e III

As amostras incluídas nos blocos de parafina foram cortadas em micrótomo com espessura entre 5 µm. Em seguida, os cortes foram submetidos à coloração de hematoxilina e eosina (HE) para análise histopatológica geral e à coloração histoquímica com *Picrosirius Red*, com o objetivo de diferenciar e quantificar as fibras colágenas do tipo I e III. A avaliação das lâminas coradas com HE foi realizada por um único médico-veterinário com experiência em patologia, visando reduzir possíveis variações na interpretação entre diferentes observadores (Santos et al., 2014; Santos et al., 2015).

Foram analisados qualitativamente diversos parâmetros histológicos, incluindo: grau de hiperplasia epitelial, número de glândulas, grau de dilatação cística, celularidade do estroma (classificada como baixa ou alta), tipo de infiltrado inflamatório (linfoplasmocitário, neutrofílico ou misto), intensidade da inflamação (leve, moderada ou intensa), distribuição da inflamação (focal, multifocal ou difusa), conteúdo luminal (secreções ou exsudatos) e presença de alterações vasculares, como hiperemia, congestão e hemorragia. Esses critérios morfológicos permitiram a caracterização detalhada das lesões, auxiliando na interpretação da remodelação tecidual.

Já as lâminas coradas com *Picrosirius Red* foram analisadas sob luz polarizada, o que permitiu a diferenciação óptica das fibras colágenas: as do tipo I apresentaram birrefringência vermelha a alaranjada e aspecto espesso, enquanto as do tipo III exibiram coloração esverdeada e aspecto fino e delicado (Figura 2).

Figura 2 – Fotomicrografia do endométrio de cadela corado por *Picrosirius Red*



**Fonte:** Elaboração própria (2025).

**Legenda:** Fotomicrografia do endométrio de cadela com hiperplasia endometrial, corada pela técnica de *Picrosirius Red* e analisada sob luz polarizada. Vermelho-alaranjado: Colágeno Tipo I; Verde: Colágeno tipo III; Preto: Outros tecidos (aumento de x20).

A análise quantitativa da deposição de colágeno nos tecidos uterinos foi realizada utilizando o software ImageJ (NIH, Bethesda, MD, EUA). As imagens das lâminas coradas com *Picrosirius Red* foram capturadas sob luz polarizada, no Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia Vegetal da UFV, e posteriormente, analisadas digitalmente para estimar a porcentagem de colágeno tipo I e tipo III.

Inicialmente, cada imagem foi aberta no software e convertida para o modo de cor RGB por meio do comando Image > Type > RGB Color. Em seguida, aplicou-se o recurso de limiar de cor (Image > Adjust > Color Threshold) para a segmentação seletiva das fibras colágenas com base em seus matizes específicos.

Para o colágeno tipo I, predominantemente avermelhado ou alaranjado sob luz polarizada, foram utilizados os seguintes parâmetros: Hue entre 0 e 30, Saturation de 100 a 255 e Brightness de 50 a 255. Já para o colágeno tipo III, que apresenta coloração esverdeada, os parâmetros aplicados foram: Hue entre 40 e 120, Saturation de 50 a 255 e Brightness de 20 a 255. Esses valores foram testados e ajustados previamente, sendo mantidos constantes para todas as imagens a fim de garantir uniformidade na análise.

Após o ajuste das cores, a seleção das áreas correspondentes ao colágeno foi feita clicando em “Select”. Em seguida, foram definidas as medições a serem realizadas (Analyze > Set Measurements), marcando-se a opção “Area”, e então procedeu-se à mensuração com o comando Analyze > Measure.

A área total de cada campo analisado foi obtida por meio da seleção completa da imagem (Ctrl + A), repetindo-se os mesmos passos de medição descritos anteriormente. A partir dos dados obtidos, calculou-se a porcentagem de colágeno tipo I e tipo III com base na razão entre a área ocupada por cada tipo de fibra e a área total da imagem, conforme as fórmulas:

- **% de colágeno tipo I** = (área de colágeno tipo I ÷ área total) × 100
- **% de colágeno tipo III** = (área de colágeno tipo III ÷ área total) × 100

Essa abordagem permitiu uma quantificação precisa e padronizada da distribuição de colágeno nas amostras avaliadas, contribuindo para a análise comparativa entre os diferentes grupos experimentais.

#### **2.4. Análise estatística**

Os dados obtidos da quantificação de colágeno foram agrupados de acordo com o diagnóstico histopatológico (hiperplasia endometrial cística vs. piometra) e também com base na classificação da celularidade do estroma (baixa ou alta).

As comparações entre grupos foram realizadas por meio do teste t de Student, adotando-se nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ). Além disso, foi aplicada a correlação de Pearson para avaliar a relação entre os percentuais de colágeno tipo I e tipo III nas diferentes amostras. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software o Microsoft Excel®.

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Foram analisadas treze amostras de endométrio de cadelas com idade entre 3 e 13 anos, classificadas em dois grupos: hiperplasia endometrial cística ( $n = 7$ ) e piometra ( $n = 6$ ). Nas amostras de hiperplasia, predominou o infiltrado linfoplasmocitário discreto e, quando presente, baixa celularidade estromal, sem evidência de conteúdo purulento na luz uterina, padrão compatível com as alterações morfológicas descritas por autores que analisaram o complexo hiperplasia endometrial

cística-piometra em cadelas e ressaltaram a importância do exame histopatológico na detecção precoce de alterações endometriais mesmo em ausência de sinais clínicos evidentes (Woźna-Wysocka et al., 2021).

Já nas amostras com piometra, observou-se infiltrado inflamatório predominantemente neutrofílico, acúmulo de exsudato purulento e maior densidade celular no estroma, caracterizando um processo inflamatório agudo. Essa condição está associada a uma resposta inflamatória intensa, tanto local quanto sistêmica, como demonstrado por Mickiewicz et al. (2022), que relataram aumento significativo de citocinas inflamatórias (TNF- $\alpha$ , IL-6) e proteína C reativa em cadelas com piometra (Toydemir Karabulut; Sönmez, 2018).

A coloração com Picrosirius Red, observada sob luz polarizada, possibilitou a diferenciação entre colágeno tipo I (birrefringência vermelho-alaranjada) e tipo III (birrefringência esverdeada), permitindo sua quantificação e análise comparativa (Coelho et al., 2018).

Os percentuais de colágeno tipo I variaram entre 0,05% e 21,23%, enquanto os de colágeno tipo III oscilaram de 0,04% a 20,33%. Apesar dessas variações, não houve diferença estatisticamente significativa na quantidade de colágeno tipo I ( $p = 0,372$ ), tipo III ( $p = 0,343$ ), energia ( $p = 0,732$ ) ou coerência ( $p = 0,690$ ) entre os grupos de diagnóstico. Sabe-se que a remodelação da matriz extracelular induzida por mediadores inflamatórios pode apresentar ampla variabilidade, a depender do tipo celular predominante, da intensidade da resposta imunológica e das condições hormonais locais (Adu-Bonsaffoh; Bayor, 2022). De modo semelhante, quando as amostras foram analisadas com base na celularidade do estroma, também não se observaram diferenças significativas (colágeno tipo I:  $p = 0,342$ ; tipo III:  $p = 0,497$ ; energia:  $p = 0,212$ ; coerência:  $p = 0,208$ ).

A única correlação estatística significativa identificada foi entre os parâmetros de energia e coerência das fibras colágenas ( $r = 0,767$ ;  $p = 0,004$ ), indicando que amostras com maior densidade de fibras tendem a apresentar maior alinhamento e organização das mesmas. Tal achado sugere que a organização do estroma conjuntivo está funcionalmente ativa, uma vez que a deposição aumentada de colágeno ocorre de forma orientada, o que pode refletir uma resposta adaptativa do tecido frente à injúria. Estudos em biomateriais e cicatrização têm demonstrado que a organização do colágeno está diretamente relacionada à interação entre células inflamatórias (como macrófagos e fibroblastos) e à matriz extracelular local, sendo a

orientação das fibras um indicativo de remodelação ativa e controle da resposta inflamatória (Li; Brattie, 2018).

Apesar da ausência de significância estatística nas comparações diretas, a análise descritiva revelou tendências relevantes. Úteros com piometra apresentaram, de forma geral, maior proporção de colágeno tipo III, como nas amostras 3 (20,33%) e 11 (1,04%). O colágeno tipo III, por ser mais fino e delicado, está associado às fases iniciais da remodelação tecidual e predomina em ambientes inflamatórios agudos. O colágeno tipo III está ligado à fase inicial da remodelação e costuma se expressar mais em inflamações agudas, sendo um indicativo de resposta inflamatória ativa (Rosa et al., 2022). Por outro lado, amostras de hiperplasia não infectadas mostraram maior concentração de colágeno tipo I, como a amostra 4 (21,23%), compatível com um microambiente crônico e de menor agressividade conforme a tabela 1. A deposição de colágeno tipo I é marcadamente associada à fibrose crônica, sendo produzida por diferentes populações celulares, especialmente fibroblastos, como demonstrado em modelos experimentais de lesão muscular (Chapman et al., 2016).

Tabela 1 – Colágeno tipo I e III em tecido uterino avaliado por *Picrosirius red*

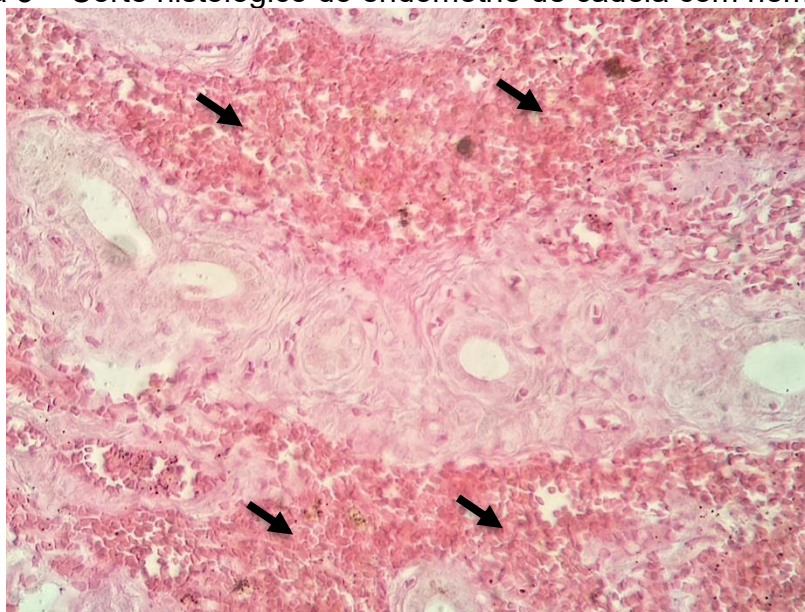
Amostra	% Tipo I	% Tipo III	Energia	Coerência
1	2,17	1,92	8,12	0,09
2	3	0,16	21,07	0,18
3	5,83	20,33	7,86	0,12
4	21,23	0,83	4,09	0,12
5	4,97	0,3	4,46	0,14
6	0,05	0,04	1,39	0,1
7	0,26	0,04	4,93	0,05
8	0,75	0,89	4,83	0,14
9	0,84	0,16	8,14	0,08
10	1,66	0,42	6,06	0,14
11	1,78	1,04	17,51	0,21
12	3,98	0,77	24,67	0,22
13	0,23	0,04	1,39	0,13

Fonte: Elaboração própria (2025)

Adicionalmente, as análises histopatológicas evidenciaram alterações específicas que ilustram bem as características das lesões observadas nos diferentes

grupos. Na figura 3, referente à amostra 6, observa-se um corte de endométrio com evidência de hemorragia focal, típica de quadros inflamatórios intensos, frequentemente associados à piometra. Os achados reforçam que a piometra, especialmente a forma fechada, está associada a hemorragias e intensa resposta inflamatória, evidenciada por leucocitose e alterações plasmáticas, o que confirma a gravidade do quadro e a necessidade de diagnóstico e tratamento rápidos (Lansubsakul et al., 2022).

Figura 3 – Corte histológico do endométrio de cadela com hemorragia

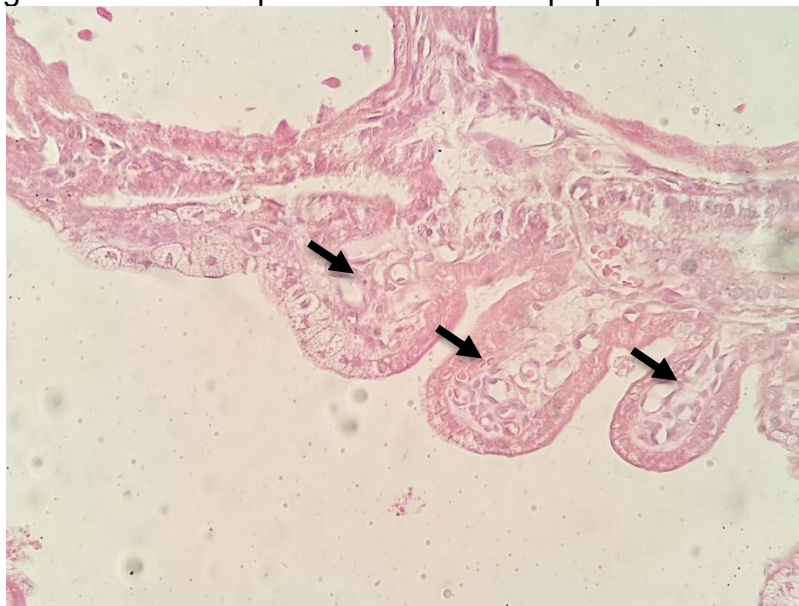


**Fonte:** Elaboração própria (2025).

**Legenda:** Endométrio com setas evidenciando hemorragia no estroma. HE, aumento de 40x.

Por outro lado, a figura 4, que corresponde à amostra 5, ilustra um caso de hiperplasia epitelial acentuada, representando alterações estruturais marcantes observadas em úteros com hiperplasia endometrial cística, condição que também está relacionada à redução da reserva ovariana, com menor proporção de folículos pré-antrais normais e densidade celular diminuída, o que pode impactar negativamente a fertilidade das cadelas afetadas (Camozzi et al., 2023).

Figura 4 – Microscopia de endométrio hiperplásico de cadela



**Fonte:** Elaboração própria (2025).

**Legenda:** Endométrio com setas identificando hiperplasia endometrial. HE, aumento de 40x.

Parâmetros morfológicos como número de glândulas, grau de dilatação cística e celularidade do estroma variaram independentemente do diagnóstico histopatológico, sugerindo que a heterogeneidade dessas alterações pode estar associada a outros fatores, como estágio do ciclo estral, estímulo hormonal, idade e condições clínicas prévias das cadelas, como também observado por Pors et al. (2023), que relataram significativa variabilidade histológica em lesões endometriais humanas influenciadas por fatores hormonais e idade reprodutiva. A influência hormonal é especialmente relevante, pois sabe-se que estrogênios e progesterona modulam diretamente tanto a resposta inflamatória quanto a deposição de colágeno no útero, interferindo na integridade da matriz extracelular (Camozzi et al., 2023; Xiang et al., 2024; Santana et al., 2024).

As limitações deste estudo devem ser destacadas. O número reduzido de amostras ( $n = 13$ ) compromete a robustez estatística das análises. Além disso, a ausência de padronização nos arquivos histopatológicos, quanto ao estágio da doença, momento do ciclo estral, raça, porte, idade e manejo clínico dos animais, acrescenta variabilidade que dificulta a comparação entre os grupos. Essa heterogeneidade é uma característica comum em estudos retrospectivos com tecidos arquivados, conforme também relatado na literatura (Sarandy, 2021).

Ainda assim, os achados reforçam a importância da remodelação da matriz extracelular como componente central das lesões uterinas, tanto inflamatórias quanto

hiperplásicas. A distribuição e a orientação das fibras colágenas oferecem pistas valiosas sobre o microambiente tecidual e a atividade biológica do estroma, podendo indicar processos ativos de regeneração, fibrose ou cicatrização, como demonstrado por técnicas ópticas de alta resolução que evidenciam a desorganização progressiva das fibras colágenas durante alterações fisiológicas no útero (Ramella-Roman et al., 2024). Em estudos futuros, a inclusão de marcadores moleculares, como proteínas exossomais (Zhou et al., 2021), pode fornecer informações adicionais sobre os mecanismos celulares envolvidos na remodelação da matriz, contribuindo para uma compreensão mais profunda das lesões uterinas em fêmeas caninas.

#### **4. CONCLUSÕES**

Este estudo evidenciou que, embora não tenham sido observadas diferenças estatísticas significativas nas quantificações de colágeno tipo I e III entre os grupos analisados, a avaliação morfológica revelou padrões distintos de remodelação tecidual. Casos de piometra mostraram maior presença de colágeno tipo III e infiltrado neutrofílico, sugerindo inflamação aguda, enquanto os casos de hiperplasia apresentaram maior colágeno tipo I e infiltrado linfoplasmocitário leve, compatíveis com inflamação crônica.

A correlação positiva entre a densidade e o alinhamento das fibras colágenas sugere que a organização do estroma é ativa e orientada, mesmo diante de processos inflamatórios. Apesar das limitações, como o número reduzido de amostras e a heterogeneidade dos dados clínicos, os achados reforçam o papel central da matriz extracelular na resposta uterina. Pesquisas futuras que incorporem marcadores moleculares, como exossomos, poderão aprofundar a compreensão dos mecanismos envolvidos na remodelação do tecido uterino em cadelas.

## REFERÊNCIAS

ADU-BONSAFFOH, K.; BAYOR, F. Pathophysiological mechanisms of maternal pro-inflammatory mediators in preterm labour. *Journal of Physiology and Pathophysiology*, vol. 13, n. 1, p. 1-16, 2021.

DOI: <https://doi.org/10.5897/JPAP2021.0140>

BODDUPALLI, A. Study of collagen organization in cell-laden hydrogels and animal tissue samples for effective tissue engineering scaffolds. *Dissertação (mestrado)*. Iowa State University. Ames, Iowa, p. 238. 2018.

BIAN, Y.; CHANG, X.; HU, X.; LI, B.; SONG, Y.; HU, Z.; WANG, K.; WAN, X.; LU, W. Exosomal CTHRC1 from cancer-associated fibroblasts facilitates endometrial cancer progression via ITGB3/FAK signaling pathway. *Heliyon*, vol. 10, n. 16, 2024

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e35727>

BJÖRK, E.; ISRAELSSON, P.; NAGAEV, I.; NAGAEVA, O.; LUNDIN, E.; OTTANDER, U.; MINCHEVA-NILSSON, L. Endometriotic Tissue-derived Exosomes Downregulate NKG2D-mediated Cytotoxicity and Promote Apoptosis: Mechanisms for Survival of Ectopic Endometrial Tissue in Endometriosis. *J Immunol*, vol. 213, n. 5, p. 567-576, 2024.

DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.2300781>

BONAVINA, G.; MAMILLAPALLI, R.; KRIKUN, G.; ZHOU, Y.; GAWDE, N.; TAYLOR, S. Bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomes shuttle microRNAs to endometrial stromal fibroblasts that promote tissue proliferation /regeneration/ and inhibit differentiation. *Stem Cell Res Ther*, vol. 15, n. 1, 2024

DOI: <https://doi.org/10.1186/s13287-024-03716-1>

CAMOZZI, M. G. M.; SATURNINO, K.C.; MACHADO, M.R.F.; GASTAL, G.D.A.; MOREIRA, C.N.; ALVES, B. G. Cystic endometrial hyperplasia-pyometra syndrome impairs the preantral follicle reserve in domestic bitches (*Canis familiaris*). *Reprod Biol*, vol. 23, n. 4, 2023.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.repbio.2023.100813>

CHAPMAN, M.; MUKUND, K.; SUBRAMANIAM, S.; LIEBER, R. Multiple Specific Cell Types Produce Type 1 Collagen During Skeletal Muscle Fibrosis. *The FASEB Journal*, vol. 30, 2016.

DOI: [https://doi.org/10.1096/fasebj.30.1\\_supplement.1245.5](https://doi.org/10.1096/fasebj.30.1_supplement.1245.5)

CHEN, Y.; ZHENG, S.; ZHAO, X.; ZHANG, Y.; YU, S.; WEI, J. Unveiling the protective effects of BMSCs/anti-miR-124-3p exosomes on LPS-induced endometrial injury. *Funct Integr Genomics*, vol. 24, n. 2, 2024.

DOI: <https://doi.org/10.1007/s10142-024-01303-4>

COELHO, P.G.B.; CONCEIÇÃO, L.G.; BEDOYA, S.A.O.; SOUZA, M.V.; VILORIA, M.I.V. Evaluation of dermal collagen stained with picosirius red and examined under polarized light microscopy. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 93, n. 3, p. 415–418, 2018.

JIANG, K.; CHEN, Y.; WANG, K.; YANG, L.; SUN, S.; YANG, J.; LI, X. miR-331-depleted exosomes derived from injured endometrial epithelial cells promote macrophage activation during endometritis. **Int J Biol Macromol**, vol. 279, n. 4, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.134967>

KARABULUT, T. S. F. T.; SÖNMEZ, K. Evaluation of tissue trauma and healing on the basis of tumour necrosis factor-alpha, interleukin-6, and C-reactive protein in peripheral blood during and after pyometra in bitches. **Med. Weter**, vol. 74, n. 10, p. 658-664, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.21521/mw.6122>

KOH, Y. Q.; PEIRIS, H. N.; VASWANI, K.; ALMUGHLLIQ, F. B.; MEIER, S.; BURKE, C. R.; ROCHE, J. R.; REED, C. B.; MITCHELL, M. D. Exosomes from dairy cows of divergent fertility; Action on endometrial cells. **J Reprod Immunol**, vol. 137, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jri.2019.102624>

LANSUBSAKUL, N.; SIRINARUMITR, K.; SIRINARUMITR, T.; IMSILP, K.; WATTANANIT, P.; SUPANRUNG, S.; LIMMANONT, C. First report on clinical aspects, blood profiles, bacterial isolation, antimicrobial susceptibility, and histopathology in canine pyometra in Thailand. **Veterinary World**, vol. 15, n. 7, p. 1804–1813, 2022. DOI: <https://doi.org/10.14202/vetworld.2022.1804-1813>

LI, Z.; BRALIE, K. M. How Cross-Linking Mechanisms of Methacrylated Gellan Gum Hydrogels Alter Macrophage Phenotype. **ACS Applied Bio Materials**, vol. 2, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsabm.8b00562>

LI, J.; PAN, Y.; YANG, J.; WANG, J.; JIANG, Q.; DOU, H.; HOU, Y. Tumor necrosis factor- $\alpha$ -primed mesenchymal stem cell-derived exosomes promote M2 macrophage polarization *via* Galectin-1 and modify intrauterine adhesion on a novel murine model. **Front Immunol**, vol. 13, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.945234>

LIANG, L.; LIU, H.; WANG, S. Placental mesenchymal stem cell-derived exosomes treat endometrial injury in a rat model of intrauterine adhesions. **Mol Genet Genomics**, vol. 300, n. 1, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00438-025-02241-x>

LIN, J.; Wang, Z.; Huang, J.; Tang, S.; Saiding, Q.; Zhu, Q.; Cui, W. Microenvironment-Protected Exosome-Hydrogel for Facilitating Endometrial Regeneration, Fertility Restoration, and Live Birth of Offspring. **Small**, vol. 17, n. 11, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1002/sml.202007235>

LIN, S. C.; LI, W. N.; LIN, S. C.; HOU, H. T.; TSAI, Y. C.; LIN, T. C.; WU, M. H.; TSAI, S. J. Targeting YAP1 ameliorates progesterone resistance in endometriosis. **Hum Reprod**, vol. 38, n. 6, p. 1124-1134, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1093/humrep/dead071>

LIU, Y.; ZHANG, S.; XUE, Z.; ZHOU, X.; TONG, L.; LIAO, J.; PAN, H.; ZHOU, S. Bone mesenchymal stem cells-derived miR-223-3p-containing exosomes ameliorate

lipopolysaccharide-induced acute uterine injury via interacting with endothelial progenitor cells. **Bioengineered**, vol. 12, n. 2, p. 10654-10665, 2021.

DOI: <https://doi.org/10.1080/21655979.2021.2001185>

MA, H.; WENG, F.; TONG, X.; LI, H.; YAO, Y.; YUAN, J. LncRNA TRPM2-AS promotes endometrial carcinoma progression and angiogenesis via targeting miR-497-5p/SPP1 axis. **Cell Mol Biol Lett**, vol. 29, n. 1, 2024.

DOI: <https://doi.org/10.1186/s11658-024-00612-7>

PORS, J.; WEI, J. J.; RYAN, E.; LONGACRE, T. A. The Evolving Spectrum of Endometrial Glandular Proliferations With Corded and Hyalinized Features. **The American Journal of Surgical Pathology**, vol. 47, n. 9, p. 1067-1076, 2023.

DOI: <https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000002078>

OJHA, A. K.; RAJASEKARAN, R.; HANSDA, A. K.; CHOUDHURY, P.; BISWAS, A.; SHARMA, S.; CHAUDHURI, P. P.; DOGRA, N.; GOSWAMI, R.; CHAUDHURY, K.; DHARA, S. Biochemical and immunomodulatory insights of extracellular matrix from decellularized human whole cervix: recellularization and *in vivo* ECM remodeling interplay. **Biofabrication**, vol. 16, n. 3, 2024.

DOI: <https://doi.org/10.1088/1758-5090/ad4393>

Ramella-Roman, J. C.; Mahendroo, M.; Raoux, C.; Latour, G.; Schanne-Klein, M. C. Quantitative Assessment of Collagen Remodeling during a Murine Pregnancy. **ACS Fotônica**, vol. 11, 2024.

DOI: <https://doi.org/10.1021/acsp Photonics.4c00337>

ROSA, L. C.; SCALES, H. E.; MAKHIJA, S.; SUTHERLAND, K.; BENSON, R. A.; BREWER, J. M.; GARSIDE, P. Revealing stromal and lymphoid sources of *Col3a1*-expression during inflammation using a novel reporter mouse. **Discov Immunol**, vol. 1, n. 1, 2021.

DOI: <https://doi.org/10.1093/discim/kyac008>

SANTANA, C. H.; SOUZA, M. F.; SILVA, L. A.; SOUZA, L. D. R.; SANTANA, A. M.; OLIVEIRA, A. R.; PAIXÃO, T. A.; SANTOS, R. L. Predisposing Factors for Pseudoplacental Endometrial Hyperplasia or Cystic Endometrial Hyperplasia in Dogs and Their Association with Pyometra. **Vet Sci**, vol. 12, n. 1, 2024.

DOI: <https://doi.org/10.3390/vetsci12010001>

SANTOS, M.; CORREIA-GOMES, C.; MARCOS, R.; SANTOS, A.; DE MATOS, A.; LOPES, C.; PEREIRA, P.D. Value of the Nottingham Histological Grading Parameters and Nottingham Prognostic Index in Canine Mammary Carcinoma. **Anticancer research**, v. 35, n.7, p.4219–27, 2015.

SANTOS, M.; CORREIA-GOMES, C.; SANTOS, A.; DE MATOS, A.; ROCHA, E.; LOPES, C.; PEREIRA, P.D. Nuclear pleomorphism: role in grading and prognosis of canine mammary carcinomas. **Veterinary Journal**, v. 200, n.3 p. 426–33, 2014.

SARANDY, T. B.; Caracterização histomorfológica e quantificação do colágeno tipo I e III do carcinoma mamário canino. Dissertação (mestrado). Universidade Federal Viçosa. Viçosa, p. 54. 2021.

SARIBAS, G. S.; OZOGUL, C.; TIRYAKI, M.; ALPASLAN, P. F.; HAMDEMIR, K. S. Effects of uterus derived mesenchymal stem cells and their exosomes on asherman's syndrome. **Acta Histochem**, vol. 122, n. 1, 2020.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2019.151465>

SHUAI, Q.; LIANG, Y.; XU, X.; HALBIYAT, Z.; WANG, X.; CHENG, J.; LIU, J.; HUANG, T.; PENG, Z.; WANG, L.; HE, S.; ZHAO, H.; LIU, Z.; XU, J.; XIE, J. Sodium alginate hydrogel integrated with type III collagen and mesenchymal stem cell to promote endometrium regeneration and fertility restoration. **Int J Biol Macromol**, vol. 253, 2023.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.127314>

SONG, Y.; YE, L.; TAN, Y.; TONG, H.; LV, Z.; WAN, X.; LI, Y. Therapeutic exosomes loaded with SERPINA5 attenuated endometrial cancer cell migration via the integrin  $\beta$ 1/FAK signaling pathway. **Cell Oncol (Dordr)**, vol. 45, n. 5, p. 861-872, 2022.

DOI: <https://doi.org/10.1007/s13402-022-00687-4>

SONG, J.; LI, M.; TAO, Y.; LI, Y.; MAI, C.; ZHANG, J.; YAO, L.; SHI, S.; XU, J. Enhanced myofibroblast differentiation of eMSCs in intrauterine adhesions. **Stem Cell Res Ther**, vol. 16, n. 1, 2025.

DOI: <https://doi.org/10.1186/s13287-025-04183-y>

SUN, H.; LI, D.; YUAN, M.; LI, Q.; LI, N.; WANG, G. Eutopic stromal cells of endometriosis promote neuroangiogenesis via exosome pathway. **Biol Reprod**, vol. 100, n. 3, p. 649-659, 2019.

DOI: <https://doi.org/10.1093/biolre/iyoy212>

TARAVAT, M.; ASADPOUR, R.; JOZANI, R. J.; FATTAHI, A.; KHORDADMEHR, M. Enhanced anti-inflammatory effect of Rosmarinic acid by encapsulation and combination with the exosome in mice with LPS-induced endometritis through suppressing the TLR4-NLRP3 signaling pathway. **J Reprod Immunol**, vol. 159, 2023.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jri.2023>

WANG., X.; YAO, X.; XIE, T.; CHANG, Z.; GUO, Y.; NI, H. Exosome-derived uterine miR-218 isolated from cows with endometritis regulates the release of cytokines and chemokines. **Microb Biotechnol**, vol. 13, n. 4, p. 1103-1117, 2020.

DOI: <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13565>

WANG, B.; LI, L.; YU, R. Exosomes From Adipose-Derived Stem Cells Suppress the Progression of Chronic Endometritis. **Cell Transplant**, vol. 32, 2023.

DOI: <https://doi.org/10.1177/09636897231173736>

WOŻNA-WYSOCKA, M.; RYBSKA, M.; BŁASZAK, B.; JAŚKOWSKI, B. M.; KULUS, M.; JAŚKOWSKI, J. M. Morphological changes in bitches endometrium affected by cystic endometrial hyperplasia - pyometra complex - the value of histopathological examination. **BMC Vet Res**, vol 17, n. 1, 2021.

DOI: <https://doi.org/10.1186/s12917-021-02875-0>

WU, D.; LU, P.; MI, X.; MIAO, J. Exosomal miR-214 from endometrial stromal cells inhibits endometriosis fibrosis. **Mol Hum Reprod**, vol. 24, n. 7, p. 357-365, 2018.

DOI: <https://doi.org/10.1093/molehr/gay019>

XIANG H.; BAO, C.; CHEN, Q.; GAO, Q.; WANG, N.; GAO, Q.; MAO, L. Extracellular vesicles (EVs)' journey in recipient cells: from recognition to cargo release. **J Zhejiang Univ Sci B**, vol. 25, n. 8, p. 633-655, 2024.

DOI: <https://doi.org/10.1631/jzus.B2300566>

XU, C.; JIANG, C.; LI, Z.; GAO, H.; XIAN, J.; GUO, W.; HE, D.; PENG, X.; ZHOU, D.; LI, D. Exosome nanovesicles: biomarkers and new strategies for treatment of human diseases. **MedComm**, vol. 5, n. 8, 2024.

DOI: <https://doi.org/10.1002/mco2.660>

ZHANG, A.; WANG, G.; JIA, L.; SU, T.; ZHANG, L. Exosome-mediated microRNA-138 and vascular endothelial growth factor in endometriosis through inflammation and apoptosis via the nuclear factor- $\kappa$ B signaling pathway. **Int J Mol Med**, vol. 43, n. 1, p. 358-370, 2019.

DOI: <https://doi.org/10.3892/ijmm.2018.3980>

ZHANG, N.; WANG, Y.; LIU, H.; SHEN, W. Extracellular vesicle encapsulated microRNA-320a inhibits endometrial cancer by suppression of the HIF1 $\alpha$ /VEGFA axis. **Exp Cell Res**, vol. 394, n. 21, 2020.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2020.112113>

ZHANG, Y.; CHANG, X.; WU, D.; DENG, M.; MIAO, J.; JIN, Z. Down-regulation of Exosomal miR-214-3p Targeting CCN2 Contributes to Endometriosis Fibrosis and the Role of Exosomes in the Horizontal Transfer of miR-214-3p. **Reprod Sci**, vol. 28, n. 3, p. 715-727, 2021.

DOI: <https://doi.org/10.1007/s43032-020-00350-z>

ZHANG, X.; ZHANG, S.; QI, J.; ZHAO, F.; LU, Y.; LI, S.; WU, S.; LI, P.; TAN, J. PDGFBB improved the biological function of menstrual blood-derived stromal cells and the anti-fibrotic properties of exosomes. **Stem Cell Res Ther**, vol. 14, n. 1, 2023.

DOI: <https://doi.org/10.1186/s13287-023-03339-y>

ZEHORAI, E.; GROSS, LEV, T.; SHIMSHONI, E.; HADAS, R.; ADIR, I.; GOLANI, O.; MOLODIJ, G.; EITAN, R.; KADLER, K.; KOLLET, O.; NEEMAN, M.; DEKEL, N.; SOLOMONOV, I.; SAGI, I. Enhancing uterine receptivity for embryo implantation through controlled collagenase intervention. **Life Sci Alliance**, vol. 7, n. 10, 2024. DOI: <https://doi.org/10.26508/lsa.202402656>

ZHOU, W. J.; ZHANG, J.; XIE, F.; WU, J. N.; YE, J. F.; WANG, J.; WU, K.; LI, M. Q. CD45RO-CD8<sup>+</sup> T cell-derived exosomes restrict estrogen-driven endometrial cancer development via the ER $\beta$ /miR-765/PLP2/Notch axis. **Theranostics**, vol. 11, n. 11, 2021.

DOI: <https://doi.org/10.7150/thno.58337>