

BRUNO BRACCO DONATELLI MURO

**Efeitos do altrenogest sobre o ambiente uterino e desenvolvimento
embrionário na fase inicial da gestação de fêmeas suínas**

São Paulo
2018



BRUNO BRACCO DONATELLI MURO

**Efeitos do altrenogest sobre o ambiente uterino e desenvolvimento
embrionário na fase inicial da gestação de fêmeas suínas**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Departamento:

Reprodução Animal

Área de concentração:

Reprodução Animal

Orientador:

Prof. Dr. André Furugen Cesar de Andrade

São Paulo
2018

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virgínie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 3733
FMVZ

Muro, Bruno Bracco Donatelli
Efeitos do altrenogest sobre o ambiente uterino e desenvolvimento embrionário na fase inicial da gestação de fêmeas suínas / Bruno Bracco Donatelli Muro. – 2018.
51 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Reprodução Animal, São Paulo, 2018.

Programa de Pós-Graduação: Reprodução Animal.
Área de concentração: Reprodução Animal.
Orientador: Prof. Dr. André Furugen Cesar de Andrade.

1. Progesterona. 2. Altrenogest. 3. Embriões. 4. Útero. 5. Suínos. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela bibliotecária Sandra Regina Toledo, CRB-8/8146, da FMVZ/USP.

**CERTIFICADO**

Certificamos que a proposta intitulada " Efeitos do Altrenogest sobre o ambiente uterino e desenvolvimento embrionário na fase inicial da gestação de fêmeas suínas ", protocolada sob o CEUA nº 1168030817 (ID 004020), sob a responsabilidade de **André Furugen César de Andrade e equipe; Bruno Bracco Donatelli Muro** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 23/08/2017.

We certify that the proposal " Effects of Altrenogest on the uterine environment and embryonic development in early gestation of pigs ", utilizing 30 Swines (30 females), protocol number CEUA 1168030817 (ID 004020), under the responsibility of **André Furugen César de Andrade and team; Bruno Bracco Donatelli Muro** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 08/23/2017.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa](#)

Vigência da Proposta: de [03/2017](#) a [09/2018](#) Área: [Reprodução Animal](#)

Origem: [Animais provenientes de outros projetos](#)

Espécie: [Suínos](#)

sexo: [Fêmeas](#)

idade: [200 a 260 dias](#)

N: [30](#)

Linhagem: [Híbrido comercial](#)

Peso: [130 a 170 kg](#)

Local do experimento: Granja Experimental de Suínos pertencente ao Núcleo de Pesquisa em Suínos da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

São Paulo, 05 de dezembro de 2018

Profa. Dra. Anneliese de Souza Traldi
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

Roseli da Costa Gomes
Secretária

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: Muro, Bruno Bracco Donatelli

Título: Efeitos do altrenogest sobre o ambiente uterino e desenvolvimento embrionário na fase inicial da gestação de fêmeas suínas

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família: meus pais, meu irmão, minha tia e meu primo.

Palavras não conseguem definir sentimentos.

Deixo aqui meu mais belo e sincero sentimento a vocês.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais por todo o esforço que fizeram durante toda a vida para que eu tivesse as melhores condições de buscar meus sonhos. Por me fazerem sentir a pessoa mais especial do mundo a cada encontro. Repito, é impossível definir meus sentimentos em palavras. À vocês tudo que há de melhor no mundo.

Aos meus irmãos Rafael e Felipe por me trazerem paz, amor, ternura e encher meu coração de bons sentimentos a cada lembrança e cada momento compartilhado. Irmão não se escolhe, mas se eu pudesse, escolheria vocês de novo.

À minha tia lucinha por dar o amor incondicional e por fazer o papel de avó, mãe, amiga, pai... todos juntos se pudesse.

À minha companheira Rafaella que não mede esforços para estar do meu lado nos bons e maus momentos sempre enchendo minha vida de poesia.

Aos meus amigos Renan, Victor, João, Mariana, Maurício e Murilo por mostrarem, há mais de 10 anos, o valor de uma amizade verdadeira. Aos meus amigos Diego, Carijó e Biroca pelas infinitas discussões que me engrandecem como veterinário e como pessoa e por torcerem sempre pelo meu sucesso. Aos meus amigos Pedro, José, Carlos Eduardo e Alexandre que dividiram comigo todos os desafios e bonanças da graduação e por serem meus veterinários conselheiros.

À todos os meus colegas do grupo de pesquisa em suínos Mariana, Cristian, Denis, Maitê, Simone, Gisele, Ana, Marina, Ana Carolina e Naira que me auxiliaram muito durante todo meu mestrado e dividiram comigo momentos de descontração.

Ao meu orientador, André Furugen Cesar de Andrade, pela oportunidade, orientação e principalmente, pela confiança depositada em mim nos mais de 4 anos de convívio.

À todos os funcionários da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de São Paulo em especial Fabinho e Chiquinho que se dedicam para melhorar nossas condições de estudos e cuidam, com amor, dos animais que estão a nossa disposição para ensino e pesquisa

Ao departamento de Reprodução Animal pela oportunidade e esforços para fazer ensino e pesquisa de excelência

Aos secretários da pós-graduação, Harumi e Clayton, que me guiaram durante toda a jornada da pós-graduação e não negavam o mínimo esforço em qualquer telefonema

À todos meus professores pela dedicação e ensinamentos

À Universidade de São Paulo e à sociedade civil paulista pela oportunidade de uma formação acadêmica de alta qualidade e gratuita.

Aos animais que participaram desse experimento. Que nossa prioridade, como médicos veterinários, seja sempre melhorar as condições de vida dos animais, independente de sua finalidade.

Aos meus cãopaneiros Frida e Bauer por me lembrarem todos os dias que não precisamos de palavras para expressar nossos sentimentos. Mais vale um rabo abanando que palavras vazias.

À FAPESP: processos nº 2017/00290-0 e 2018/04466-8, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)

EPÍGRAFE

Quero viver enquanto estiver acesa, em mim, a capacidade de me comover diante da beleza.

Essa capacidade de sentir alegrias é a essência da vida.

(Rubem Alves)

RESUMO

MURO, B. B. D. **Efeitos do altrenogest sobre o ambiente uterino e desenvolvimento embrionário na fase inicial da gestação de fêmeas suínas** 2018. 51 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

A progesterona desempenha uma função de extrema importância para o desenvolvimento embrionário inicial, por meio da regulação do ambiente uterino no período prévio à adesão dos embriões ao endométrio. Nesse contexto o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos da suplementação com progesterona ou progestágeno durante a fase inicial da gestação sobre o ambiente uterino e desenvolvimento embrionário de suínos, bem como seus efeitos no desempenho da leitegada nascida. Foram realizados dois experimentos. No experimento 1 utilizou-se 40 porcas e 28 marrãs que no 6° dia de gestação foram distribuídas em um dos três grupos experimentais: fêmeas suplementadas com 20 mg de altrenogest (Regumate®) do 6° ao 12° dia de gestação (RU; n = 23); fêmeas suplementadas com 2,15 mg/kg de progesterona de longa ação (Sincrogest®), injeção única no 6° dia de gestação (PG; n = 24); fêmeas não suplementadas (CON; n = 21). Esse experimento foi delineado de maneira inteiramente casualizada em um arranjo fatorial, sendo que a categoria (marrã ou porca) foi considerada fator 1 e os grupos (CON, RU e PG) fator 2. 18 fêmeas foram eutanasiadas no 13° dia de gestação, e 50 fêmeas no 28° dia de gestação. Foram analisados: taxa de prenhez, taxa de ovulação, sobrevivência embrionária, tamanho e peso de embriões e útero, volume e peso de corpos lúteos, volume das vesículas embrionárias, dosagem sérica de progesterona e 17β - estradiol, morfometrias glandular e de epitélio luminal do uterino. No experimento 2 foram utilizadas 75 matrizes, que no 6° dia de gestação foram alocadas de maneira inteiramente casualizada em um dois grupos: fêmeas suplementadas com 20 mg de altrenogest (Matrix®) do 6° ao 12° dia de gestação (ALT; n = 36); fêmeas não suplementadas

(CTR; n = 36). Analisadas: taxa de prenhez, período gestacional, peso médio e homogeneidade da leitegada, número de leitões mumificados, natimortos e nascidos vivos, quantidade de leitões nascidos com menos de 800 gramas. Não houve influência dos tratamentos sobre a taxa de prenhez e a sobrevivência embrionária foi prejudicada apenas para marrãs do grupo RU. Para o desenvolvimento embrionário os resultados divergiram entre as categorias, as marrãs do grupo CON apresentaram embriões maiores e mais pesados quando comparados aos grupos suplementados, bem como vesículas embrionárias maiores. Para as porcas o grupo RU apresentou embriões maiores e mais pesados. De maneira geral as suplementações com progesterona ou progestágeno estimularam o crescimento do epitélio glandular aos 13 dias de gestação, mas não tiveram efeito sobre epitélio luminal. Já aos 28 dias de gestação o efeito da estimulação foi apenas observado para marrãs do grupo PG. Os tratamentos estimularam também o crescimento dos corpos lúteos que foram maiores e mais pesados para os grupos suplementados. Em relação ao desempenho da leitegada, analisado no experimento 2, não houve efeito de tratamento para nenhuma das variáveis analisadas. A suplementação de progesterona/progestágeno a partir do 6° dia de gestação estimulou o crescimento do epitélio glandular uterino e afetou o desenvolvimento embrionário inicial, mas não exerceu efeito significativo sobre o desempenho da leitegada.

PALAVRAS-CHAVE: Progesterona. Altrenogest. Embriões. Útero. Suínos

ABSTRACT

MURO, B. B. D. **Effects of altrenogest on uterine environment and embryo development during early gestation of pigs** 2018. 51 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

Progesterone plays a role of extreme importance for early embryonic development by regulating the uterine environment in the period prior to the adhesion of the embryos to the endometrium. In this context, the objective of the present study was to evaluate the effects of progesterone or progestogen supplementation during early gestation on the uterine environment and embryo development of pigs, as well as their effects on litter performance. Two experiments were carried out. In the experiment 1, 40 sows and 28 gilts were used, which were distributed in one of the three experimental groups: females supplemented with 20 mg altrenogest (Regumate®) from the 6th to the 12th day of gestation (RU; n = 23); females supplemented with 2.15 mg / kg long acting progesterone (Sincrogest®), single injection at 6th day of gestation (PG; n = 24); females not supplemented (CON; n = 21). This experiment was completely randomized in a factorial arrangement, with the category (gilt or sow) being considered as factor 1 and the groups (CON, RU and PG) factor 2. 18 females were euthanized on the 13th day of gestation, and 50 females on the 28th day of gestation. Pregnancy rate, ovulation rate, embryo survival, embryo and uterus size and weight, volume and weight of corpora lutea, volume of embryonic vesicles, serum progesterone and 17 β - estradiol concentrations, morphometric of uterine glandular epithelium and uterine luminal epithelium. In the experiment 2, 75 sows were used, which at the 6th day of gestation were allocated in a randomized manner in one of two groups: females supplemented with 20 mg of altrenogest (Matrix®) from 6 to 12 days of gestation (ALT; n = 36); females not supplemented (CTR; n = 36). The variables analyzed were: pregnancy rate, gestation length, average of

litter weight, within-litter variation, number of mummified, stillborn and live born piglets, number of piglets born with less than 800 grams. There was no influence of treatments on the pregnancy rate and embryo survival was impaired only for gilts in the RU group. For embryonic development the results differed among the categories, the gilts of the CON group had larger and heavier embryos when compared to the supplemented groups, as well as larger embryonic vesicles. For the sows the RU group presented larger and heavier embryos. In general, progesterone or progestogen supplementation stimulated the growth of the glandular epithelium at 13 days of gestation, but had no effect on luminal epithelium. However, on day 28 of gestation the stimulatory effect was only observed for gilts of the PG group. Treatments also stimulated the growth of corpora lutea that were larger and heavier for the supplemented groups (RU and PG). Regarding the performance of the litter, analyzed in experiment 2, there was no treatment effect for any of the variables analyzed. In conclusion, Progesterone / progestogen supplementation from day 6 of gestation affected the uterine glandular epithelium area, and early embryonic development, but did not have a significant effect on the litter performance.

Keywords: Progesterone. Altrenogest. Embryos. Uterus. Pigs

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Concentrações de progesterona em função do período gestacional para cada um dos grupos.	38
Figura 2: Concentração de progesterona dividido pelo número de CL encontrados (P4/CL) em função do tempo para cada uma das categorias.	38
Figura 3: Concentração média de progesterona e P4/CL em função do tempo	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Perdas embrionárias e desenvolvimento embrionário de fêmeas suínas suplementadas com progesterona ou altrenogest durante a fase inicial da gestação	33
Tabela 2: Influência da suplementação de progesterona ou altrenogest na fase inicial da gestação sobre o epitélio glandular de fêmeas suínas abatidas com 13 e 28 dias de gestação	35
Tabela 3: Concentrações séricas de progesterona e 17β - estradiol e desenvolvimento luteínico de fêmeas suínas suplementadas com progesterona ou altrenogest durante a fase inicial da gestação.....	37
Tabela 4: Desempenho produtivo da matriz e da leitegada nascida de fêmeas suplementadas diariamente com altrenogest do 6° ao 12° dia de gestação	39

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	18
2. ARTIGO: Efeitos da suplementação com progestágeno ou progesterona durante a fase inicial da gestação sobre o ambiente uterino, desenvolvimento embrionário e luteínico de marrãs e porcas	22
2.1 INTRODUÇÃO	22
2.2 MATERIAIS E MÉTODOS	23
2.2.1 Experimento 1.....	23
2.2.1.1 Animais, alojamento e dieta.....	23
2.2.1.2 Delineamento experimental	24
2.2.1.3 Taxa de ovulação, taxa de prenhez e sobrevivência embrionária.....	24
2.2.1.4 Medidas embrionárias e Luteínicas	25
2.2.1.5 Dosagens de progesterona e 17 β -estradiol séricos	25
2.2.1.6 Densidade glandular e Morfometria de epitélios luminal e glandular	26
2.2.1.7 Análise estatística.....	27
2.2.2 Experimento 2.....	27
2.2.2.1 Animais e delineamento experimental.....	27
2.2.2.2 Desempenho produtivo da matriz e da leitegada	28
2.2.2.3 Análise estatística.....	28
2.3 RESULTADOS	29
2.3.1 Experimento 1.....	29
2.3.1.1 Taxa de ovulação, taxa de prenhez e sobrevivência embrionária.....	29
2.3.1.2 Medidas Luteínicas e embrionárias	29
2.3.1.3 Densidade glandular e Morfometria de epitélios luminal e glandular	30
2.3.1.4 Concentrações de progesterona e 17 β -estradiol séricos	31
2.3.2 Experimento 2.....	31
2.3.2.1 Desempenho produtivo	31
2.4 DISCUSSÃO	39
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44

1. INTRODUÇÃO GERAL

Em todas as espécies de mamíferos o início da gestação é, inquestionavelmente, a sua fase mais crítica, uma vez que concentra um grande número de episódios cruciais para o desenvolvimento embrionário em curto espaço de tempo tais como: alta acreção proteica, alto requerimento energético e aumento do metabolismo dos embriões (MORRIS; DISKIN 2008). O desenvolvimento embrionário inicial depende de uma sinalização integrada entre ovários, útero e conceptos de maneira a promover uma perfeita sincronia entre ambiente uterino e crescimento/diferenciação dos conceptos (BAZER et al., 1982; KRIDL et al., 2016). No entanto, as fêmeas suínas modernas, mais notadamente os fenótipos ocidentais, apresentam uma heterogeneidade no desenvolvimento embrionário o qual resulta em prejuízos produtivos (POPE, 1994; GEISERT; SCHMITT, 2002). O período que mais facilmente se pode observar essa dissemelhança no desenvolvimento embrionário é entre 11 e 12 dias de gestação; nessa fase o concepto suíno atinge um diâmetro de 10 mm e inicia o processo de alongação. No entanto, nesse mesmo período pode haver embriões com menos de 7 mm de diâmetro que embora possam se alongar, apresentam mais de 8 horas de atraso em relação aos embriões mais desenvolvidos. Esse atraso resulta em menores taxas de alongação com conseqüente prejuízo no ganho de superfície de contato dos embriões menos desenvolvido com o útero podendo resultar em leitegadas menos homogêneas, leitões de baixo peso ou até mesmo a morte dos embriões (GEISERT; SCHMITT, 2002). Os fatores que levam ao aumento da diversidade embrionária na espécie suína ainda não estão completamente elucidados. Uma das possíveis causas estaria relacionada a assincronia na maturação oocitária e variações no tempo de ovulação dentro de um grupo de folículos antrais em desenvolvimento (POPE et al., 1990; POPE, 1994). No entanto, exames ultrassonográficos dos ovários por via transretal, objetivando detectar o momento da ovulação, demonstraram que variações entre 1 e 4 horas

no tempo de ovulação não possuem relação à diversidade embrionária (SOEDE et al., 1992). Em contrapartida, outros estudos demonstraram que o tempo de ovulação pode durar entre 1 e 9 horas e, muito embora a grande maioria dos folículos sejam ovulados dentro de um curto período de tempo, há alguns (entre 1 e 4) que ovulam mais tardiamente e estes geram parte dos embriões com atraso de desenvolvimento (XIE et al., 1990a; 1990b; POPE, 1994). Portanto, variações no tempo de ovulação explicam em parte a diversidade no desenvolvimento embrionário, mas outros fatores, possivelmente, devem contribuir para esse fenômeno.

A interação entre endométrio e embriões em desenvolvimento é essencial para promover um ambiente sinérgico de sinalização endócrina responsável pelo adequado desenvolvimento embrionário (GEISERT; YELICH, 1997; KA et al., 2000). Nesse contexto, a progesterona desempenha um papel central, transformando o endométrio de uma fêmea gestante em um tecido secretor que é determinante para o desenvolvimento embrionário e placentação (SPENCER et al., 2004). A progesterona influencia diretamente a produção, transporte e secreção de uma complexa mistura de moléculas (fatores de crescimento, citocinas, íons, aminoácidos, glicose e hormônios) denominada histotrofo, responsável por criar um ambiente específico para crescimento/desenvolvimento dos conceptos (BAZER et al., 2012; OKRASA et al., 2014; STEINHAUSER et al., 2016). O histotrofo, produzido e secretado pelos epitélios luminal e glandular, é especialmente importante para a espécie suína que tem como características (1) um período prolongado no qual os embriões se alongam antes da implantação e (2) uma placenta do tipo epiteliocorial, caracterizada por múltiplas camadas formando uma barreira que dificulta o transporte de substâncias dos vasos sanguíneos maternos para os embrionários (BAILEY et al., 2010; BAZER et al., 2012).

Fêmeas suínas da raça chinesa Meishan são alvo de muito estudo na área de reprodução e produção de suínos por apresentarem leitegadas mais numerosas e homogêneas

que as fêmeas ocidentais, com taxa de ovulação semelhantes (BAZER et al., 1991; VALLET et al., 1998; VONNAHME et al., 2002; PICKARD et al., 2003; GU et al., 2014). A expressão gênica no endométrio de fêmeas Meishan, próximo ao momento da implantação, é diferente de fêmeas suínas ocidentais (GU et al., 2014) e esses mecanismos levam ao aumento mais gradual na quantidade de proteínas do histotrofo que influenciam características marcantes do desenvolvimento de embriões de Meishan como: 1) taxa de alongação mais lenta, 2) menor quantidade de células trofoblásticas e 3) menor e mais sincrônica produção embrionária de 17β -estradiol. Esses fatores além de minimizarem os efeitos negativos da competição embrionária durante o período de implantação também reafirmam a importância das secreções uterinas para o desenvolvimento embrionário de suínos (BAZER et al., 1991; VONNAHME et al., 2002; PICKARD et al., 2003)

Outra característica marcante das fêmeas Meishan, quando comparadas com fenótipos ocidentais, são a presença de vesículas embrionárias menores e menor ocupação uterina (ASHWORTH et al., 1990; BIANSEN et al., 1998). Porém, essas características não afetam significativamente o peso dos leitões nascidos devido uma maior eficiência placentária. Fêmeas Meishan possuem maior densidade vascular em suas placentas e endométrio, principalmente na fase final da gestação (BIANSEN et al., 1998). Portanto, progressos na eficiência placentária e/ou na atividade secretora uterina das fêmeas ocidentais são necessários para aliar eficiência ao tamanho de suas vesículas e consequentemente alcançar maiores níveis de produtividade (GEISERT; SCHIMTT, 2002).

A suplementação de progesterona no início da gestação vem se mostrando uma ferramenta promissora a fim de melhorar o desempenho reprodutivo de ruminantes (BELTMAN et al. 2009; MORRIS; DISKIN 2008; LÓPES-GATIUS et al. 2004; CARTER et al. 2008; HUGENTOBLER et al. 2010). Quando feita entre os dias 5 e 9 da gestação de bovinos, a suplementação resultou em conceptos até 4 vezes maiores em comprimento

(MANN et al., 2006). Seguindo o mesmo silogismo, ovelhas que receberam injeções diárias de 25 mg de progesterona, iniciando 36 horas após a inseminação, produziram blastocistos 220% maiores quando comparadas ao grupo controle (SATTERFIELD et al. 2006).

Para a espécie suína os resultados da suplementação sobre a sobrevivência embrionária são conflitantes (JINDAL et al., 1997; YU et al., 1997, 1999; MAO; FOXCROFT, 1998; SOEDE et al., 2012). O período de suplementação e o momento da ovulação são, provavelmente, fatores que explicam a inconsistência dos resultados. Alterações nos níveis de progesterona antes do 6º dia de gestação pode interferir com a inibição de receptores de progesterona (PGR) no lúmen uterino e conseqüentemente afetar negativamente a sincronia útero-embrionária no momento do reconhecimento materno da gestação, resultando em prejuízos na taxa de prenhez e/ou tamanho da leitegada (MATHEW et al., 2011; SOEDE et al., 2012). Por outro lado, os resultados são bem mais consistentes em demonstrar efeitos positivos da suplementação de progesterona sobre o útero e endométrio como, por exemplo, estimular o desenvolvimento do epitélio luminal, aumentar a densidade vascular do endométrio, estimular genes essenciais para a síntese de PGE2, aumentar a quantidade de proteína total e PGI2 no lúmen uterino e aumentar o comprimento e peso do útero (BAILEY et al., 2010; VALLET et al., 1998; SZYMANSKA; BLITEK, 2016). Deste modo, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da suplementação de progesterona/progestógeno a partir do 6º dia de gestação sobre o (1) ambiente uterino, (2) desenvolvimento embrionário e (3) desenvolvimento dos corpos lúteos, bem como os efeitos no (4) desempenho produtivo da matriz e da leitegada.

2. ARTIGO: EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM PROGESTÁGENO OU PROGESTERONA DURANTE A FASE INICIAL DA GESTAÇÃO SOBRE O AMBIENTE UTERINO, DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO E LUTEÍNICO DE MARRÃS E PORCAS

2.1 INTRODUÇÃO

A vigorosa seleção genética ocorrida nas últimas décadas, objetivando a produção de fêmeas suínas com uma extraordinária capacidade de produzir leitegadas numerosas, resultou em uma consequente diminuição no peso e uniformidade dos leitões nascidos vivos, os quais, por sua vez, são fatores determinantes para o aumento da mortalidade pré-desmame, gerando um grande problema econômico e de bem-estar na produção de suínos (QUESNEL et al., 2008; KIRKDEN et al 2013; MUNS et al., 2016). Com o útero repleto de leitões, há uma consequente diminuição no tamanho das placentas, conduzindo à um protagonismo da eficiência placentária a fim de diminuir o número de leitões de baixo peso ao nascimento (BAXTER et al., 2008; ROOTWELT et al., 2013)

A progesterona coordena interações bioquímicas e moleculares que transformam o útero em um tecido essencialmente secretor na fase inicial da gestação (SPENCER et al., 2004). O histotrofo produzido e secretado essencialmente pelos epitélios luminal e glandular, sob influência da progesterona, é essencial para o desenvolvimento embrionário e placentação (BAILEY et al., 2010). A suplementação de progesterona na fase inicial da gestação é uma ferramenta eficiente para alterar a composição do histotrofo e aumentar o tamanho dos embriões de ruminantes (SATTFIELD et. al. 2006; CARTER et al. 2008; HUGENTOBLE et al. 2010). Para suínos, essa suplementação estimula genes relacionados a vascularização endometrial e produção de PGE₂, aumenta a quantidade total de proteína no histotrofo e aumenta o peso uterino (VALLET et al., 1998; SZYMANSKA; BLITEK, 2016). Esses efeitos sobre o endométrio de suínos aliado aos resultados positivos obtidos com

ruminantes indicam que a suplementação de progesterona pode ser eficaz em aumentar a eficiência útero-placentária. Sendo assim, os objetivos destes estudos foi avaliar os efeitos da suplementação de progesterona/progestágeno a partir do 6° dia de gestação sobre o (1) ambiente uterino, (2) desenvolvimento embrionário e (3) desempenho produtivo da matriz e da leitegada

2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com os padrões legais e éticos do Comitê de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ-USP) sob o protocolo número 1160030817

2.2.1 Experimento 1

2.2.1.1 Animais, alojamento e dieta

Foram utilizados 68 animais, 40 matrizes comerciais multíparas (Landrace x Large White) com ordem de parto entre 2 e 8 e 28 marrãs. A detecção de estro foi realizada 2 vezes ao dia (8:00 e 16:00) e todas as fêmeas foram inseminadas a cada 24 horas, a contar do momento de detecção do estro, com sêmen refrigerado de motilidade mínima de 80%. A ovulação foi calculada como ocorrida 48 horas após a entrada em estro e a partir desse dia considerou-se o dia 0 da gestação. As marrãs foram inseminadas com aproximadamente 240 dias de idade e 145 kg de peso corporal e as porcas foram inseminadas no estro subsequente ao período lactacional de 21 dias. Todos os animais foram alojados em gaiolas individuais e submetidos ao mesmo manejo sanitário e nutricional durante todo o período experimental. A dieta foi formulada para conter 2930 kcal EM/kg, 16% de proteína bruta e 0,6% de lisina total e foi fornecida duas vezes ao dia (7:00 e 13:00) totalizando 2,4 kg/dia.

2.2.1.2 Delineamento experimental

As fêmeas foram divididas entre os grupos de maneira inteiramente casualizada em um arranjo fatorial, sendo que a categoria (porca ou marrã) foi considerada como fator 1 e os grupos (CON, PG, RU) foram considerados fator 2. No 6° dia de gestação as fêmeas foram distribuídas em um dos três grupos experimentais: fêmeas suplementadas com 20 mg de altrenogest (Regumate® - MSD Saúde Animal, São Paulo, Brasil), via oral, do 6° ao 12° dia de gestação (RU; n = 23); fêmeas suplementadas com 2,15 mg/kg de progesterona de longa ação (Sincrogest® - Ourofino Saúde Animal, Ribeirão Preto, Brasil), via intramuscular, injeção única no 6° dia de gestação (PG; n = 24); fêmeas não suplementadas (CON; n = 21). Foram eutanasiados 6 animais de cada grupo (3 porcas e 3 marrãs) no 13° dia de gestação e o restante dos animais (RU = 17, PG = 18 e CON = 15) foram eutanasiados no 28° dia de gestação.

2.2.1.3 Taxa de ovulação, taxa de prenhez e sobrevivência embrionária

A eutanásia foi feita por eletronarcose seguida de sangria e o sistema reprodutivo dos animais eutanasiados com 13 e 28 dias foram coletados. Os ovários foram retirados e a soma dos corpos lúteos dos dois ovários foi considerada como taxa de ovulação (TO). Os cornos uterinos foram separados do mesométrio e a soma do comprimento dos cornos foi considerada como tamanho do útero (T_{ut13} e T_{ut28}). O peso do útero das fêmeas eutanasiadas com 13 e 28 dias também foi analisado (P_{ut13} e P_{ut28} , respectivamente). O P_{ut28} foi calculado após a retirada de todas as vesículas embrionárias.

A taxa de prenhez (TP) das fêmeas eutanasiadas com 13 dias foi analisada através da presença de embriões após lavagem de um dos cornos uterinos. Os cornos uterinos das fêmeas eutanasiadas com 28 dias foram abertos pelo lado anti-mesometrial e a taxa de prenhez foi analisada através da observação de vesículas embrionárias com a presença de embriões. As vesículas embrionárias foram retiradas individualmente do útero e os embriões

foram contados para determinação do número total de embriões (ET). Os embriões foram classificados como viáveis (EV) ou inviáveis de acordo com a sua aparência visual, como descrito por Van der Waaij et al., 2010 e Da Silva et al., 2016. Embriões eram considerados inviáveis quando tivessem líquido amniótico hemolisado, membranas embrionária absorvidas ou ambos ou quando havia evidências de implantação embrionária com a presença de estruturas placentárias ou embrionárias remanescentes. A sobrevivência embrionária (SE) foi calculada através da relação EV/ET e apresentada em porcentagem. A diferença entre a TO e o número de ET foi considerada como perda embrionária precoce (Pep) e o número de embriões inviáveis foi considerado como perda embrionária tardia (Pet) (Da Silva et al., 2016)

2.2.1.4 Medidas embrionárias e Luteínicas

Todas as fêmeas eutanasiadas no 28º dia de gestação tiveram seus ovários dissecados para retirada dos corpos lúteos (CL) que foram pesados individualmente (P_{CL28}). Os CL foram considerados como uma esfera para o cálculo do volume (V_{CL28}) e o diâmetro foi calculado através da média entre largura e comprimento de cada CL que foram medidos com paquímetro digital (Absolute Digimatic; Mitutoyo Sul Americana Ltda. São Paulo, Brasil).

Os embriões das fêmeas eutanasiadas com 28 dias foram separados de suas respectivas vesículas, pesados (P_{emb}) e medidos com paquímetro digital. O tamanho dos embriões foi obtido com base na medida “crown-to-rump”, que é o comprimento entre o osso occipital e a base da cauda do embrião. O volume das vesículas embrionárias foi analisado individualmente (V_{ves}).

2.2.1.5 Dosagens de progesterona e 17β -estradiol séricos

Para a análise da concentração sérica de progesterona, o sangue de 8 animais de cada grupo (4 múltiparas e 4 marrãs) foi coletado nos dias 5, 6, 8, 12, 16, 22 e 28 da gestação. As amostras do dia 12 de gestação também foram utilizadas para a análise de concentração

sérica de 17 β -estradiol. O sangue foi coletado por punção da veia jugular e centrifugado por 10 minutos a 1500 x g (centrífuga Excelsa II modelo 206; Fanem - São Paulo, Brasil) BL para a obtenção do soro sanguíneo, que foi separado em microtubos de 2,0 mL e armazenado a -20°C.

A concentração da progesterona (P4 total) e do 17 β -estradiol foram obtidas pela técnica de radioimunoensaio em fase sólida por meio da utilização de kits comerciais (RIA PROGESTERONE – Beckman Coulter e RIA 17 β -ESTRADIOL – Beckman Coulter, respectivamente). Os ensaios hormonais foram realizados seguindo o protocolo fornecido pelo fabricante e os kits comerciais foram validados previamente para uso em soro de suínos (MAO, J., FOXCROFT, R. 1998; NOVAK et al., 2002; CHENAULT et al., 1975).

2.2.1.6 Densidade glandular e Morfometria de epitélios luminal e glandular

As avaliações morfométricas foram realizadas para todos os animais do experimento. Para as fêmeas eutanasiadas com 13 dias de gestação foram coletadas 3 amostras de útero provenientes de três regiões diferentes do corno uterino esquerdo. As regiões estudadas foram: a região próxima a junção útero-tubária (A1), região média (A2) e região próxima a região cervical (A3). Para as fêmeas eutanasiadas com 28 dias de gestação foram coletadas 3 amostras de tecido de cada uma das regiões já citadas, resultando em 9 amostras/animal. Essas amostras foram coletadas dentro de áreas de implantação embrionária seguindo a descrição de Wright et al (2016): área central altamente vascularizada adjacente ao embrião (C), área de contato útero-embrionária (CE) e área lateral pouco vascularizada (L).

Os tecidos foram corados com hematoxilina e eosina para as avaliações histomorfológicas, conforme descrito anteriormente (DUNLAP et al., 2008; BAILEY et al., 2010). As aferições das glândulas uterinas foram feitas para as fêmeas eutanasiadas com 13 e 28 dias de gestação. A densidade glandular foi determinada pela contagem do número total de glândulas (DG13 e DG28) em um campo de visão de 3140 μ m de endométrio. A área

glandular média (AGM13 e AGM28) foi obtida pela aferição individual da área glandular de todas as glândulas presentes em um campo de visão de 780 mm², aferindo, no mínimo, 50 glândulas por amostra. A área glandular total (AGT13; AGT28) foi obtida por GT x AGM. A morfometria do epitélio luminal foi feita apenas para as fêmeas eutanasiadas com 13 dias de gestação e foram obtidas dez medidas da altura do epitélio luminal (AEL13) por amostra.

2.2.1.7 Análise estatística

Previamente à análise, os dados foram testados em relação a normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias e quando necessário os mesmos foram transformados. Neste experimento, empregou-se o delineamento inteiramente casualizado com arranjo fatorial, sendo o fator 1, a categoria das fêmeas (marrã ou porca) e o fator 2, o tratamento utilizado (progestágeno, progesterona e controle). Para a análise dos dados utilizou-se software SAS (Statistical Analysis System, 2002). A taxa de prenhez foi analisada pelo teste Qui-quadrado. O efeito de tratamento foi avaliado pelo LSD Pdiff e o efeito de tempo pelo teste de Tukey. O nível de significância considerado foi de 5%.

2.2.2 Experimento 2

2.2.2.1 Animais e delineamento experimental

O experimento foi realizado em uma granja comercial localizada na cidade de Rosboro, Carolina do Norte – EUA, entre os meses de julho a novembro. 75 matrizes comerciais com ordem de parto entre 1 e 8 foram alojadas em gaiolas individuais durante todo o período gestacional e receberam manejos nutricional, sanitário e ambiental idênticos durante todo o experimento. Todas as fêmeas foram alojadas em instalações equipadas com sistema de pressão negativa durante todo o experimento. Três fêmeas abortaram dentro de 24 após a aplicação da vacina contra o vírus da síndrome respiratória e reprodutiva dos suínos (PRRSV) e foram retirados do experimento. As fêmeas múltiparas foram inseminadas após

um intervalo desmame-estro de $6,13 \pm 0,36$ dias após período lactacional de $27,60 \pm 0,49$ dias e apresentaram uma produção média de $12,61 \pm 0,22$ leitões nascidos vivos, $0,97 \pm 0,12$ natimortos, $0,29 \pm 0,06$ mumificados e $10,81 \pm 0,13$ leitões desmamados por fêmea.

A detecção de estro foi realizada 2 vezes ao dia e todas as fêmeas foram inseminadas a cada 24 horas, a contar do momento de detecção do estro, com doses sêmen suíno refrigeradas (2.5×10^9) e qualidade avaliada previamente, provenientes de uma centro comercial de produção de doses de sêmen suíno. Nesse estudo, todas as fêmeas receberam 2 inseminações e o dia da segunda inseminação foi considerada o dia 0 da gestação. No 6° dia da gestação as fêmeas foram alocadas em um dos dois grupos de maneira inteiramente casualizada: fêmeas suplementadas com 20 mg de altrenogest (Matrix® - Matrix; Intervet/Schering-Plough Animal Health, Millsboro, Delaware), via oral, do 6° ao 12° dia de gestação (ALT; n = 36); fêmeas não suplementadas (CTR; n = 36). Uma semana antes da data prevista do parto todas as fêmeas foram transferidas para instalações de maternidade.

2.2.2.2 Desempenho produtivo da matriz e da leitegada

Taxa de prenhez, duração da gestação, número de leitões nascidos totais, nascidos vivos, natimortos, mumificados, peso médio da leitegada, número total e porcentagem de leitões nascidos com menos de 800 gramas e homogeneidade da leitegada foram as variáveis analisadas que representaram o desempenho produtivo.

2.2.2.3 Análise estatística

Previamente à análise, os dados foram testados em relação a normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias. Neste experimento, o delineamento foi inteiramente casualizado com dois tratamentos (progestágeno e controle) e utilizou-se software SAS (Statistical Analysis System, 2002) para análise dos dados. A taxa de prenhez foi analisada pelo teste Qui-quadrado. O efeito de tratamento foi avaliado pelo LSD Pdiff. O nível de significancia considerado foi de 5%.

2.3 RESULTADOS

2.3.1 Experimento 1

2.3.1.1 Taxa de ovulação, taxa de prenhez e sobrevivência embrionária

A TO foi similar para os três grupos (CON, PG e RU), mas diferiu estatisticamente entre as categorias de animais, sendo que porcas tiveram taxa de ovulação superior quando comparada as marrãs, como pode ser observado nas tabelas 1. Já a TP não foi afetada pelo tratamento e não diferiu entre categorias (tabela 2). Os tratamentos não afetaram o peso ou o tamanho do útero em ambos 13 ou 28 dias de gestação (P_{ut13} e P_{ut28} ; T_{ut13} e T_{ut28} , respectivamente).

As variáveis ET e EV foram semelhantes entre os 3 grupos. A suplementação com altrenogest foi deletéria para a sobrevivência embrionária (SE%) em marrãs, enquanto os grupos PG e CON foram semelhantes entre si. Esse efeito sobre a sobrevivência embrionária foi decorrente de uma maior Pet para as marrãs do grupo RU, como mostra a tabela 1. Já a Pep não sofreu influência dos tratamentos tanto para marrãs quanto para porcas. Para as porcas não houve efeito do tratamento sobre a sobrevivência embrionária ou Pet. ET, EV e Pep (tabela 1) foram maiores para porcas quando comparadas com às marrãs.

2.3.1.2 Medidas Luteínicas e embrionárias

Houve efeito de tratamento e categoria, separadamente, para o volume dos corpos lúteos (V_{CL28}); as fêmeas dos grupos PG e RU foram iguais entre si e apresentaram corpos lúteos maiores que as fêmeas do grupo CON e as marrãs apresentaram CL maiores que as porcas. Já para o P_{CL28} , houve efeito significativo na interação entre tratamento e categoria, sendo que o P_{CL28} foi maior para as marrãs do grupo RU quando comparadas com as marrãs dos grupos PG e CON, enquanto para as porcas, o grupo PG apresentou os CL mais pesados, seguido do grupo RU, que por sua vez, foi maior que o grupo CON (tabela 4).

Para todas as medidas embrionárias avaliadas (crown-to-rump, P_{emb} , V_{ves}) houve efeito significativo na interação entre tratamento e categoria. Tanto o crown-to-rump quanto o P_{emb} foram maiores para as marrãs do grupo controle quando comparados com os grupos tratados, que foram semelhantes entre si. Já para as porcas, o grupo RU apresentou crown-to-rump maior quando comparado aos grupos CON e PG, que foram semelhantes entre si, e o P_{emb} foi maior para o grupo RU quando comparado ao grupo CON, que por sua vez, foi maior que o grupo PG (tabela 1). Para a variável V_{ves} , as marrãs do grupo CON apresentaram valores superiores quando comparadas as marrãs dos grupos tratados (PG e RU), que foram iguais entre si, enquanto o V_{ves} das porcas dos grupos CON e RU foram semelhantes entre si e maiores que o V_{ves} das porcas do grupo PG.

2.3.1.3 Densidade glandular e Morfometria de epitélios luminal e glandular

Não houve diferença entre as áreas A1, A2 e A3 para nenhuma das variáveis analisadas. As regiões L, C e CE também foram semelhantes dentro de cada uma das áreas citadas.

O grupo RU apresentou DG13 maior quando comparadas aos grupos CON e PG, que foram semelhantes entre si (tabela 2). Houve também efeito de categoria para essa variável; as porcas apresentaram DG13 superior as marrãs. Por outro lado, aos 28 dias de gestação não houve nenhuma diferença entre grupos ou categorias para a densidade glandular (DG28). Houve efeito significativo na interação tratamento x categoria para a área glandular média, tanto aos 13 quanto aos 28 dias de gestação (AGM13 e AGM28, respectivamente), sendo que apenas as marrãs tiveram suas AGM13 e AGM28 afetadas pelo tratamento; aos 13 dias de gestação, as marrãs do grupo PG apresentaram maior área glandular média quando comparado as marrãs dos grupos RU e CON, que foram semelhantes entre si. Já aos 28 dias as marrãs dos grupos PG e RU foram semelhantes entre si e apresentaram AGM28 maior que as marrãs do grupo CON (tabela 2). Aos 13 dias de gestação, houve efeito de tratamento ($p <$

0,051) e categoria ($p < 0,05$) para a área glandular total; o grupo RU apresentou maior AGT13 quando comparado aos grupos CON e PG, que foram semelhantes entre si e as porcas apresentaram maior AGM13 que as marrãs. Para AGT28 houve efeito significativo de interação tratamento x categoria, sendo que os grupos tratados (PG e RU), que foram iguais entre si, apresentaram valores maiores quando comparados ao grupo CON. Não houve nenhum efeito significativo para a variável altura do epitélio luminal (CON = $0,158 \pm 0,008$; PG = $0,165 \pm 0,011$; RU = $0,168 \pm 0,007$).

2.3.1.4 Concentrações de progesterona e 17β -estradiol séricos

Houve efeito de tratamento para a concentração de P4 total no soro sanguíneo; O grupo PG apresentou maior concentração sérica de P4 total quando comparado aos grupos CON e RU, que foram similares entre si, como representado na figura 1. Para a variável P4 total, houve, ainda efeito significativo na interação tratamento x tempo, em alguns dias específicos (6, 8 e 12). Para ambas as variáveis P4 total e P4/CL, houve efeito de tempo como ilustrado na figura 3. Para a variável P4/CL houve, ainda, efeito significativo na interação entre tratamento e categoria, sendo que tanto as marrãs quanto as porcas do grupo PG apresentaram valores de P4/CL maiores quando comparadas com os as mesmas categorias dos grupos RU e CON, que, por sua vez, foram semelhantes entre si (figura 2). A concentração de 17β -estradiol sérico não apresentou nenhum efeito significativo nesse estudo.

2.3.2 Experimento 2

2.3.2.1 Desempenho produtivo

O tratamento não influenciou nenhuma das variáveis relacionadas ao desempenho produtivo da matriz e da leitegada (taxa de prenhez, duração da gestação, número de leitões nascidos totais, nascidos vivos, natimortos, mumificados, peso médio da leitegada, número

total e porcentagem de leitões nascidos com menos de 800 gramas e homogeneidade da leitegada), como mostra a tabela 4.

Tabela 1: Perdas embrionárias e desenvolvimento embrionário de fêmeas suínas suplementadas com progesterona ou altrenogest durante a fase inicial da gestação

Variável	Cat.	Grupos			Probabilidades			
		CON	PG	RU	Média ¹	Trat.	Cat.	Trat x cat
TO	Marrã	14,0 ± 0,9	15,0 ± 0,7	14,2 ± 1,4	14,5 ± 0,5 ^B			
	Porca	29,8 ± 1,8	27,3 ± 1,8	26,8 ± 1,9	28,0 ± 1,0 ^A	0,76	<,0001	0,69
	Média ²	25,2 ± 2,3	21,9 ± 1,9	22,6 ± 2,1				
ET	Marrã	12,0 ± 1,0	12,8 ± 0,7	13,2 ± 1,6	12,7 ± 0,6 ^B			
	Porca	24,6 ± 2,1	20,5 ± 1,9	19,5 ± 2,2	21,3 ± 1,2 ^A	0,68	<,0001	0,38
	Média ²	21,0 ± 2,2	17,1 ± 1,5	17,4 ± 1,7				
EV	Marrã	11,7 ± 1,3	11,7 ± 0,7	10,8 ± 1,2	11,43 ± 0,5 ^B			
	Porca	20,9 ± 1,8	16,7 ± 1,9	17,0 ± 1,9	18,2 ± 1,1 ^A	0,47	<,0001	0,65
	Média ²	18,2 ± 1,7	14,5 ± 1,2	14,9 ± 1,5				
SE%	Marrã	97,2 ± 2,7 ^a	96,5 ± 2,3 ^a	82,6 ± 3,1 ^b	92,0 ± 2,3			
	Porca	85,9 ± 2,8	80,6 ± 3,8	87,3 ± 3,6	84,6 ± 1,9	0,23	0,02	0,02
	Média ²	89,1 ± 2,5	87,0 ± 3,1	85,6 ± 2,6				
Pet, %	Marrã	2,7 ± 2,7 ^b	3,5 ± 2,3 ^b	17,6 ± 3,1 ^a	8,0 ± 2,3			
	Porca	11,6 ± 2,9	19,3 ± 3,8	12,6 ± 3,6	14,4 ± 2,0	0,13	0,04	0,02
	Média ²	9,0 ± 2,4	13,0 ± 3,1	14,4 ± 2,6				
Pep	Marrã	2,0 ± 0,4	2,1 ± 0,6	1,0 ± 0,4	1,7 ± 0,3 ^B			
	Porca	4,6 ± 1,0	5,4 ± 1,2	7,3 ± 1,1	5,8 ± 0,6 ^A	0,76	0,0001	0,2
	Média ²	3,8 ± 0,8	3,7 ± 0,8	5,2 ± 1,0				
<i>Crown-to-</i>	Marrã	22,84 ± 0,19 ^a	22,02 ± 0,20 ^b	21,74 ± 0,16 ^b	22,12 ± 0,11	0,0007	<,0001	<,0001
	Porca	20,88 ± 0,09 ^b	20,62 ± 0,14 ^b	21,69 ± 0,10 ^a	21,06 ± 0,07			

<i>rump</i> , mm	Média ²	21,23 ± 0,10	21,11 ± 0,12	21,70 ± 0,09				
<i>P_{emb}</i> , g	Marrã	1,71 ± 0,01 ^a	1,56 ± 0,02 ^b	1,49 ± 0,03 ^b	1,57 ± 0,01			
	Porca	1,38 ± 0,03 ^b	1,22 ± 0,02 ^c	1,46 ± 0,02 ^a	1,36 ± 0,01	<,0001	<,0001	<,0001
	Média ²	1,44 ± 0,01	1,34 ± 0,01	1,47 ± 0,01				
<i>V_{ves}</i> , mL	Marrã	261,7 ± 5,4 ^a	211,5 ± 7,1 ^b	202,8 ± 8,6 ^b	220,8 ± 4,6			
	Porca	201,3 ± 6,1 ^a	175,9 ± 6,1 ^b	191,8 ± 5,9 ^a	190,9 ± 3,3	<,0001	<,0001	0,01
	Média ²	212,3 ± 4,7	188,4 ± 4,8	194,6 ± 4,9				

TO = taxa de ovulação; **ET** = número total de embriões recuperados; **EV** = número total de embriões viáveis recuperados; **SE** = sobrevivência embrionária;

Pet = perda embrionária tardia; **Pep** = perda embrionária precoce; **P_{emb}** = peso embrionário; **V_{ves}** = Volume das vesículas embrionárias

Letras minúsculas ou maiúsculas sobrescritas na mesma linha ou coluna representam diferem entre si (p < 0,05)

¹ Média das variáveis de acordo com a categoria animal (Porca ou marrãs)

² Médias das variáveis de acordo com o tratamento

Tabela 2: Influência da suplementação de progesterona ou altrenogest na fase inicial da gestação sobre o epitélio glandular de fêmeas suínas abatidas com 13 e 28 dias de gestação

Variável	Cat.	Grupos			Média ¹	Probabilidades	
		CON	PG	RU		Trat.	Cat.
Dia 13							
DG13	Marrã	348 ± 33	368 ± 25	422 ± 43	379 ± 19 ^B		
	Porca	444 ± 42	622 ± 31	567 ± 41	512 ± 29 ^A	0,02	<,0001
	Média ²	403 ± 29 ^b	410 ± 31 ^b	491 ± 34 ^a			0,24
AGM13, µm ²	Marrã	877 ± 63 ^b	1389 ± 128 ^a	1072 ± 70 ^b	1160 ± 71		
	Porca	1657 ± 199	1141 ± 172	1916 ± 133	1690 ± 120	0,24	0,001
	Média ²	1323 ± 143	1348 ± 111	1471 ± 122			0,007
AGT13, µm ²	Marrã	298 ± 27	517 ± 54	443 ± 49	437 ± 32 ^B		
	Porca	787 ± 128	702 ± 81	1075 ± 102	884 ± 79 ^A	0,05*	<,0001
	Média	578 ± 90 ^b	548 ± 49 ^b	742 ± 91 ^a			0,12
Dia 28							
DG28	Marrã	142 ± 9	141 ± 6	135 ± 6	139 ± 4		
	Porca	140 ± 4	148 ± 5	138 ± 6	142 ± 3	0,42	0,45
	Média ²	141 ± 4	145 ± 4	137 ± 4			0,69
AGM28, µm ²	Marrã	1424 ± 115 ^b	1766 ± 78 ^a	1936 ±	1729 ± 57		
	Porca	1743 ± 68	1567 ± 61	1647 ± 82	1659 ± 41	0,01	0,6
	Média ²	1652 ± 60	1655 ± 49	1750 ± 65			<,0001
AGT28, µm ²	Marrã	187 ± 14 ^b	251 ± 18 ^a	260 ± 13 ^a	236 ± 10		
	Porca	233 ± 9	223 ± 9	218 ± 11	225 ± 6	0,01	0,80
	Média ²	220 ± 8	236 ± 9	232 ± 8			0,0001

DG13 e DG28 = número total de glândulas observadas em um campo de visão de 3140µm aos 13 e 28 dias de gestação, respectivamente; **AGM13 e AGM28** = área glandular média ao 13 e 28 dias de gestação, respectivamente; **AGT13 e AGT28** = área glandular total aos 13 e 28 dias de gestação, respectivamente.

Letras minúsculas sobrescritas na mesma linha ou maiúsculas sobrescritas na mesma coluna representam diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$)

¹ Média das variáveis de acordo com a categoria animal (Porca ou matrãs);

² Médias das variáveis de acordo com o tratamento

*Foi considerado diferença estatística significativa ($p < 0,051$)

Tabela 3: Concentrações séricas de progesterona e 17 β - estradiol e desenvolvimento luteínico de fêmeas suínas suplementadas com progesterone ou altrenogest durante a fase inicial da gestação.

VARIÁVEL	CAT.	Grupos			MÉDIA	Probabilidades		
		CON	PG	RU		Trat.	Cat.	Trat x cat
P4 total, ng/mL	Marrã	19,43 \pm 1,69	26,80 \pm 1,41	18,97 \pm 1,11	22,56 \pm 0,94			
	Porca	20,80 \pm 1,35	25,64 \pm 1,71	21,30 \pm 1,21	22,58 \pm 0,85	<,0001	0,48	0,21
	Média	20,34 \pm 1,05 ^b	26,22 \pm 1,10 ^a	20,30 \pm 0,85 ^b				
P4/CL, ng/mL	Marrã	1,25 \pm 0,10 ^b	1,87 \pm 0,12 ^a	1,35 \pm 0,11 ^b	1,56 \pm 0,08			
	Porca	0,73 \pm 0,05 ^b	0,93 \pm 0,06 ^a	0,66 \pm 0,03 ^b	0,77 \pm 0,03	<,0001	<,0001	0,03
	Média	0,90 \pm 0,06	1,40 \pm 0,09	0,96 \pm 0,07				
17 β -estradiol, pg/mL	Marrã	6,15 \pm 0,92	6,17 \pm 1,09	8,71 \pm 0,73	7,01 \pm 0,60			
	Porca	6,82 \pm 1,17	7,91 \pm 0,73	7,41 \pm 1,77	7,32 \pm 1,14	0,61	0,78	0,64
	Média	6,50 \pm 0,70	6,92 \pm 1,54	8,16 \pm 0,82				
V _{CL28} , mm ³	Marrã	378,0 \pm 12,8	444,5 \pm 12,0	486,8 \pm 25,1	442,0 \pm 10,2 ^A			
	Porca	335,0 \pm 8,0	378,4 \pm 10,8	382,1 \pm 9,3	363,0 \pm 5,4 ^B	<,0001	<,0001	0,72
	Média	341,6 \pm 7,1 ^b	398,9 \pm 8,5 ^a	404,4 \pm 9,3 ^a				
P _{CL28} , kg	Marrã	0,409 \pm 0,007 ^b	0,414 \pm 0,008 ^b	0,450 \pm 0,013 ^a	0,424 \pm 0,006			
	Porca	0,302 \pm 0,006 ^c	0,353 \pm 0,007 ^a	0,331 \pm 0,006 ^b	0,326 \pm 0,003	0,002	<,0001	0,004
	Média	0,318 \pm 0,005	0,372 \pm 0,006	0,356 \pm 0,006				

P4 total = Concentração sérica de progesterona; **P4/CL** = P4 total/taxa de ovulação; **17 β -estradiol** = concentração sérica de 17 β -estradiol; **Cat.** = Categoria

Letras minúsculas sobrescritas na mesma linha ou maiúsculas sobrescritas na mesma coluna representam diferenças estatísticas significativas (p < 0,05)

¹Média das variáveis de acordo com a categoria animal (Porca ou marrãs); ²Médias das variáveis de acordo com o tratamento.

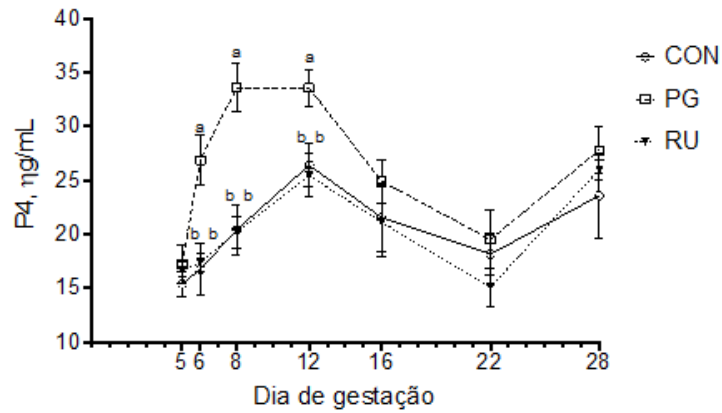


Figura 1: Concentrações de progesterona em função do período gestacional para cada um dos grupos.

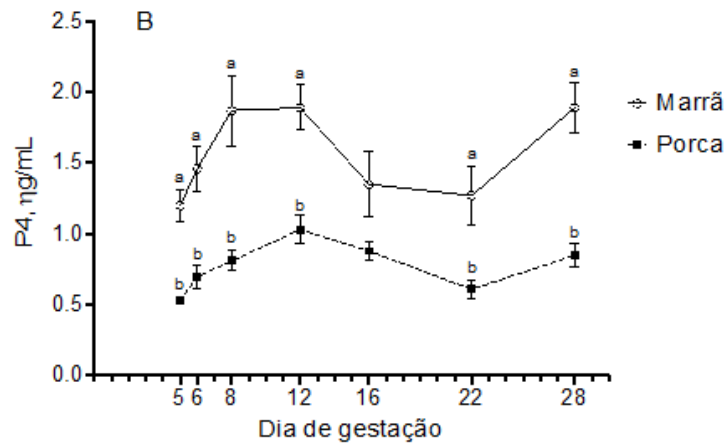


Figura 2: Concentração de progesterona dividido pelo número de CL encontrados (P4/CL) em função do tempo para cada uma das categorias.

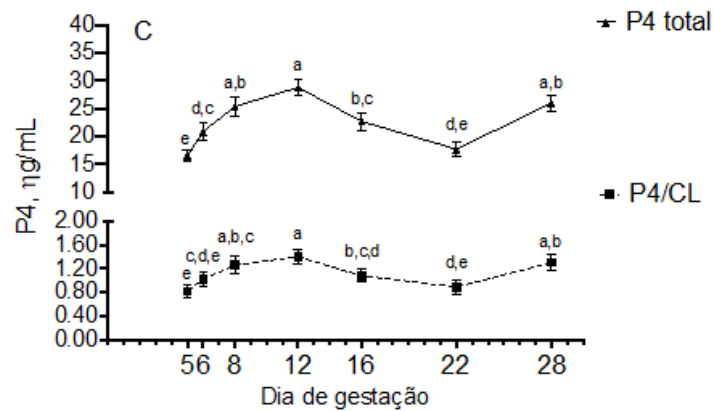


Figura 3: Concentração média de P4 total e P4/CL em função do tempo

Tabela 4: Desempenho produtivo da matriz e da leitegada nascida de fêmeas suplementadas diariamente com altrenogest do 6° ao 12° dia de gestação

Variável	Grupos		Probabilidade
	CON	ALT	
Taxa de prenhez, %	97,2 ± 2,7	94,4 ± 3,8	0,55
Período gestacional	114,7 ± 0,2	114,1 ± 0,1	0,76
Nascidos Totais	15,0 ± 0,5	14,4 ± 0,5	0,34
Nascidos vivos	13,5 ± 0,4	13,1 ± 0,4	0,34
Natimortos	1,25 ± 0,26	1,21 ± 0,17	0,21
Mumificados	0,3 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,97
Leitões < 800 g	1,40 ± 0,32	0,65 ± 0,18	0,49
Leitões < 800 g, %	6,9 ± 1,2	3,5 ± 0,9	0,80
Peso médio da leitegada	1,287 ± 0,042	1,333 ± 0,040	0,79

2.4 DISCUSSÃO

O desenvolvimento embrionário inicial é coordenado pela sincronia delicada entre uma imensidade de moléculas a quais são orquestradas, em parte, pela ação da progesterona (P4) e realizam a comunicação materno-embrionária. Durante a clivagem dos embriões, a P4 interage com seus receptores (PGR) no epitélio luminal uterino e epitélio glandular estimulando a produção e liberação do histotrofo, o qual fornece aos embriões o microambiente necessário para o desenvolvimento inicial. Sabe-se que a suplementação de progesterona altera a composição do histotrofo e tem efeitos sobre a arquitetura uterina (BAILEY et al, 2010 ; SZYMANSKA; BLITEK, 2016). De fato, no presente estudo, a suplementação com progestágeno aumentou a área glandular total e a densidade glandular aos 13 dias de gestação (AGT13 e DG13); da mesma forma, a suplementação com progesterona aumentou a AGM13 das

marrãs. Portanto, baseado nesses resultados é possível inferir que a alteração na composição do histotrofo se deve a uma ação da progesterona/progestágeno sobre o epitélio glandular e não sobre o epitélio luminal, como observado por Bailey et al., 2010.

Diferentemente do que ocorre com ruminantes, há ainda, na espécie suína, uma escassez de trabalhos avaliando os efeitos da suplementação de P4/progestágenos durante a fase inicial da gestação. Talvez, isso se deva ao fato de parte dos poucos trabalhos terem mostrado que a suplementação é deletéria à taxa de prenhez e à sobrevivência embrionária, o que prejudicaria, sobremaneira, a produtividade da fêmea suína (SOEDE et al., 2012; MAO; FOXCROFT, 1998). No presente estudo, a suplementação com P4 ou progestágeno na fase inicial da gestação de fêmeas suínas não afetou a taxa de prenhez – como demonstrado nos experimentos 1 e 2 – e a taxa de sobrevivência embrionária foi afetada apenas nas marrãs do grupo RU; não obstante, é importante ressaltar que essa variável manteve valores considerados adequados (82%) para as fêmeas suínas modernas (QUESNEL et al., 2010).

A ação da P4 durante a clivagem dos embriões resulta em uma inibição fisiológica de seus próprios receptores (PGR) no epitélio luminal uterino e no epitélio glandular superficial, a partir do 11º dia da gestação; a “down-regulation” dos PGR está relacionado com a sincronização espaço-temporal necessária para o crescimento dos conceitos, adesão e placentação. A discordância entre os nossos resultados em relação à outros estudos supracitados se deve, primeiramente, a diferença na data de início da suplementação, uma vez que uma sobrecarga sobre os PGR antes do 6º dia de gestação, por meio de P4 exógena por exemplo, pode afetar a inibição fisiológica dos próprios PGR no epitélio luminal, levando a graves prejuízos à taxa de prenhez e/ou sobrevivência embrionária (MATHEW et al., 2011). Não obstante, a suplementação com progestágeno do 6º ao 12º dia de gestação causou prejuízos a

sobrevivência embrionária para as marrãs e esse efeito, provavelmente diz respeito a farmacodinâmica do progestágeno utilizado; há indícios de que o fornecimento de altrenogest a cada 24 horas deixe uma janela de 10 horas diárias sem efeitos farmacológicos desse hormônio (VAN LEWEEN ET AL., 2011), portanto, nossa hipótese é de que estímulos em pulsos nos PGR promovidos pelo tratamento com altrenogest, tenha alterado a composição do histotrofo de maneira a intensificar os efeitos que causam diversidade no desenvolvimento embrionário, resultando em maior prejuízo aos embriões menos desenvolvidos e consequentemente, maior perda embrionária para as marrãs do grupo RU. Porém, o teste laboratorial usado neste experimento para medir a concentração de progesterona sérica não é capaz de detectar as concentrações séricas do altrenogest e, portanto, esse comportamento em pulsos não pôde ser confirmado. Curiosamente, nenhum dos tratamentos afetou a sobrevivência embrionária nas porcas; essa diferença entre categorias se deve, provavelmente, a uma alteração mais brusca sobre o histotrofo de marrãs quando comparado ao histotrofo de porcas, resultado do efeito mais pronunciado da suplementação de altrenogest sobre o epitélio glandular das marrãs. De fato, as marrãs do grupo RU apresentaram um aumento de 21% na DG13, 22% na AGM13 e 48% na AGT13 quando comparadas com as marrãs do grupo CON, enquanto nas porcas esses aumentos foram de 15%, 15% e 36%, respectivamente, em relação as porcas do grupo CON.

Os fármacos utilizados no presente estudo para fazer a suplementação de progesterona/progestágeno, afetaram o crescimento/desenvolvimento embrionário tanto para as porcas quanto para as marrãs, demonstrando que alterações na arquitetura uterina e endométrio influenciam o desenvolvimento embrionário inicial e que, portanto, não deve haver um mecanismo de proteção que impeça alterações no desenvolvimento embrionário inicial como proposto por Szymanska & Blitek. (2016).

A suplementação com progesterona de longa ação, prejudicou o crescimento embrionário inicial, resultando em embriões menores e mais leves aos 28 dias de gestação, bem como em vesículas embrionárias menores, tanto para porcas como para marrãs. Esse prejuízo ao desenvolvimento embrionário pode estar relacionado à dose e/ou tempo de atuação do fármaco utilizado. Adicionalmente, as marrãs dos grupos PG apresentaram embriões menores e mais leves que o grupo CON mesmo apresentando maiores densidade glandular e área glandular média aos 28 dias, demonstrando que o epitélio glandular não exerceu influência positiva no desenvolvimento embrionário após a implantação. Já a suplementação com altrenogest, apresentou efeitos opostos sobre o desenvolvimento embrionário quando compara-se porcas e marrãs; marrãs do grupo RU apresentaram P_{emb} , crown-to-rump e V_{ves} similares ao grupo PG e, portanto, menores quando comparados ao grupo controle, enquanto as porcas do grupo RU apresentaram embriões maiores e mais pesados, mesmo com vesículas embrionárias de tamanho similar as fêmeas do grupo CON, o que sugere um aumento da eficiência placentária que não tem relação com o epitélio glandular, visto que não houve diferença entre porcas dos três grupos para variáveis relacionadas ao epitélio glandular aos 28 dias de gestação. Ainda nesse contexto, existe uma relação direta e proporcional entre o tamanho do folículo ovulado e o tamanho dos CL com consequente influência na quantidade de P4 produzida por CL (VASCONCELOS et al., 2001), portanto, a suplementação de altrenogest foi benéfica para as porcas mas não para as marrãs, uma vez que as marrãs já apresentaram tamanho de CL maiores quando comparadas as porcas com uma consequente maior produção de P4 para essa categoria que pode ser observada desde o 5° dia de gestação.

Houve também influência dos tratamentos sobre o desenvolvimento dos CL; ambos os tratamentos resultaram em CL maiores e mais pesados para os grupos PG e

RU quando comparados ao grupo CON. Esse efeito sobre os CL é, provavelmente, devido a ação estimulatória da progesterona na produção de fosfolípidos pelo epitélio glandular uterino. Com maior disponibilidade de fosfolípidos há um aumento no estímulo da ciclo-oxigenase (COX) levando a produção de prostaglandinas pelo endométrio (WACLAWIK et al., 2006; WACLAWIK 2011). Waclawik e colaboradores (2017) demonstraram que ambas as prostaglandinas PGE₂ e PGF₂α tem efeitos benéficos sobre a esteroidogênese e sobre a vascularização dos CL durante a gestação, sendo considerados hormônios com efeitos luteotróficos, e, portanto, a suplementação de progesterona/progestágenos deve ter aumentado a disponibilidade das prostaglandinas, culminando com um maior desenvolvimento luteínico para os grupos PG e RU. Um maior desenvolvimento dos CL é de extrema importância para desenvolvimento dos conceptos, uma vez que existe uma relação direta e proporcional entre o tamanho dos corpos lúteos e o tamanho dos leitões nascidos (DA SILVA et al., 2017)

Por fim, os benefícios da suplementação de altrenogest sobre o crescimento embrionário e desenvolvimento dos CLs, observados no experimento 1, não resultaram em nenhum efeito sobre o desempenho da leitegada nascida, como observado no experimento 2. Portanto, o desenvolvimento embrionário antes do 30º dia de gestação parece não ser determinante para o desempenho da leitegada. Possivelmente, a melhora da eficiência placentária no início do processo de placentação, como proposto anteriormente, não foi suficientemente intensa para gerar efeitos significativos no desenvolvimento fetal que ocorre no terço final da gestação. Aproximadamente 90% do desenvolvimento fetal ocorre no terço final de gestação, portanto, melhorias na eficiência placentária devem ser marcantes nesse período para superar os fatores limitantes do crescimento fetal e gerar leitegadas mais pesadas e homogêneas (KIM et al. 2009). Por outro lado, deve-se considerar que, apesar de falta

de significância estatística, possivelmente em decorrência do número limitado de animais utilizados, houve diferença numérica sobre uma importante variável; fêmeas do grupo tratado com altrenogest apresentaram uma redução de 50% no número de leitões nascidos com <800 g. Leitões nascidos com <800 g tem maior dificuldade a se adaptar a vida extrauterina, apresentam prejuízos graves no crescimento, composição corporal e qualidade de carne, são mais susceptíveis à doenças e representam mais de 75% das mortes de leitões pré-desmame (JI et al., 2017). Portanto, melhorar esse índice é de extrema importância na suinocultura moderna, pois, além de contribuir para maior homogeneidade da leitegada, diminuiria a susceptibilidade do plantel à doenças, diminuiria a mortalidade pré-desmame e, por fim, contribuiria para aumento do bem-estar animal.

Mediante o exposto, pode-se concluir que: 1) A suplementação de progesterona/progestágeno a partir do 6° dia de gestação afetou o desenvolvimento embrionário inicial de forma divergente entre porcas e marrãs; 2) Os fármacos utilizados exerceram respostas distintas à suplementação; 3) Aumentou a área de epitélio glandular no endométrio de fêmeas suínos; 4) Não exerceu efeito significativo sobre o desempenho da leitegada nascida.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ashworth, C. J., Haley C. S., Aitken, R. P., and Wilmut, I. Embryo survival and conceptus growth after reciprocal embryo transfer between Chinese Meishan and Landrace □□Large White gilts. *Journal of Reproduction and Fertility*. V. 90, p. 595–603, 1990
2. Bailey, D. W., Dunlap, K. A., Frank, J. W., Erikson, D. W., White, B. G., Bazer, F. W., Burghardt, R.C., Johnson, G. A. Effect of long-term progesterone on developmental aspects of porcine uterine epithelia and

- vasculature: progesterone alone does not support development of uterine glands comparable to that of pregnancy. *Reproduction*, v. 140, p. 583-594, 2010
3. Baxter, E. M., Jarvis, S., D'Eath, R.B., Ross, D.W., Robson, S.K., Farish, M., Nevison, I.M., Lawrence, A.B., Edwards, S.A. Investigating the behavioural and physiological indicators of neonatal survival in pigs. *Theriogenology*, v. 69, p. 773-783 2008.
 4. Bazer, F. W., Geisert, R. D., Thatcher W. W., Roberts R. M. The establishment and maintenance of pregnancy. In: D. J. A. Cole and G. R. Foxcroft (ed.) *Control of Pig Reproduction*, p. 227–252. Butterworth Scientific, London, 1982
 5. Bazer, F. W., Song, G., Kim, J., Dunlap, K. A., Satterfield, M. C., Johnson, G. A. Uterine biology in pigs and sheep. *Animal Science Biotechnology*, v. 3, p. 23, 2012
 6. Bazer, F., Thatcher W., Martinat-Botte, F., Terqui, M., Lacroix, M. C., Bernard, S., Revault, M., Dubois, D. H. Composition of uterine flushing from Large White and prolific chinese Meishan gilts. *Reproduction Fertility and Development*, v. 3, p. 51-60, 1991
 7. Beltman, M.E., Lonergan, P., Diskin, M. G., Roche, J. F., Crowe, M. A. Effect of progesterone supplementation in the first week post conception on embryo survival in beef heifers. *Theriogenology*, v. 71, p.1173–1179, 2009
 8. Biansen, N. J., Wilson, M. E., Ford, S. P. The impact of either a Meishan or Yorkshire uterus on Meishan or Yorkshire fetal and placental development to days 70, 90, and 110 of gestation. *Journal of Animal Science*, v. 76, p. 2169-2176, 1998

9. Carter, F., Forde, N., Duffy, P., Wade, M., Fair, T., Crowe, M. A., Effect of increasing progesterone concentration from Day 3 of pregnancy on subsequent embryo survival and development in beef heifers. *Reproduction Fertility Development*, v. 20, p. 368–75, 2008 ^L_{SEP}
10. Chenault, J. R., Thatcher, W. W., Kalra, P. S., Abram R. M., Wilcox. C. J., Transitory changes in plasma progestins, estradiol, and luteinizing hormone approaching ovulation in the bovine. *Journal of Dairy Science*, v. 58, p. 709 - 717, 1975.
11. Da Silva, C. L. A., Van Den Brand, H., Laurensen, B. F. A., Broekhuijse, M. L. W. J., Knol, E. F., Kemp, B., Soede, N. M. Relationships between ovulation rate and embryonic and placental characteristics in multiparous sows at 35 days of pregnancy. *Animal*, v. 10, p. 1192 – 1199, 2016.
12. Dunlap, K.A., Burghardt, R.C., Erikson, D.W., Reed, K.M., White, F.J., Farmer, J.L., Spencer, T.E., Magness, R.R., Bazer, F.W., Bayless, K.J. Progesterone and placentation increase uterine glandular and stromal secreted phosphoprotein 1 (osteopontin) that may function for histotrophic and hematotrophic support of ovine pregnancy. *Biology of Reproduction* v.79, p. 983–990, 2008
13. Geisert, R. D. and Schmitt R. A. M. Early embryonic survival in the pig: can it be improved? *Journal of Animal Science*, v. 80, p. 54–65, 2002.
14. Geisert, R.D., Yelich, J. V. Regulation of conceptus development and attachment in pigs. *Journal of Reproduction and Fertility*, v. 52, p. 133–149, 1997
15. Gu, T., Zhu, M., Schroyen, M., Qu, L., Nettleton, D., Kuhar, D., Lunney, J. K., Ross, J. W., Zhao, S., Tuggle, C. K. Endometrial gene expression profiling in pregnant Meishan and Yorkshire pigs on day 12 of gestation. *BMC Genomics*, v. 15, p. 156, 2014.

16. Hugentobler, S. A, Sreenan, J. M, Humpherson, P. G, Leese, H. J, Diskin, M. G, Morris, D. G. Effects of changes in the concentration of systemic progesterone on ions, amino acids and energy substrates in cattle oviduct and uterine fluid and blood. *Reproduction, Fertility and Development*, v. 22, p. 684-694, 2010
17. Ji, Y., Wu, Z., Dai, Z., Wang, X., Li, J., Wang, B., Wu, G. Fetal and neonatal programming of postnatal growth and feed efficiency in swine. *Journal of animal science and biotechnology*, v. 87, p. 8 – 42, 2017
18. Jindal, R., Cosgrove, J. R., Foxcroft, G. R. Progesterone mediates nutritionally induced effects on embryonic survival in gilts. *Journal of Animal Science*, v. 75, p. 1063–1070, 1997
19. Ka, H., T. E. Spencer, G. A. Johnson, and F. W. Bazer. Keratinocyte growth factor: expression by endometrial epithelia of the porcine uterus. *Biology of Reproduction*, v. 62, p. 1772–1778, 2000
20. Kim, S. W., Hurley, W. L., Wu, G., Ji, F. Ideal amino acid balance for sows during gestation and lactation. *Journal of Animal Science*, v.87, p. 123-132, 2009.
21. Kirkden, R. D., Broom, D. M., Andersen, I.L. Piglet mortality: The impact of induction of farrowing using prostaglandins and oxytocin. *Animal Reproduction Science*, v. 138, p.14-24, 2013.
22. Kridli, R., Khalaj, K., Bidarimath, M., Tayade, C. Placentation, maternal-fetal interface and conceptus loss in swine. *Theriogenology*, v. 85, p. 135-144, 2016
23. López-Gatius, F., Santolaria, P., Yániz, J. L., Hunter, R. H. F. Progesterone supplementation during the early fetal period reduces pregnancy loss in high-yielding dairy cattle. *Theriogenology*, v. 62, p. 1529-1535, 2004
24. Mann, G. E., Fray, M. D., Lamming, G. E. Effects of time of progesterone

- supplementation on embryo development and interferon-tau production in the cow. *The veterinary journal*, v. 171, p. 500-503, 2006
25. Mao, J., Foxcroft, G. R. Progesterone therapy during early pregnancy and embryonal survival in primiparous weaned sows. *Journal of Animal Science*, v. 76, p. 1922–1928, 1998
 26. Mathew, D. J., Sellner, E. M., Green, J. C., Okamura, C. S., Anderson, L. L., Lucy, M. C., Geisert, R. D. Uterine progesterone receptor expression, conceptus development, and ovarian function in pigs treated with RU 486 during early pregnancy. *Biology of Reproduction*, v. 84, p. 130–139, 2011
 27. Morris, D., Diskin, M. Effect of progesterone on embryo survival. *Animal*, v. 8, p. 1112-1119, 2008
 28. Muns, R., Nuntapaitoon, M., Tummaruk, P. Non-infectious causes of pre-weaning mortality in piglets. *Livestock Science*, v. 184, p. 46-57, 2016.
 29. Novak, S., Treacy, B. K., Almeida, F. R. C. L., Mao, J., Buhi, W. C., Dixon W. T., Foxcroft, G. R. Regulation of IGF-I and porcine oviductal secretory protein (pOSP) secretion into the pig oviduct in the peri-ovulatory period, and effects of previous nutrition. *Reproduction Nitrition Development*, v. 42, p. 355-372, 2002
 30. Okrasa, S., Franczak, A., Zmijewska, A., Wojciechovic, B., Dziekonski M., Martyniak, M., Kolakowska, J., Zglejc, K., Kotwica. The uterine secretory activity and its physiological changes in the pig. *Acta Biologica Cracoviensia*, v.55/56, p. 40-57, 2014.
 31. Pickard, A. R., Miller, S. J., Ashworth, C. Synchronous onset of oestradiol-17 β secretion by Meishan conceptuses. *Reproduction Biology and Endocrinology*, v. 1, p. 1-16, 2003
 32. Pope, W. Embryonic mortality in swine. *Livro: Embryonic mortality in*

- domestic species, editores: Zavy, M. T, Geisert, R. D. p. 53–78, 1994
33. Pope, W. F., Xie, S., Broermann, D. M., Nephew, K. P. Causes and consequences of early embryonic diversity in pigs. *Journal of Reproduction and Fertility*, v. 40, p. 251–260, 1990.
 34. Quesnel, H., Boulot, S., Serriere, S., Venturi, E., Matinat – Botté, F. Post-insemination level of feeding does not influence embryonic survival and growth in highly prolific gilts. *Animal Reproduction Science*, v.120, p. 120 – 124, 2010
 35. Quesnel, H., Brossard, L., Valancogne, A., Quiniou, N. Influence of some sows characteristics on within-litter variation of piglets birth weight. *Animal*, v. 2, p. 1842 – 1849, 2008
 36. Rootwelt, V., Reksen, o., Farstad, W., Framstad, T., Postpartum deaths: Piglet, placental, and umbilical characteristics, *Journal of Animal Science*, v. 91, p. 2647–2656, 2013
 37. Satterfield, M. C., Bazer, F. W., Spencer, T. E. Progesterone regulation of preimplantation conceptus growth and galectin 15 (LGALS15) in the ovine uterus. *Biology of Reproduction*, v. 75, p. 289-296, 2006
 38. Soede, N. M., Bouwman, E. G., van der Laan, I., Hazegeler, W., Jourquin, J., Langendijk, P., Kemp, B. Progestagen supplementation during early pregnancy does not improve embryo survival in pigs. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 47, p. 835–841, 2012
 39. Soede, N. M., Kemp, B., Noordhusizen. J. P. T. M. The duration of ovulation in pigs, studied by transrectal ultrasonography, is not related to early embryonic diversity. *Theriogenology*, v. 38, p. 653–666, 1992
 40. Spencer, T. E., Burghardt, R. C., Johnson, G. A., Bazer, F. W. Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. *Animal*

- Reproduction Science, v. 82, p. 537-550, 2004
41. Steinhauser, C. B., Bazer, F. W., Burghardt, R. C., Johnson, G. A. Expression of progesterone receptor in the porcine uterus and placenta throughout gestation: correlation with expression of uteroferrin and osteopontin. *Domestic Animal Endocrinology*, v. 30, p. 1-11, 2016
 42. Szymanska, M., Blitek, A. Endometrial and conceptus response to exogenous progesterone treatment in early pregnant gilts following hormonally-induced estrus. *Animal Reproduction Science*, v. 174, p. 56-64, 2016
 43. Vallet, J. L., Christenson, R. K., Trout, W. E., Klemcke, H. G. Conceptus, progesterone, and breed effects on uterine protein secretion in swine. *Journal of Animal Science*, v. 76, p. 2657-2670, 1998
 44. Van Der Waaij, E. H., Hazeleger, W., Soede, N. M., Laurensen, B. F. A., Kemp, B. Effect of excessive, hormonally induced intrauterine crowding in the gilt on fetal development on day 40 of pregnancy, *Journal of Animal Science*, v.88, p. 2611–2619, 2010
 45. Van Leween, J. J. J., Martens, M. R. T M., Jourquin, J., Drianourt M. A., Kemp, B., Soede, N. M. Variation in LH pulsatility during 24 h after a postweaning altrenogest treatment in relation to follicle development in primiparous sows. *Animal Reproduction Science*, v. 126, p. 101- 107, 2011.
 46. Vasconcelos, J. L. M., Sartori, R., Oliveira, H. N., Guenther, J. G., Wiltbank, M. C. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. *Theriogenology*, v. 56, p. 307 – 314, 2001
 47. Vonnahme, K. A., Wilson, M. E., Ford, S. P. Conceptus competition for uterine space: different strategies exhibited by the Meishan and Yorkshire pig. *Journal of Animal Science*, v. 80, p. 1311-1316, 2002
 48. Waclawik, A. Novel insights into the mechanisms of pregnancy establishment

- regulation of prostaglandin synthesis and signaling in the pig. *Reproduction*, v.142, p. 389–399, 2011.
49. Waclawik, A., Kaczmarek, M.M., Blitek, A., Kaczynski, P., Ziecik, A. J., Embryo-maternal dialogue during pregnancy establishment and implantation in the pig. *Molecular Reproduction & Development* v.84, p. 842–855, 2017.
50. Waclawik, A., Rivero-Muller, A., Blitek, A., Kaczmarek, M. M., Brokken, L. J., Watanabe, K., Ziecik, A. J. Molecular cloning and spatio-temporal expression of prostaglandin F synthase and microsomal prostaglandin E synthase-1 in porcine endometrium. *Endocrinology*, v. 147, p. 210–221, 2006.
51. Wright, E. C., Miles, J. R., Lents, C. R., Rempel, L. R. Uterine and placenta characteristics during early vascular development in the pig from day 22 to 42 of gestation. *Animal of Reproduction Science*, v.164, p. 14-22, 2016.
52. Xie, S., D. M. Broermann, K. P. Nephew, M. D. Bishop, and W. F. Pope. Relationship between oocyte maturation and fertilization on zygotic diversity in swine. *Journal of Animal Science*, v. 68, p.2027–2033, 1990a
53. Xie, S., D. M. Broermann, K. P. Nephew, R. D. Geisert, and W. F. Pope. Ovulation and early embryogenesis in swine. *Biology of Reproduction*, v. 43, p.236–240, 1990b.
54. Yu, Z., Gordon, J. R., Kirkwood, R. N., Thacker, P. A. Embryo survival on day 25 of gestation in the gilt is not affected by exogenous progesterone but is correlated with levels of insulin-like growth factor-I (IGF-I) mRNA in the uterus. *Asian-Australian Journal of Animal Science*, v. 12, p. 862– 867, 1999
55. Yu, Z., Kirkwood, R. N., Thacker, P. A. Effect of exogenous progesterone following mating on embryo survival in the gilt. *Canadian Journal of Animal Science*, v. 77, p. 731– 733, 1997