**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
E ZOOTECNIA
DEPARTAMENTO DE REPRODUÇÃO ANIMAL**

ALINE CAMPOS ROSSETO

**ESTUDO ANATOMOHISTOPATOLÓGICO DA DEGENERAÇÃO
CÍSTICA OVARIANA EM FÊMEAS SUÍNAS SUBMETIDAS A
ASSOCIAÇÃO DE GONADOTROFINAS EXÓGENAS E
FLUSHING ALIMENTAR**

São Paulo

2005

ALINE CAMPOS ROSSETO

**Estudo anatomohistopatológico da degeneração cística ovariana em
fêmeas suínas submetidas a associação de gonadotrofinas exógenas e
flushing alimentar**

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
Medicina Veterinária

Departamento:

Reprodução Animal

Área de concentração:

Reprodução Animal

Orientador:

Prof. Dr. Aníbal de Sant'Anna Moretti

São Paulo

2005

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

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1606
FMVZ

Rosseto, Aline Campos

Estudo Anatomohistopatológico da Degeneração Cística Ovariana em fêmeas suínas submetidas a gonadotrofinas exógenas e *flushing* alimentar / Aline Campos Rosseto. - Pirassununga : A. C. Rosseto, 2005.
73 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, 2005.

Programa de Pós-graduação: Nutrição Animal.
Área de concentração: Nutrição Animal.

Orientador: Prof. Dr. Aníbal de Sant'Anna Moretti.

1. Cistos ovarianos. 2. Suínos. 3. Puberdade. 4. Hormônio.
I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Assistência Acadêmica

PARECER

Interessado: Aline Campos Rosseto

Assunto: Protocolo de experimentação adotado em experimento animal.

A Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, após analisar o projeto sob o número 784/2005, intitulado: "Estudo anatomohistopatológico da degeneração cística ovariana em fêmeas suínas submetidas ao uso de gonadotrofinas exógenas e flushing alimentar", no qual foram utilizados 72 (setenta e dois) suínos, sob responsabilidade da Prof. Dr. Aníbal de Sant'Anna Moretti, constatou que o mesmo foi realizado de acordo com os princípios de bioética, adotados por esta Comissão.

São Paulo, 22 de novembro de 2005

Prof. Dra. Julia Maria Matera

Presidente da Comissão de Bioética

FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: ROSSETO, Aline Campos

Título: Estudo anatomohistopatológico da degeneração cística ovariana em fêmeas suínas submetidas a associação de gonadotrofinas exógenas e *flushing* alimentar

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 Medicina Veterinária

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

**“A vida sem desafios não teria a menor graça.
Paciência com inteligência é o segredo do sucesso”**

Palavras de meu PAI.

DEDICATÓRIA

“Ao amor incondicional, ao exemplo de luta, a expressão do caráter de um homem de bem, ao melhor PAI do mundo, ao homem que me ensinou fazer dos desafios da vida a razão de se viver, Sr. José Rosseto, com todo meu amor”

“A mulher que me ensinou que não existe vitória sem luta, choro sem motivo, sorriso sem merecimento, minha MÃE, Sra. Ma. Fátima Arruda Campos Rosseto, com todo meu amor e gratidão”

“Ao exemplo de força, de amor e união, minha amada IRMÃ, Stela Campos Rosseto”

dedico.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor e pesquisador Dr. Aníbal de Sant'Anna Moretti, pela dedicação e amizade para a vida toda. “Filhinha, encha sua malinha de informações e agarre seu futuro com as duas mãos!” palavras do meu mestre que jamais esquecerei;

A Professora Dra. Maria Lúcia Zaidan Dagli, pela atenção e tempo a mim dedicados;

A Professora Dra. Regina, ao Professor Dr. Franco Ferraro Calderaro, Professora Dra. Andréa Moreno;

Ao meu “irmão” Marcos Pinese pela amizade sincera e exemplo de serenidade. Aprendi muito amigo!;

A Francine e Simone, sem vocês a finalização deste trabalho não seria possível. Exemplos de determinação;

Aos amigos Wagner, Rogério, Graziela, Edison, Volnei, Joaquina, Fernando, Raquel, Abraão, pela receptividade e companheirismo;

A Lúcia, Cristiane, Alessandra e Júnior;

RESUMO

ROSSETO, A. C. **Estudo anatomohistopatológico da degeneração cística ovariana em fêmeas suínas submetidas a associação de gonadotrofinas exógenas e *flushing* alimentar.** [Anatomohistopatological study of ovarian cystic degeneration um gilts submitted to a association of gonadotrophins and *flushing feed*]. 2005. 73 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

O objetivo do estudo realizado no Laboratório de Pesquisa em Suínos e Laboratório de Oncologia Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo– FMVZ. USP, São Paulo – SP, foi verificar as degenerações císticas ovarianas e suas características histopatológicas de fêmeas tratadas com gonadotrofinas exógenas e *flushing*. Foram utilizadas 72 marrãs pré-púberes da linhagem Pen Ar Lan NAIMA®, com idade média de $157,49 \pm 5,01$ dias, e $96,65 \pm 7,70$ Kgs de peso, distribuídas em quatro tratamentos em arranjo fatorial 2x2, sendo um dos fatores o emprego ou não do *flushing*, e o outro a administração ou não do hormônio. A ração utilizada continha 16% de PB e 3.286,73 Kcal/Kg ME. A partir do 7º dia do primeiro estro, induzido com hormônio, as fêmeas do tratamento com *flushing* receberam 50% de incremento da mesma ração. No 16º dia, após o primeiro estro, as marrãs receberam aplicação de 600 UI de eCG (Novormon®) e 2,5 mg de LH (Lutropin®), 72 horas após, caracterizando os quatro tratamento (com e sem hormônio, com e sem *flushing*). Todas as marrãs foram expostas ao macho duas vezes ao dia, a partir do 10º dia e inseminadas ao segundo estro com sêmen heterospermico. Ao abate, realizado no 5º dia após inseminação, os genitais foram colhidos para exame dos ovários (averiguação das patologias

ovarianas macroscópica e histologicamente) e também os embriões para a verificação da viabilidade embrionária. As características avaliadas foram número de ovulações, percentual de cistos ovarianos e percentuais de cistos foliculares, de corpo lúteo e luteinizados. Não foram encontradas diferenças significativas, entre os tratamentos, para os percentuais do número de ovulações, cistos ovarianos, cistos foliculares, corpo lúteo e luteinizados. Houve diferença significativa na viabilidade embrionária, constatando-se efeito adverso da combinação hormonal provocando queda da viabilidade, o mesmo não ocorrendo para o efeito *flushing*, o qual provocou aumento da viabilidade. Concluiu-se que tanto o emprego das gonadotrofinas (eCG e LH), quanto o uso do *flushing*, não influenciaram na ocorrência de cistos ovarianos e que nos estudos iniciais sobre a gênese da patologia, pela influência dos referidos fatores, os diferentes tipos de cistos estudados, não provocaram efeitos deletérios na dinâmica do desenvolvimento folicular, não constatando-se reflexos negativos na puberdade em marrãs.

Palavras-chave: Cistos ovarianos. Suínos. Puberdade. Hormônio.

ABSTRACT

ROSSETO, A. C. **Anatomohistopatological study of ovarian cystic degeneration in gilts submitted to a association of gonadotrophins and *flushing* feed.** [Estudo anatomohistopatológico da degeneração cística ovariana em fêmeas suínas submetidas a associação de gonadotrofinas exógenas e *flushing* alimentar]. 2005. 73 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

The experiment carried out in LPS (Swine Research Laboratory) and LOV (Oncology Veterinary Laboratory) of Veterinary Medicine and Animal Science Faculty of São Paulo University (FMVZ-USP), verified the cystic degeneration and their histopatological traits in gilts, treated with the combination of gonadotrophins and *flushing*. 72 pre-pubertal gilts of PenArLan Naïma® lineage with $157,49 \pm 5,01$, days of age and $96,65 \pm 7,70$ Kg of live weight were allotted in 4 treatments in a factorial arrangement 2X2. The feed used contained 16% (CP) and 3.286,73 Kcal/Kg ME. From the seventh day on first estrus, induced with gonadotrophins, the females with *flushing* treatment received a increment of 50% the same feed. From the sixteenth day of the first estrus the gilts that received hormone treatment (600 UI of eCG na 2,5 mg of LH (Lutropin®) 72 hours later), were exposed to a boar twice a day, from the tenth day when the gilts were inseminated at the second estrus with a heterospermic semen. At slaughter on the fifth day after insemination, the genitals were removed to examine the ovarian pathologies, and the embryos. There weren't significances among treatments to the percentuals of the ovulation number, ovarian cystic percentage; folliculous percentage, corpus luteos and luteinized cystics. There was significant difference in embryonic viability that indicated an adverse effects of the hormonal combinations in comparison to the *flushing* treatment. We

concluded that both gonadotrophins (eCG and LH) and flushing have influenced on ovarian cystic occurrence and in the beginning of the study based on the influence of the two factors (hormone and *flushing*) in the pathological cystic genesis, haven't brought about any deleterious effects of the different cystic in the dynamic follicular development with no negative reflexion on puberty in gilts.

Key words: Ovarian cystic. Swine. Puberty. Hormonal.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	EFEITO DO FATOR HORMÔNIO SOBRE O NÚMERO DE OVULAÇÕES E A VIABILIDADE EMBRIONÁRIA	52
Figura 2	EFEITO DO FATOR <i>FLUSHING</i> SOBRE O NÚMERO DE OVULAÇÕES E A VIABILIDADE EMBRIONÁRIA	53
Figura 3	CORTE HISTOLÓGICO DE OVÁRIO	65
Figura 4	CISTO DE CORPO LÚTEO	66
Figura 5	CISTO FOLICULAR	66
Figura 6	CISTO LUTEÍNICO	66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Classificação dos cistos conforme a origem	25
Tabela 2	Tratamentos e descrição	43
Tabela 3	Tamanho da amostra, valores médios, desvios-padrão, e coeficientes de variação do número de ovulações, nos tratamentos e seus efeitos principais, e probabilidades (P).....	50
Tabela 4	Tamanho da amostra, valores médios, desvios-padrão, e coeficientes de variação da quantidade de embriões viáveis, nos tratamentos e seus efeitos principais, e probabilidades (P)	51
Tabela 5	Tamanho da amostra, freqüências % e probabilidades (P) de cistos ovarianos nos tratamentos com e sem flushing, e com e sem hormônio	54
Tabela 6	Tamanho da amostra, freqüências % e probabilidades (P) de cistos foliculares nos tratamentos	55
Tabela 7	Tamanho da amostra, freqüências % e probabilidades (P) de cistos de corpo lúteo nos tratamentos	56
Tabela 8	Tamanho da amostra, freqüências % e probabilidades (P) de cistos luteínicos nos tratamentos	57

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	OBJETIVO	22
3	REVISÃO DE LITERATURA	24
3.1	CISTO OVARIANO	25
3.1.1	Cisto Folicular	26
3.1.2	Cisto de Corpo Lúteo	27
3.1.3	Cisto Luteínico	29
3.2	INDUÇÃO E SINCRONIZAÇÃO DA PUBERDADE ASSOCIADO COM AS DEGENERAÇÕES OVARIANAS	30
3.3	<i>FLUSHING</i> ALIMENTAR	37
4	MATERIAL E MÉTODO	39
4.1	ANIMAIS	40
4.2	LOCAL E INSTALAÇÕES	40
4.3	MANEJO	41
4.4	ALIMENTAÇÃO	42
4.5	TRATAMENTOS	42
4.6	ABATE DOS ANIMAIS E COLETA DE MATERIAL	44
4.7	ESTUDO HISTOLÓGICO DOS OVÁRIOS	45
4.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA	46
5	RESULTADOS	47
5.1	SINCRONIZAÇÃO E DISPERSÃO DO ESTRO	48
5.2	NÚMERO DE OVULAÇÕES	49
5.3	VIABILIDADE EMBRIONÁRIA	50
5.4	CISTOS OVARIANOS	54

5.5	CARACTERIZAÇÃO DOS CISTOS: FOLICULAR, CORPO LÚTEO E LUTEÍNICO	55
6	DISCUSSÃO	58
7	CONCLUSÃO	67
	REFERÊNCIAS	69

1 INTRODUÇÃO

A suinocultura moderna conta com animais de alto valor genético, oriundos de processos de seleção que visam a precocidade, o que tem trazido à exploração suinícola, uma evolução dinâmica. O aprofundamento dos estudos nos aspectos reprodutivos básicos e aplicativos, tem levado os cientistas a investigarem as possíveis alterações metabólicas e processos patológicos envolvendo as linhagens sintéticas. Esse evoluir, tem como base, os avanços alcançados na velocidade de crescimento e relações com a idade à puberdade e suas conseqüências na vida produtiva e reprodutiva das fêmeas.

As alternativas técnicas a serem aplicadas nas fases pré-púbere, púbere e pós-púbere, são variadas, mas o enfoque é a possível antecipação da idade à puberdade e à primeira concepção, para a introdução mais programada no plantel de matrizes. Para tanto, deve-se procurar manter a condição corporal e estado metabólico compatíveis com a vida útil reprodutiva e produtiva ideais. O uso de gonadotrofinas exógenas, mantendo como princípio básico mimetizar os efeitos causados pelo metabolismo endógeno, consiste em recurso valioso para a indução do primeiro estro e sincronização, proporcionando maior controle do momento de introdução das fêmeas na reprodução, de acordo com o programa de reposição proposto. É essencial o maior conhecimento na fêmea suína sobre o padrão hormonal na ocasião do recrutamento dos oócitos e como o fenômeno se processa, aliado aos aspectos do mimetismo e aparecimento de cistos correspondentes à assincronia do desenvolvimento folicular e altas taxas ovulatórias. Na seqüência de estudos envolvendo a utilização hormonal exógena, o aprofundamento dos conhecimentos ligados principalmente aos efeitos à normalidade ou anormalidade do desenvolvimento

folículo, devem conduzir investigações que associam modelos experimentais específicos à ocorrência e avaliação dos cistos ovarianos.

As gonadotrofinas tem sido os hormônios empregados para o referido fim em marrãs. Estudos (CARBONE et al., 2002; GAMA et al., 2002; LAGO et al., 2003; PINESE et al., 2005), reportam a utilização da gonadotrofina coriônica equina (eCG) associado com o hormônio luteinizante ou a gonadotrofina sérica de égua prenhe (PMSG). O PMSG e o eCG possuem efeito semelhante ao do hormônio folículo estimulante (FSH), no estímulo da maturação dos folículos ovarianos e do hormônio luteinizante (LH) que concorre na maturação final dos folículos induzindo a ovulação.

No aspecto nutricional é conhecida a relação positiva entre o nível alimentar, o consumo de energia e taxa de ovulação. Assim, somam-se aos recursos farmacológicos, uma estratégia alimentar apropriada como o *flushing* nutricional, que consiste no aumento do consumo de alimento de marrãs durante o período pré-cobertura (RHODES et al., 1991) o que permite um aumento da taxa de ovulação, muito embora não se caracterize uma superovulação (BELTRANENA et al., 1991).

Rhodes et al. (1991) utilizando *flushing* em marrãs, concluíram que o mesmo leva a um aumento no número de corpos lúteos e tamanho da leitegada, principalmente em marrãs que foram inseminadas no primeiro estro. Este aumento da leitegada resulta de maior taxa de ovulação, a qual limita o tamanho da leitegada de primeiro parto em marrãs que não receberam *flushing*. Estudos recentes, (ALMEIDA, 2000; LAGO et al., 2004), constatarem que o *flushing*, mostrou sua ação na estabilização na taxa de ovulação e na qualidade do oócito influenciando posteriormente na normalidade e viabilidade dos

embriões, o que desperta-nos as perspectivas de investigação sobre os efeitos e anormalidades; efeitos esses relacionados com a combinação de gonadotrofinas exógenas e *flushing*.

Neste contexto, a associação da indução a puberdade e sincronização dos estros subseqüentes, combinados com a utilização do *flushing* alimentar, pode contribuir para uma maior taxa de ovulação e viabilidade dos embriões. Relacionado ao desenvolvimento folicular é essencial a análise da ocorrência de anormalidades que venham a caracterizar o aparecimento de cistos, associado ao aproveitamento da capacidade uterina. No aspecto prático há vantagens no que diz respeito a detecção de estro e inseminação, otimizando os resultados na reposição de matrizes nos planteis comerciais. Com esse escopo, o trabalho foi conduzido para averiguar as possíveis interações entre as técnicas, relacionando-as a taxa ovulatória, bem como as patologias ovarianas, representadas principalmente pelos cistos ovarianos, que merecem ser averiguados no seu contexto quanto a sua gênese.

2 OBJETIVOS

Os objetivos específicos dentro do modelo são:

- Descrever as degenerações císticas ovarianas encontradas em fêmeas submetidas ao uso ou não do *flushing* alimentar associado a administração ou não de gonadotrofinas exógenas.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 CISTO OVARIANO

O termo “Cisto Ovariano”, apesar de ser usado na linguagem comum como Cisto Folicular, não caracteriza-se como o mais comum e mais importante de ser diagnosticado em todas as espécies de mamíferos domésticos. Outros dezesseis diferentes tipos de cistos ocorrem no próprio ovário e ao seu redor. A incidência e a significância clínica dos vários tipos de cistos variam conforme as diferentes espécies de mamíferos domésticos. Segundo McEntee (1990), os cistos ao redor do ovário, podem ser classificados de acordo com sua origem, conforme é apresentado na tabela 1.

Tabela 1 - Classificação do Cistos conforme a Origem

Origem	Tipos de Cisto
<u>No ovário</u>	
Folículo	1- Vesícula Folicular Normal
Folículo	2- Folículo Atrésico Normal
Folículo	3- Cisto Folicular
Folículo	4- Cisto Luteinizado
Folículo	5- Cisto de Corpo Lúteo
Superfície do Epitélio	6- Cisto de Inclusão Epitelial (epitélio germinativo)
Estruturas Epiteliais Subcapsulares (EES)	7- Cisto EES
Rete Ovarii	8- Cisto de Rete Ovarii
Auto destruição de células tumorais da granulosa	9- Único Grande Cisto

Fonte: (McENTEE, 1990).

Ikeno (1982), por sua vez, propõe uma classificação da degeneração ovariana cística, dividindo-a em 3 categorias: 1) 1 ou 2 cistos; e o restante do ovário normal (de acordo com o estágio do ciclo); 2) cistos grandes com múltiplos cistos bilaterais que vão de 1.5 a 6cm de diâmetro, sendo subdivididos em: a) com presença de corpo lúteo e, b) sem a presença de corpo lúteo, e 3) cistos pequenos com múltiplos cistos bilaterais, e estes cistos apresentando aproximadamente 1.5cm.

3.1.1 Cisto Folicular

A degeneração ovárica cística nos suínos, é observada como falha na ovulação de um ou mais folículos no estro. Embora não se considere apenas um cisto folicular entre vários corpos lúteos, como anormal, a condição é caracterizada pela presença em um ou dois ovários de cistos variando em número e tamanho, podendo este ser de 1 à 6 cm de diâmetro (RYAN, 1991). Sendo a causa mais comum de infertilidade não infecciosa nos suínos, há constatação de sua ocorrência em percentuais que variam de 5 a 10% de porcas abatidas (ALMOND, 1991). A inadequada liberação ou ação de gonadotrofinas e defeitos no processo de ovulação podem precipitar a formação de cistos foliculares (HALL, 1993).

Miller (1984), relata que fêmeas suínas com ovários císticos podem permanecer em anestro intermitente ou permanente. Segundo Castagna et al.

(1999), não foi possível a determinação da duração do estro de fêmeas que apresentaram cisto, pois, grande parte delas manifestou estro intermitente, havendo ainda, em 4 delas além da ocorrência de cistos o comportamento ninfomaníaco. A atividade prolongada da fase folicular, resulta em ovulação ou atresia, ou ainda, em anormalidades foliculares que caracterizam os cistos (HUNTER,1980).

É essencial para o clínico e patologista saber o tamanho normal do folículo maduro nas várias espécies de animais domésticos, para podê-lo diferenciar de um cisto folicular. A constatação do tamanho do cisto foi realizada no exame *post-mortem*. (McENTEE, 1990.) e segundo Burguer (1952), o tamanho normal do folículo maduro em fêmeas suínas variou de 8 a 10 mm .

3.1.2 Cisto de Corpo Lúteo

Segundo McEntee (1990), o Cisto de Corpo Lúteo, desenvolve-se durante a ovulação, e, parece estar relacionado com o fechamento prematuro do ponto da ruptura com a formação de um cisto dentro do Corpo Lúteo em desenvolvimento.

Na ovulação, a papila ou saliência está presente, também chamada de fossa de ovulação, e isto diferencia um cisto de Corpo Lúteo de um Cisto Luteinizado (McENTEE, 1990).

Ainda McEntee (1990), relatou que o cisto de Corpo Lúteo, comumente tem uma zona de tecido fibroso entre as células luteínicas e a cavidade cística. O diâmetro completo do cisto de Corpo Lúteo é geralmente maior que o diâmetro de um Corpo Lúteo e a fossa de ovulação está presente. A massa de tecido luteínico é geralmente mais esférica do que um Corpo Lúteo normal, mas não se mostra tão circular como no cisto luteinizado. É interessante mencionar que apesar de terem sido encontrados cistos de corpo lúteo em 24% dos casos num universo de 357 vacas, segundo Marrow et al. (1996), não foram observados efeitos desses cistos na função reprodutiva. Sendo a patologia ovariana freqüente em bovinos, comumente há uma produção inadequada de progesterona, havendo o mesmo para o caso de um corpo lúteo sólido, daí o justificar para o não surgimento de efeitos contrários na reprodução. Tem sido ainda constatado que em vacas, a involução do Corpo Lúteo durante o período pós-parto, resulta em uma menor quantidade de fluído no cisto. (McENTEE, 1990). Portanto, os cistos de Corpo Lúteo ocorrem em outras espécies de animais domésticos, assim como em fêmeas suínas, sendo caracterizados como não tendo significância clínica, não havendo relação aparente entre cisto de Corpo Lúteo e Cisto Folicular ou Folículos Luteinizados (McENTEE, 1990).

3.1.3 Cisto Luteínico ou Cisto Luteinizado

Os Folículos Luteinizados, também chamados Cistos Luteínicos ou Cistos Luteinizados desenvolvem-se quando há uma aparente falha na liberação do hormônio luteinizante (LH), resultando em falha na ovulação mas com níveis suficientes de LH para induzir uma completa camada de células luteínicas no folículo anovulatório. O diagnóstico é baseado na presença de uma grande esfera cística lineada com uma completa camada de tecido luteínico e ausência de uma fossa de ovulação (protusão ovulatória) na superfície do ovário (McENTEE, 1990).

O uso de hormônio luteinizante (LH) para induzir super-ovulação em vacas, frequentemente induz a luteinização sem ovulação, McEntee (1990).

Archbald et al. (1973), estudando mudanças morfológicas seqüenciais no ovário de novilhas tratadas com gonadotrofinas, atestaram que o folículo luteinizado não rompido das novilhas tratadas com gonadotrofinas exógenas foi microscopicamente similar para folículos maduros e cisto luteínico de mesma degeneração cística ovariana na vaca (McENTEE, 1990).

Ginther (1979), reportou uma forma aparente de falha ovulatória em égua, constatando que “o folículo pré-ovulatório raramente desenvolve-se para um diâmetro grande (70 a 80 mm), falhando para ovular, mas com quantidades suficientes de hormônio no sangue e retrocedendo gradualmente. O folículo hemorrágico não-rompido, pode desenvolver uma completa ou parcial parede fina de tecido luteínico ou ficar visivelmente desprovido de tecido

luteínico. Estes cistos ocorrem durante o outono e são provavelmente chamados de “folículos de outono”.

3.2 INDUÇÃO E SINCRONIZAÇÃO DA PUBERDADE ASSOCIADO COM AS DEGENERAÇÕES OVARIANAS

A puberdade na espécie suína segundo vários autores, se caracteriza pelo aparecimento do primeiro estro, acompanhado de ovulação e invariavelmente fértil (ELIASSON, 1991; HUGHES; VARLEY, 1984). Este evento ocorre ao redor do sexto mês conforme Britt (1998), e é fortemente influenciado pela genética, clima, sociabilidade, exposição ao macho e outros (HUGHES, 1982). A marrã para atingir a puberdade deve alcançar um certo nível de maturação fisiológica compatível com seu desenvolvimento e sucesso reprodutivo (KIRKWOOD; AHERNE, 1985), pois, sustentará gestação, lactação e retorno ao estro pós desmama. A idade à puberdade induzida pela presença do macho ou com o emprego de gonadotrofinas exógenas, gira em torno dos 150 dias de idade das marrãs. (LAGO et al., 2003), verificaram a ocorrência de cistos em fêmeas induzidas com emprego de gonadotrofinas e presença do macho aos 154 dias de idade, da mesma forma que (CARBONE, 2002) em idade mais precoce.

A indução e sincronização do estro somente através do estímulo com o macho, em estudo realizado no Laboratório de Pesquisa em Suínos (LPS), mostrou percentual de 94,79% de fêmeas apresentando estro até o 33º dia

após o início do estímulo, aos 155 dias de idade das marrãs (MUNIZ, 2000). Carbone (2002) através da utilização do protocolo hormonal de 600UI eCG e 5mg LH porcino 72 horas após aplicação do eCG, em fêmeas com 126 dias de idade, obteve percentual de 82,61% de fêmeas em estro e em 100% das fêmeas foi observado ovulação até 5 dias após a aplicação de LH, em comparação ao controle que utilizou somente o macho, no qual notou-se estro em 40,91% das fêmeas até 175 dias de idade. Vianna (2004), utilizando o mesmo protocolo hormonal, com fêmeas de 148 dias de idade, obteve 53,03% de estro até sete dias após aplicação do LH e 60,60% de estros no ciclo subsequente ao sincronizado, verificando ainda percentual de aproximadamente 11% de fêmeas imaturas (não ovularam). Lago et al. (2003, 2004), utilizando metade da dose do LH porcino, verificaram percentual de 43% das fêmeas manifestando estro, quando induzidas ao primeiro estro com 157 dias de idade, e 86,84% de estro, no ciclo subsequente ao da indução. Gama et al. (2002), utilizando o protocolo hormonal com eCG e LH, verificaram percentual de 60,87% de marrãs em estro, em média, no 5º dia após o início do tratamento. A combinação hormonal (eCG e LH) constituiu-se, portanto, nesses estudos num instrumento eficiente na indução e sincronização do estro e ovulação em marrãs pré-púberes, sendo a mesma utilizada no presente estudo. Esses percentuais, destacam a variabilidade nas respostas quanto ao uso dos referidos hormônios. Acresce-se a esse fato, tanto nos estudos de Carbone (2002) como de Gama (2002), e mesmo de Lago et al. (2003), com marrãs, utilizando gonadotrofinas exógenas, a ocorrência de cistos que de mesmo forma mostraram percentuais com alta variabilidade, que desperta a atenção para averiguações mais aprofundadas nessa linha de estudos com

puberdade em marrãs. A literatura, na realidade, faz referência a ocorrência de cistos foliculares relacionados à puberdade em marrãs, havendo citações que revelam resultados bastante variados. Tilton et al.¹ (1995 apud LAGO et al., 2003), observaram em 79% das fêmeas tratadas com 400 UI de eCG e 200 UI de hCG a presença de cistos, enquanto que no grupo controle o índice foi de 12%. Com a mesma combinação hormonal utilizada, Gama (2002), refere-se a ocorrência em 37,31% dos animais e Carbone (2002) trabalhando também com a mesma combinação hormonal, encontrou percentual de 8,72% entre os animais tratados.

Knox et al. (2000), trabalhando com marrãs pré-puberes, citam frequências de 9 e 13% de cistos foliculares, maiores de 12 mm, utilizando PG600® (400 UI de eCG e 200 UI hCG) em aplicação intramuscular e subcutânea, respectivamente. Por outro lado, Tilton et al.¹ (1995 apud LAGO et al., 2003), observaram em fêmeas impúberes de 140 a 150 dias de idade, induzidas a ovular com PG600® (eCG), o percentual de 79% de incidência de cistos, enquanto que, no grupo controle, o índice foi de 12%.

Diante dessa alta variabilidade encontrada para a ocorrência de cistos ovarianos, quando da aplicação de gonadotrofinas, referenciado por vários autores, evidencia-se a importância desses estudos relacionando-os com as características histológicas à fim de que se possa diagnosticar com maiores detalhes, conhecendo-se melhor sua gênese.

Um outro aspecto de importância no estudo da puberdade relaciona-se a estimulação precoce a qual pode ser vantajosa na medida em que antecipa o início da vida reprodutiva, preparando o aparelho genital da matriz para um

---

¹ TILTON, S. L.; BATES, R. O. ; PRATHER, R. S. Evaluation of response to hormonal therapy prepubertal gilts of different genetic lines. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 3062-3068, 1995.

melhor desempenho durante a vida reprodutiva. Assim a puberdade precoce propicia a oportunidade de dois ou três ciclos estrais, antes da cobertura, com suas respectivas fases progesterônicas, além da consolidação dos mecanismos hormonais relacionados a estrógenos, gonadotrofinas e fatores liberadores, contribuindo na preparação do útero, e aumentando sua capacidade .

Para Foxcroft e Aherne (2000), evidenciam esse fato concluindo que, atingir a puberdade o mais precoce possível é uma meta importante devendo ser usados todos os meios possíveis para se atingi-la. Pois, uma proporção considerável de marrãs levadas à indução mais precoce do estro, oferece a oportunidade de experimentarem maior número de ciclos antes da cobertura ou IA, que favorece um desenvolvimento mais acentuado do aparelho genital, podendo apresentar taxas de parto e tamanhos da primeira leitegada mais elevados (BOTTE et al., 1990). Merece na realidade o mesmo raciocínio para a estabilização da taxa ovulatória na dinâmica do desenvolvimento folicular.

Gufrie et al. (1997), estudando a aplicação de um progestágeno em marrãs, Altrenogest®, para a sincronização da fase folicular e determinação do efeito de uma preparação de FSH contendo menos de 1% de atividade LH, na fertilização, verificaram aumento do número potencial de folículos ovarianos, sendo este benefício não concretizado pela redução de incidência e falhas de vários folículos envolvidos. Cistos ovarianos tiveram mais presentes em fêmeas tratadas com eCG em comparação ao preparado de FSH, mas as diferenças não foram significativas.

Knox et al. (2000), avaliando o efeito da administração de PG600® na resposta estral e ovulatória em marrãs pré-púberes, verificou uma alta

proporção de fêmeas manifestando estro com aplicação subcutânea de PG600® (76%) em comparação as com injeção intramuscular (52%) ou controle sem aplicação (15%). Não houve efeito significativo do tratamento sobre o número de corpos lúteos (17,9), número de cistos foliculares (1,5) ou número de cistos de corpo lúteo (21). Não houve influencia do tratamento sobre a incidência de cistos.

A injeção de eCG (PMSG) acompanhada 72 horas após hCG, induz corpos lúteos acessórios em algum estágio do ciclo estral (CALDWELL et al., 1969; Guthrie; Polge, 1976; Guthrie, 1979). O nível de sucesso na indução de corpos lúteos acessórios varia entre 70 a 100% (CALDWELL et al., 1969) dependendo do dia do ciclo estral que as marrãs são tratadas.

Não é conhecida a razão para a demora observada na resposta à ação das gonadotrofinas quanto da ocorrência de cistos, mas as gonadotrofinas exógenas, são conhecidas por ter relativamnete meia vida longa. A possibilidade desses hormônios causarem uma estimulação não apropriada, não pode ser desprezada (HAFF et al., 2002).

Nas dosagens elevadas de eCG, a possibilidade de aparecer desenvolvimentos foliculares anormais é alta. Observando os mecanismos envolvidos, a incompetência dos intervalos entre estros observados nos estudos de (HAFF et al., 2002) aliado ao potencial de indução de cistos foliculares, os autores ponderam que exista portanto o real impedimento da aplicação comercial de gonadotrofinas durante a fase luteínica (HAFF et al., 2002). Por outro lado, a aplicação de gonadotrofinas para a indução do primeiro estro à puberdade, afim de provocar maior sincronização dos estros e melhor aproveitamento das marrãs na incorporação ao plantel de matrizes, com a

inseminação feita no 4º estro, trouxe resultados que demonstraram vantagem econômica considerando os valores para tamanho da leitegada e taxa de aproveitamento até o 1º parto (PINESE et al., 2005).

No campo, portanto, da aplicação das gonadotrofinas, mais estudos precisam ser conduzidos objetivando garantir resposta mais adequada da combinação hormonal, principalmente no que se relaciona a qualidade do oócito, além do diferencial de recrutamento de folículos, em comparação a não aplicação exógena, caminhando assim a um mimetismo mais acurado (CARBONE, 2002). Estudos com gonadotrofinas exógenas (eCG e hCG) apresentaram ocorrência de cistos foliculares, sendo que as dosagens destes hormônios aplicadas separadamente (72 horas) e em baixas quantidades. Bolomba et al. (1991), vieram a demonstrar que o número e tamanho dos folículos no momento da aplicação de hCG, devem atuar sobre uma certa subpopulação de folículos (médios e/ou grandes) para induzir a ovulação ou que atue indiretamente para iniciar a maturação de folículos pré-ovulatórios e aumentar a secreção de estradiol seguida de uma onda pré-ovulatória de LH que é a responsável pelo desencadeamento da ovulação. Elsaesser² (1982 apud KNOX et al., 2000) sugere ainda que o mecanismo da onda de LH está intacto e funciona anterior á puberdade e embora a marrã possa responder ao *feedback* de estrógeno, o ovário pode não ser capaz de liberar uma onda de estrógeno. Knox et al. (2000), relataram que a razão pela qual marrãs pré-púberes são induzidas ao estro 4 a 5 dias após a aplicação de gonadotrofinas, é devido ao fato de que os hormônios atuam sobre folículos médios e grandes

---

² ELSAESSER, F. Endocrine control of sexual maturation in the female pig and sexual differentiation of stimulatory oestrogen feedback mechanism. IN: D. J. A. COLE and G. R. FOXCROFT (ed). **Control of Pig Reproduction**. Butterworth Scientific: London. p.117-138, 1982.

que se encontram nos ovários no momento da indução. Estes folículos, uma vez presentes, tem a capacidade de maturarem, produzirem estrógeno e ovularem e se em número suficiente, produzirem níveis de estrógeno para induzir o estro.

É importante considerar no momento da manifestação do primeiro estro, indicando a maturidade sexual, o estado metabólico do animal, retratado indiretamente pelo estado corporal. Os metabólitos e hormônios, encontram-se em um determinado nível que propiciam ao hipotálamo, condições de resposta frente às substâncias estimulatórias e inibitórias. Os níveis de estrógeno neste estágio influenciariam na mudança de efeito inibitório para o estimulatório, caracterizando o feed-back positivo e no funcionamento da tríade hipotálamo-hipófise-ovário. O evento ocorre entre os cinco e seis meses de idade (BRITT, 1998), estando associado à maturação do eixo hipotálamo-hipófise e conseqüente habilidade do ovário em responder às gonadotrofinas, e secretar os hormônios esteróides.

Os folículos selecionados para ovulação são recrutados de um pool proliferativo que contém em média de 50 folículos entre 2 e 5 mm de diâmetro (FOXCROFT; HUNTER, 1985), mas tem sido reportado que o tamanho específico dos folículos varia em determinada faixa, especialmente em raças de elevado número de ovulações (FOXCROFT; HUNTER, 1985; KIRKPATRICK et al., 1967) e assim poderia determinar o potencial de ovulação.

Com base nos relatos anteriores é relevante o estudo correlacionado enfocando a ocorrência do cisto ovariano, uma vez que este traz transtornos

reprodutivos de elevada monta e principalmente sua gênese e mecanismos de prevenção e tratamento.

3.3 FLUSHING

Conforme Rhodes et al. (1991) o *flushing* consiste no aumento de consumo de alimento de marrãs durante o período pré-cobertura, o que leva a uma mudança metabólica, considerando uma fase anterior de restrição alimentar. Ocasiona, primeiramente, um aumento dos níveis plasmáticos de insulina (BOOTH et al., 1996) a qual age como mediador dos efeitos metabólicos, dos quais o principal, sobre o aspecto reprodutivo, é a resposta significativa na secreção de hormônio luteinizante (LH) (BOOTH 1990; FLOWERS et al., 1988) que por sua vez promove a maturação final dos folículos e a ovulação.

A sincronização do estro junto ao estímulo hormonal exógeno promove também a melhor aplicação do *flushing* alimentar (LAGO et al., 2003). Em marrãs, existe uma relação positiva entre nível alimentar, consumo de energia e taxa de ovulação, onde marrãs providas de dieta adicional em energia, acima dos requerimentos de manutenção, por 8 a 14 dias antes do estro da primeira inseminação, proporciona um aumento na taxa de ovulação (KIRKWOOD; AHERNE, 1985) e sobrevivência embrionária (LAGO et al., 2004). É importante lembrar que além do manejo nutricional, outros fatores ambientais como

doenças, temperatura e estresse de um modo geral, também, interferem na sobrevivência dos embriões (EDWARDS et al., 1968).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ANIMAIS

Foram utilizados 72 fêmeas pré-púberes com 140 dias de idade e 85 kg de peso vivo, em média, provenientes da Granja Penarlan do município de Espírito Santo do Pinhal – SP, de linhagem híbrida denominada NAIMA® com componente genético da raça chinesa Meishan.

4.2 LOCAL E INSTALAÇÕES

O período experimental foi desenvolvido nas instalações do Laboratório de Pesquisas de Suínos da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo – Campus de Pirassununga. Os ovários para o estudo das degenerações císticas ovarianas foram separados no matadouro do Campus, sendo as estruturas processadas no Laboratório de Oncologia Experimental-Departamento de Patologia, FMVZ- USP, Campus São Paulo.

4.3 - MANEJO

O primeiro estro à puberdade foi induzido com auxílio de gonadotrofinas exógenas (eCG e LH) tanto quanto, o segundo estro. quando então, as fêmeas foram inseminadas . A indução ao primeiro estro estabeleceu o primeiro dia do período experimental que se estendeu por 32 dias, com aplicação das gonadotrofinas no primeiro estro, inseminação no segundo estro e abate.

Para a estimulação e detecção do estro, e determinação do momento da inseminação, foi utilizado a presença de machos, levado-os às baias por 15 minutos, duas vezes ao dia, à partir do 7º dia após o primeiro estro, até o final do experimento.

Os animais foram alojados em baias medindo 4,5 m², distribuídos em subgrupos de 3 por baia(1,50 m² / animal). Os animais formaram 3 grupos de acordo com a aplicação das gonadotrofinas para o 1º estro a puberdade, e também correspondendo a variabilidade da idade e peso de chegada dos animais.

As fêmeas foram inseminadas, ao 2º estro, com duas doses de sêmen heterospérmico às 12 e 24 horas após o início do estro, definido pelo reflexo positivo de tolerância ao macho (RTM) . Após cinco dias da inseminação, foram levadas ao abate, para a retirada do aparelho genital, para exames morfológicos específicos e subsequente avaliação da taxa ovulatória, viabilidade embrionária e patologia cística ovariana.

4.4 ALIMENTAÇÃO

Quanto à alimentação, foi oferecida uma única dieta em toda a fase experimental, atendendo aos requerimentos nutricionais para a idade e peso (NRC, 1998) e segundo programa de arração da empresa fornecedora dos animais.

Para o esquema *flushing*, foi estabelecido o fornecimento de 3 kg/animal/dia (9.860,19 kcal/dia ME) da mesma ração, de acordo com o delineamento experimental. O arração foi feito em dois tratos diários, às 7:00 e 16:00 horas.

A partir do sétimo dia do primeiro cio, o grupo tratado com o *flushing*, recebeu a quantidade de ração proposta, enquanto para o grupo testemunha, foi mantida a quantidade inicial, ou seja, 2 kg/animal/dia (6.573,46 kcal/dia ME), respeitando os mesmos horários da fase anterior .

Ao segundo cio, os animais foram inseminados e, imediatamente após a última inseminação, o grupo em *flushing* retornou ao regime alimentar do grupo testemunha.

4.5 TRATAMENTOS

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em um esquema fatorial em dois níveis. Um nível considerando a aplicação ou não de

gonadotrofinas exógenas no 2º estro à puberdade e o outro considerando a utilização ou não do *flushing* constituindo assim quatro tratamentos, conforme tabela 2.

Tabela 2 – Tratamentos e descrição

Tratamentos		Descrição do Tratamento
cFcH	com <i>Flushing</i> com Hormônio	Do 1º ao 7º dia – 2 kg da ração/animal/dia. Do 8º dia até a I.A. 3 kg da ração/animal/dia. Ao 16º dia aplicação de 600 UI de eCG* e após 72 horas 2,5 mg de LH*
sFcH	sem <i>Flushing</i> com Hormônio	2 kg/ração/animal/dia. Ao 16º dia aplicação de 600 UI de eCG e após 72 horas 2,5 mg de LH
cFsH	com <i>Flushing</i> sem Hormônio	Do 1º ao 7º dia – 2 kg da ração/animal/dia. Do 8º dia até a I.A. 3 kg da ração/animal/dia.
sFsH	sem <i>Flushing</i> sem Hormônio	2 kg/ração/animal/dia durante todo o período experimental

* eCG gonadotrofina coriônica equina

** LH hormônio luteinizante

O tratamento hormonal compreendeu:

Injeções intramusculares de 600 UI de PMSG (Novormon® 50000 - Syntex S.A.) e após 72 horas 2,5 mg de LH (Lutropin-VÒ® - Vetrepfarm Canada Inc., Canadá).

O primeiro estro à puberdade foi induzido com aplicação hormonal referida anteriormente a partir dos 140 dias de idade das fêmeas, com o objetivo de sincronizar e homogeneizar o material experimental.

Conforme referido no manejo alimentar, no intervalo entre o 1º e 2º estro, foram aplicados os tratamentos, sendo nos primeiros 7 dias, após diagnóstico do 1º estro, oferecida a ração de reposição controlada e após este período fornecida à vontade, nos respectivos tratamentos com *flushing*. Os hormônios foram aplicados no 15º dia após o primeiro estro, de acordo com resultados obtidos com fêmeas na mesma faixa etária, na mesma fase do ciclo (GAMA et al., 2002).

4.6 ABATE DOS ANIMAIS E COLETA DE MATERIAL

Os animais foram abatidos aos 5 dias de gestação, quando foi verificada o número de ovulações (contagem do número de Corpos Lúteos) e Cistos ovarianos, além da retirada dos úteros para coleta dos embriões, para verificação da viabilidade embrionária.

Os órgãos foram coletados, após o abate por atordoamento e sangria, com os animais em decúbito dorsal, para evitar o refluxo de urina para o interior do útero. Cada oviduto foi lavado com 10 ml de solução salina fosfato (PBS), do infundíbulo em direção ao útero. Em seguida, feita a secção do oviduto e o respectivo corno uterino ser lavado duas vezes utilizando 50 ml de PBS, foram depositados em duas placas de Petri para a recuperação dos embriões e oócitos. A avaliação da viabilidade embrionária foi feita por estéreo-microscopia, baseada na presença e uniformidade do espaço perivitelíneo com blastômeros uniformemente distribuídos e no estágio de desenvolvimento

correspondente ao tempo entre a ovulação e a colheita. Os embriões que não se enquadraram nos critérios estabelecidos, foram classificados como degenerados. A taxa de viabilidade embrionária foi calculada pelo número de embriões viáveis dividido pelo número total de embriões e oócitos. Os órgãos destinados aos exames morfológicos foram examinados aplicando-se técnicas histopatológicas específicas no Laboratório de Oncologia Experimental do Departamento de Patologia - FMVZ.

4.7 ESTUDO HISTOLÓGICO DOS OVÁRIOS

No momento do sacrifício, foram coletados os ovários das marrãs submetidas aos diferentes tratamentos. Os cistos ovarianos foram classificados quanto a sua origem, nos diferentes tratamentos, para averiguar os efeitos da utilização hormonal exógena e *flushing*. Cortes sagitais dos ovários foram fixados em formol a 10%, e, rotineiramente processados para inclusão em parafina. Os cortes histológicos de 5µm, assim obtidos, foram corados com hematoxilina e eosina – H.E., para exame morfológico em microscópio de luz (microscópio NIKON E-800), utilizando-se objetiva de 0.5. Os ovários foram fotografados em sistema de análise de imagens computadorizado (Image Pro-Plus®).

As fotos foram realizadas em quatro quadrantes ou mais, devido a capacidade de visualização da área total do ovário. Estes quadrantes foram impressos em papel e montados em seguida, tornando-se assim uma

reprografia da área total de cada ovário que foi devidamente identificado, correspondendo às fêmeas nos diferentes tratamentos, para posterior análise visual da presença de estruturas císticas e sua classificação quanto ao tipo de cisto encontrado.

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado com arranjo fatorial 2 X 2. Considerou-se um nível, a aplicação ou não de hormônios exógenos e o outro nível, o emprego ou não do *flushing* alimentar. As variáveis Taxa de Ovulação e Viabilidade Embrionária foram submetidas à análise de variância, obedecendo à homogeneidade das variâncias e normalidade dos resíduos (Teste de Bartlett).

As variáveis Frequência de Cistos Ovarianos, de Cistos Foliculares, de Cistos de Corpo Lúteo e de Cisto Luteínico foram analisados pelo teste não paramétrico, Teste Exato de Fisher, considerando o nível de significância de 5%.

As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa computacional Statistical Analysis System (SAS, 1999).

5 RESULTADOS

5.1 SINCRONIZAÇÃO E DISPERSÃO DOS ESTROS

Primeiramente, convém destacar alguns dados que indiretamente estão associados, com as avaliações dos cistos ovarianos. Assim sendo, os resultados relativos aos intervalos entre o primeiro e segundo estro, indicando a ciclicidade das fêmeas, envolvendo a aplicação ou não de hormônios, na faixa aceitável de variação de (18 a 25 dias), não havendo diferenças entre os tratamentos, independente da utilização ou não de *flushing*, indicando a não interação dos fatores. Os valores foram de 8.70% a 45.45% (CARBONE et al., 2002) cuja variabilidade menor para o tratamento com hormônio expressou o efeito hormonal no melhor sincronismo. Quanto às fêmeas empregadas no estudo os valores médios gerais, quanto à idade, $157,48 \pm 5,02$ dias; peso vivo, $96,65 \pm 7,70$ kg; na ocasião do primeiro estro e valores no segundo estro de $184,49 \pm 4,97$ e $113,32 \pm 9,62$ kg, respectivamente para idade e peso vivo, e ainda espessura de toucinho de $10,1 \pm 2,1$ mm, junto com as variabilidades foram essenciais para destacar a homogeneidade dos animais, condições essas importantes para a associação relacionando; modelo experimental e as degenerações císticas ovarianas.

Ressalta-se ainda os percentuais de fêmeas: que apresentaram manifestação aparente de estro (42,25%); que ovularam (100%); que não apresentaram manifestação de estro (57,75%); e que mostraram valores na sincronização no segundo estro de 87,50 e 92,75% para os tratamentos com *flushing* com hormônio e sem *flushing* e com hormônio, respectivamente. Aliado ainda as manifestações de estros concentrados num período de até 5

dias, após aplicação de LH, para a combinação hormonal (eCG e LH), formam no conjunto de observações, o complemento necessário no diferenciar das alterações e tipos de cistos prevalentes nos diferentes grupos.

5.2 NÚMERO DE OVULAÇÕES

A análise de variância do número de ovulações, medida através de averiguação macroscópica do ovário no momento da colheita dos órgãos e contagem dos Corpos Lúteos (CL) não revelou diferença significativa ($P>0,05$), entre os tratamentos, nem tampouco interação ($P=0,81$). Os valores encontrados, para os tratamentos com e sem hormônio e com e sem *flushing* foram de $14,60 \pm 5,78$; $13,23 \pm 4,83$ CL; $14,28 \pm 5,06$ e $13,47 \pm 5,57$ CL, respectivamente, conforme ilustra a tabela 3.

Tabela 3 – Tamanho da amostra, Valores médios, Desvios-padrão e Coeficiente de variação do Número de Ovulações (N° de Corpos Lúteos) no conjunto de tratamentos e seus efeitos principais. Probabilidade (P)

Tratamentos*	N	Média	Desvio	CV	P
cFcH	16	14,87	6,08	40,92	0,81
sFcH	17	14,35	5,66	39,48	
cFsH	19	13,78	4,11	29,85	
sFsH	19	12,68	5,51	43,50	
<i>Flushing</i>	N	Média	Desvio	CV	P
Com	35	14,28 ^a	5,06	35,43	0,52
Sem	36	13,47 ^a	5,57	41,36	
Hormônio	N	Média	Desvio	CV	P
Com	33	14,60 ^a	5,78	39,62	0,28
Sem	38	13,23 ^a	4,83	36,52	
Geral	71	13,87	5,30	38,23	

Interação não significativa. (P = 0,81)

^a. Sobrescritos iguais, valores não diferem entre si.

5.3 VIABILIDADE EMBRIONÁRIA

Na tabela 2 são apresentados os valores médios e desvios-padrão para o número de embriões viáveis, os quais, na análise de variância, não revelaram interação significativa entre os tratamentos. No entanto, foi destacada diferença significativa entre os tratamentos, separadamente, com e sem hormônio, $8,39 \pm 5,66$ e $11,25 \pm 4,58$ respectivamente, (P=0,028), indicando valores inferiores para o tratamento com hormônio. Observou-se, da mesma forma, diferença significativa entre os tratamentos com e sem *flushing*, $11,55 \pm 4,81$ e $8,50 \pm 5,32$ respectivamente, (P=0,021), apontando valor superior para o tratamento

com *flushing*. Os efeitos principais dos fatores podem ser observados na figuras 1 e 2 .

Tabela 4 - Tamanho da amostra, Valores médios, Desvios-padrão e Coeficientes de variação da quantidade embriões viáveis no conjunto de tratamentos e seus efeitos principais. Probabilidades (P)

Tratamentos*	N	Média	Desvio	CV	P
cFcH	13	9,92	5,72	57,66	0,86
sFcH	15	7,06	5,45	77,22	
cFsH	14	13,07	3,31	25,36	
sFsH	17	9,76	5,03	51,52	
<i>Flushing</i>	N	Média	Desvio	CV	P
Com	27	11,55 ^a	4,81	41,66	0,02
Sem	32	8,50 ^b	5,32	62,68	
Hormônio	N	Média	Desvio	CV	P
Com	28	8,39 ^a	5,66	67,5	0,02
Sem	31	11,25 ^b	4,58	40,75	
Geral	59	9,89	5,28	53,58	

* Interação não significativa. (P = 0,86)

^{a, b} Sobrescritos diferentes valores diferem entre si.

Figura 1 - Efeito do fator hormônio sobre o número de ovulações e viabilidade embrionária

Figura 2 – Efeito do fator *flushing* sobre o número de ovulações e viabilidade embrionária

5.4 CISTOS OVARIANOS

As freqüências observadas para cistos ovarianos, diagnosticados em 11 animais do total de 71 marrãs (15,49%), após a análise pelo Teste Exato de Fisher, foram de 14,29 vs 16,67% nos tratamentos com e sem *flushing*, respectivamente, e de 15,15 vs 15,79% nos tratamentos com e sem hormônio, respectivamente. Não se constatou diferença significativa entre os mesmos, não havendo interação entre as características aqui referenciadas, conforme valores apresentados na tabela 5.

Tabela 5 – Tamanho da amostra, Freqüências % e Probabilidades (P) de cistos ovarianos, nos tratamentos com e sem *flushing*, e com e sem hormônio.

Tratamentos	N	Freqüência %	P
CFcH	2 (16)	12,5	1,00
SFcH	3 (17)	17,65	
CFsH	3 (19)	15,79	
SFsH	3 (19)	15,79	
<i>Flushing</i>	N	Freqüência %	P
Com	5 (35)	14,29	0,78
Sem	6 (36)	16,67	
Hormônio	N	Freqüência %	P
Com	5 (33)	15,15	0,94
Sem	6 (38)	15,79	
Geral	11 (71)	15,49	

5.5 CARACTERIZAÇÃO DOS CISTOS: FOLICULAR; CORPO LÚTEO E LUTEÍNICO

As frequências observadas para cistos foliculares nos tratamentos, foram de 12,50% para CFcH e de 5,88% para SFcH, sendo que os demais tratamentos não apresentaram este tipo de cisto. Não foi detectada diferença significativa entre os tratamentos mediante Teste Exato de Fisher, tabela 6.

Tabela 6 – Tamanho da amostra, Frequência % e Probabilidades (P) dos cistos foliculares, nos tratamentos

Tratamentos*	N	Frequência %	P
CFcH	2 (16)	12,50	0,09
SFcH	1 (17)	5,88	
CFsH	0 (19)	0	
SFsH	0 (19)	0	
<i>Flushing</i>	N	Frequência %	P
Com	2 (35)	5,71	0,23
Sem	0 (36)	0	
Hormônio	N	Frequência %	P
Com	3 (33)	9,09	0,09
Sem	0 (38)	0	
Geral	3 (71)	4,22	

*CF – com *Flushing*; SF – sem *flushing*; cH – com Hormônio; sH – sem Hormônio

As frequências verificadas para cistos de corpo lúteo, quando da análise dos fatores em separado, foram de 11,43 vs 8,33% para *flushing* (com e sem, respectivamente) e 9,09 vs 10,53% para hormônio (com e sem, respectivamente), não havendo diferença significativa, conforme tabela 7.

Tabela 7 – Tamanho da amostra, Frequência % e Probabilidades (P) de cistos de corpo lúteo, nos tratamentos com e sem *flushing*, e com e sem hormônio

Tratamentos	N	Frequência %	P
CFcH	2 (16)	12,50	0,95
SFcH	1 (17)	5,88	
CFsH	2 (19)	10,53	
SFsH	2 (19)	10,53	
<i>Flushing</i>	N	Frequência %	P
Com	4 (35)	11,43	0,71
Sem	3 (36)	8,33	
Hormônio	N	Frequência %	P
Com	3 (33)	9,09	1,00
Sem	4 (38)	10,53	
Geral	7 (71)	9,85	

As freqüências observadas para cistos luteínicos foram de 2,86 vs 5,56% nos tratamentos com e sem *flushing*, respectivamente e de 3,03 vs 5,26% nos tratamentos com e sem hormônio, respectivamente. Não se observou diferença significativa entre os tratamentos, conforme tabela 8.

Tabela 8 – Tamanho da amostra, Freqüência % e Probabilidades (P) de cistos luteínicos, nos tratamentos

Tratamentos*	N	Freqüência %	P
CFcH	0 (16)	0	1,00
SFcH	1 (17)	5,88	
CFsH	1 (19)	5,26	
SFsH	1 (19)	5,26	
<i>Flushing</i>	N	Freqüência %	P
Com	1 (35)	2,86	1,00
Sem	2 (36)	5,56	
Hormônio	N	Freqüência %	P
Com	1 (33)	3,03	1,00
Sem	2 (38)	5,26	
Geral	3 (71)	4,22	

*CF – com *Flushing*; SF – sem *flushing*; cH – com Hormônio; sH – sem Hormônio

Foram observadas numericamente percentuais maiores para cistos de corpo lúteo em comparação aos cistos foliculares e luteinizados. 4,22%, 9,85% e 4,22%, respectivamente.

6 DISCUSSÃO

A averiguação conjunta, metodologia experimental a qual envolve, a aplicação de gonadotrofinas e *flushing* e os resultados da análise da degeneração cística ovariana, representam na seqüência de estudos envolvendo indução, sincronização do estro à puberdade em marrãs, a suspeita de efeitos exercidos pelo hormônio ou *flushing* ou a combinação dos dois que interferem na dinâmica fisiológica do desenvolvimento folicular.

Com base nessa linha de raciocínio são apresentados na seqüência dos resultados um início de questionamento ao quesito suspeita referida.

Dessa forma e do ponto de vista quantitativo, o percentual do número de ovulações, nos diferentes tratamentos, não mostrou diferença estatística significativa (CFcH – 14,87%, SFcH – 14,35%, CFsH – 13,78%, SFsH – 12,68%), não havendo interação entre os fatores . Os valores se assemelham aos encontrados por (CARBONE et al., 2002) que desenvolveram estudos com marrãs empregando a mesma combinação hormonal o mesmo ocorrendo em outras investigações sem o emprego de hormônios (MUNIZ, 2000). Para a frequência de cistos ovarianos embora os valores tenham se mostrado numericamente diferentes não foi verificada diferença significativa entre os tratamentos. Esses resultados de certa forma se assemelham aos encontrados nos estudos desenvolvidos no Laboratório de Pesquisa em Suínos – LPS (CARBONE et al., 2002), Destaca-se nessa característica a variabilidade, tanto no presente estudo como comparativamente à literatura, quanto aos percentuais e principalmente nos tratamentos envolvendo a aplicação hormonal oscilando os valores entre 8,70% a 68,42% (CARBONE et al., 2002); 12% a 79% (TILTON et al., 1995); 9 a 13% (KNOX et al., 2000); 37,31% Gama, et al. (2002); Lago et al. (2003), de 15,15% a 22,86%, o que vem despertar a

atenção para averiguações mais detalhadas nesse tópico. Por outro lado, na viabilidade embrionária, quando da análise dos tratamentos, em separado, foi verificado resultado interessante para a resposta hormonal e *flushing*, observando-se no grupo tratado com hormônio valor inferior na viabilidade enquanto que o grupo tratado com *flushing* o valor mostrou-se superior, o que denota um efeito negativo da ação hormonal.

Ainda do ponto de vista quantitativo, considerando um total de 72 animais, 11 apresentaram cistos, nos diferentes tratamentos caracterizando um percentual de 15,49%. Sobre o aspecto histológico foram identificadas as seguintes estruturas celulares: Cistos Foliculares, Cistos de Corpo Lúteo e Cistos Luteínicos conforme bem destaca as figuras 4, 5 e 6.

Os três tipos de cistos foram analisados quantitativamente e qualitativamente. Quanto a sua freqüência foram analisadas as ocorrências entre os tratamentos havendo percentuais para Cisto Folicular (CF) de 12,5% no tratamento CFcH; de 5,88% no tratamento SFcH, não sendo constatado nos demais tratamentos (CFsH, SFsH). Nas análises em separado observaram-se freqüências de 5,71% somente para efeito *flushing* e de 9,09% para efeito de hormônio. Contudo a observação desses valores considerando o aspecto puramente numérico, nos leva a acreditar na hipótese de que as gonadotrofinas podem levar a um maior aparecimento de cistos foliculares, uma vez que a combinação *flushing* e hormônios teve freqüência relativamente menor quando comparada somente ao efeito de hormônio, apesar das diferenças não se mostrarem significativas. Um outro ponto de dúvida, reside no fato de levarmos em consideração, no que seria valor elevado, médio ou baixo como percentual de cisto, tendo como objetivo o efeito na eficiência

reprodutiva e reflexo econômico, tratando-se de animais de produção. Para os outros tipos de cistos, o mesmo raciocínio deve ser considerado.

Por outro lado, os Cistos de Corpos Lúteos (CCL), apresentaram as seguintes frequências para os tratamentos: CFcH, 12,50%; SFcH, 5,88%; CFsH, 10,53%; SFsH, 10,53%, não havendo diferença significativa. Quando avaliado em separado, efeito *flushing* e hormônio, os valores percentuais foram de 11,43% com *flushing* e de 8,33% sem *flushing*, 9,09% com hormônio e de 10,53%, sem hormônio.. RHODES et al. (1991), utilizando *flushing* em marrãs, concluíram que o mesmo leva a um aumento no número de corpos lúteos ($14,5 \pm 0,4$ vs $13,4 \pm 0,4$), levantando a hipótese de que poderia haver proporcionalmente um aumento de cistos de corpo lúteo. Na verdade o que verificou-se no estudo um maior percentual médio de cistos de corpo lúteo, podendo caracterizar-se numa resposta também já esperada, pois, as fêmeas foram abatidas no 5º dia pós inseminação e portanto quinto dia de gestação com predomínio da progesterona.

No que diz respeito aos Cistos Luteínicos as frequências encontradas foram semelhantes para os tratamentos, não ocorrendo presença de cistos no grupo CFcH, e também não houve diferença estatística significativa para os efeitos isolados.

É importante ressaltar neste item relacionado aos tipos e frequências, de que para Ryan (1991), o aparecimento de Cistos Foliculares está relacionado com uma falha na ovulação, embora um único Cisto Folicular entre vários corpos lúteos seja considerado como anormal, esta condição é caracterizada pela presença em um ou dois ovários de cistos variando em número e tamanho, 1 a 6 cm de diâmetro.

Almond (1991), relatou que os cistos foliculares são a causa mais comum de infertilidade não infecciosa nos suínos, constatando em seus estudos a ocorrência de 5 a 10% das fêmeas abatidas. Levando em consideração (McENTEE, 1990.) que relatou que cistos de corpos lúteos não trazem prejuízos a reprodução da fêmea suína, devemos considerar que é de suma importância o conhecimento das características macroscópicas e microscópicas dos cistos (histopatologicamente), à fim de sanarmos dúvidas ainda existentes no campo das averiguações das degenerações císticas, tendo em vista sua ocorrência quanto as suas características, evitando do ponto de vista macroscópico, generalizar os cistos ovarianos como cistos foliculares.

Miller (1984) por outro lado, relatou que as fêmeas suínas com ovários císticos, podem permanecer em anestro intermitente ou permanente. Já Hunter (1980), relatou que a atividade prolongada da fase folicular resulta em ovulação ou atresia, ou ainda anormalidades foliculares que caracterizam os cistos. A razão para a demora observada na resposta à ação das gonadotrofinas quanto a ocorrência de cistos, não é conhecida mas as gonadotrofinas exógenas são conhecidas por ter relativamente meia vida longa. A possibilidade desses hormônios causarem uma estimulação não apropriada não pode ser desprezada (HAFF et al., 2002). Acompanhando o raciocínio dos autores juntamente com os resultados obtidos e observados, é fato notório de que as degenerações císticas ovarianas, por serem pouco estudadas a fundo, não esclarece o fato de que estas fêmeas possuíam esse ou aquele tipo de cisto, pois a classificação mais acertada poderia esclarecer muitos aspectos dessa pouco conhecida degeneração em suínos. Miller (1984), relatou a possibilidade de anestro na presença de cisto folicular, Marrow et al. (1996), pondera que os

cistos de corpo lúteo (CCL) nada afetam a reprodução, uma vez que a fêmea ovula e a formação cística ocorre durante esse processo (a ovulação), e está relacionado com o fechamento prematuro da fossa de ovulação tendo a formação de um cisto dentro do corpo lúteo em desenvolvimento (McENTEE, 1990).

Os Cistos Luteínicos (CL), desenvolvem-se quando há uma falha aparente na liberação do hormônio luteinizante (LH) resultando em falha na ovulação mas com níveis suficientes de LH para induzir uma completa camada de células luteínicas no folículo anovulatório. O uso de LH para induzir super-ovulação em vacas freqüentemente induz a luteinização sem a ovulação. Esses cistos (CL) diferenciam-se dos cistos de corpo lúteo (CCL), pois o diagnóstico de cisto luteínico é baseado na presença de uma grande esfera cística lineada com uma completa camada de tecido luteínico e ausência da fossa de ovulação e de presença de tecido fibroso entre a cavidade cística e as células luteínicas como é o caso do cisto de corpo lúteo (CCL). Daí a importância de sabermos as características destes cistos e só assim poderíamos constatar se as causas de anestro em fêmeas suínas estariam relacionadas a qual patologia císticas ovariana e não simplesmente termos como causa de infertilidade os cistos foliculares. Portanto, diante dos resultados, tanto quantitativos quanto qualitativos, os quais não mostraram diferenças significativas quanto a presença de cisto e tipos na metodologia experimental estudada, não foi possível inferir se a ação hormonal, ou o *flushing* ou ainda a combinação hormônio e *flushing* levaram a algum transtorno na dinâmica do desenvolvimento folicular que pudesse haver alguma associação entre infertilidade e presença de cistos. Permanece o

questionamento ainda quanto a ação hormonal na referida dinâmica, levantando a possibilidade das averiguações, ainda neste material de pesquisa, quanto a análise mais detalhada da presença de cistos e tipos e sua verdadeira ação, que leve às possíveis respostas a esses questionamentos através dos exames imunohistoquímicos. Os pontos de confluência permanecem destacando as inter-relações, variabilidade das respostas quanto à ação hormonal na indução e sincronização do estro a puberdade e as respostas também de alta variabilidade quanto a degeneração cística, tanto nos trabalhos desenvolvidos no LPS quanto fora dele. A análise do aspecto geral nos conduz a interpretação que a combinação hormonal utilizada (eCG e LH) trouxe benefícios ligados a sincronização e as vantagens dela associados, aliado às não influências dessas gonadotrofinas quanto aos percentuais de cistos e ligado ainda aos tipos, que, de mesma forma, mostraram valores não significativos sem interferência na eficiência reprodutiva da fêmea.

Figura 3 – Corte Histológico de Ovário (corte sagital) marrã aos 5 dias pós inseminação; H.E, fotografado em objetiva de 0.5 (Image Pro-Plus®) .

Figura 4 - Cisto de Corpo Lúteo

Caracterizado por possuir uma zona de tecido fibroso entre as células luteínicas e a cavidade cística.

Figura 5 – Cisto Folicular

Caracterizado por falha na ovulação do folículo maduro.

Figura 6 – Cisto Luteínico

Caracterizado por uma única camada de tecido luteínico com ausência de tecido fibroso.

7 CONCLUSÃO

Os resultados da pesquisa demonstram que o emprego das gonadotrofinas (eCG e LH) na indução e sincronização do estro à puberdade, associado ou não ao *flushing*, não influenciam negativamente na ocorrência de cistos ovarianos, e que nos estudos iniciais sobre a gênese das patologias, pela influência dos referidos fatores, os diferentes tipos de cistos estudados, também não evidenciaram efeitos deletérios na dinâmica do desenvolvimento folicular que causam reflexos negativos na puberdade em marrãs.

REFERÊNCIAS

ARCHBALD, L. F.; SCHULTZ, R. H.; FAHNING, M. L.; KURTZ, H. J.; ZEMJANIS, R. Seqüencial morphologic study of the ovaries of heifers injected with exogenous gonadotropins. **American Journal Veterinary Research.**, v. 34, p. 21-26, 1973.

BOLOMBA, D.; MATTON, P.; SIRARD, M.A.; ESTRADA, R.; DUFOUR, J.J. Ovarian morphological conditions and the effect of injection of human chorionic gonadotropin on ovulation rates in prepubertal gilts with two morphologically different ovarian types. **Journal of Animal Science**, v. 63, p. 3774-3779, 1991.

BOOTH, P. J.; COSGROVE, J. R.; FOXCROF, G. R. Endocrine and metabolic responses to realimentation in feed-restricted prepubertal gilts; Associations among gonadotropins, metabolic hormones, glucose and uteroovarian development. **Journal of Animal Science.**, v. 74, p. 840-848, 1996.

BOTTÉ, F. M.; BARITEAU, F.; FORGERIT, Y.; MACAR, C.; MOREAU, A.; TERQUI, M.; SIGNORET, J. P. Control of oestrus in gilts. II. Synchronization of oestrus with a progestagen, Altrenogest (Regumate): effect on fertility and litter size. **Animal Reproduction Science**, v. 22, p. 227-233, 1990.

BRITT, J. H. Manipulation of the porcine estrous cycle. In: MEMORIAIS CONGRESSO AMVEC'98, 1998, León, Guanajuato. **Controlled breeding in gilts and sows improving reproduction and litter size in sows**. León, Guanajuato, 1998.

BURGUER, J. F. Sex physiology in pigs. **Onderstepoort Journal Veterinary Research**, v. 2, p. 1-218, 1952.

CALDWELL, B.V., MOOR, R.M., WILMUT, I., POLGE, C. and ROWSON, L.E.A. The relationship between day of formation and functional lifespan of induced corpora lutea in the pig. **Journal Reproduction and Fertility**, v. 18, p. 107-113, 1969.

CARBONE, A. **Emprego de Gonadotrofinas Exógenas na indução e sincronização da puberdade em marrãs**. 2002. 60f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

EDWARDS, R. L.; OMTVEDT, I. T.; TURMAN, E. J.; STEPHENS, D. F.; MAHONEY, G. W. A. Reproductive performance of gilts following heat stress prior to breeding and in early gestation. **Journal Animal Science**, v. 27, p. 1634-1637, 1968.

ELIASSON, L. Relationships between puberty and production traits in the gilt. 2. Oestrus symptoms at puberty. **Animal Reproduction Science**, v. 25, p. 143-154, 1991.

FOXCROFT, G.; AHERNE, F. Manejo da marrã de reposição e da porca de primeiro parto. Parte II.: Selecionando marrãs para uma melhor vida reprodutiva. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO E INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM SUÍNOS, 7., 2000, Foz do Iguaçu. **[Anais...]** Foz do Iguaçu: Associação Internacional de Reprodução e Inseminação Artificial em Suínos, 2000. p. 91-98.

FOXCROFT, G. R.; HUNTER, M. G. Basic physiology of follicular maturation in the pig. *Journal of Reproduction and Fertility*. Supplement n. 33, p. 1-19, 1985.

GAMA, R.D.; VIANNA, W.L.; MORETTI, A.S.; CARBONE, A.; PORTELLA, G.; CANDI NI, P.H.; VIANA, C.H.C.; PINESE, M.E.; ROSSETO, A.C.; LAGO, V. Avaliação da utilização do LH porcino (Lutropin®) para indução e sincronização da puberdade em fêmeas suínas. In: I CONGRESSO LATINO AMERICANO DE SUINOCULTURA. Foz do Iguaçu (Paraná, Brasil), 2002, **[Anais...]** (Aceito para publicação).

GUTHRIE, H.D. Fertility after estrous cycle control using gonadotropin and prostaglandin F² treatment of sows. **Journal Animal Science**. v. 49, p. 158-162, 1979.

GUTHRIE, H.D.; POLGE, C. Control of oestrus and fertility in gilts with accessory corpora lutea by prostaglandin analogues, ICI 79, 939 and ICI 80, 996. **Journal Reproduction and Fertility**. v. 48, p. 427-430, 1976.

HAFF, W.; THACKER, P.A.; KIRKWOOD, R.N. Effect of injecting gonadotrophins during the luteal phase of the estrous cycle on the inter-estrus interval of gilts. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 82, n. 3, p. 457-459, 2002.

HUGHES, P. E. Factors affecting the natural attainment of puberty in the gilt. In: COLE, D. J. A.; FOXCROFT, G. R. (Ed.). **Control of pig reproduction**. London: Butterwoths, p. 117-138, 1982.

HUGHES, P. E.; VARLEY, M. A. **Reproduccion del cerdo**. Zaragoza: Acribia, 1984.

KIRKWOOD, R. N.; AHERNE, F. X. Energy intake, body composition and reproductive performance of the gilt. **Journal of Animal Science**, v. 60, n. 4, p. 1518-1529, 1985.

KNOX, R.V.; TUDOR, K. W.; RODRIGUEZ –ZAS, S. L.; ROBB, J. A. Effect of subcutaneous vs intramuscular administration of P.G.600 on estral and ovulatory responses of prepubertal gilts. **Journal Animal Science**, v. 78, n. 7, p. 1732-1737, 2000.

LAGO, V.; GAMA, R. D.; VIANNA, W. L.; ROSSETO, A. C.; PINESE, M. E.; MORETTI, A. S. Sincronização do estro em fêmeas jovens suínas com eCG e LH em combinação com “flushing” In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 11., 2003, Goiânia. **[Anais...]** Goiânia: Associação Brasileira de Veterinários Especialistas em Suínos, 2003, p. 165-166.

LAGO, V.; VIANNA, W. L.; GAMA, R. D.; ROSSETO, A. C.; PINESE, M. E.; MORETTI, A. S. Sincronização hormonal de estro e “flushing” alimentar em marrãs pós-púberes. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE SUINOCULTURA, 2., 2004, Foz do Iguaçu. **[Anais...]** Foz do Iguaçu, 2004, p. 312.

MARROW, D. A.; ROBERTS, S. J.; MCENTEE, K.; GRAY, H. G. Postpartum ovarian activity and uterine involution in dairy cattle. **Journal American Veterinary Medical Association**, v. 149, p. 1596-1609, 1966.

McENTEE, K. Cysts in and around the ovary. In: _____. **Reproductive Pathology of Domestic Mammals**. CA, USA: Academic Press. San Diego, cap. 4, p. 52-57, 1990.

MILLER, D. M. Cystic ovaries in swine. *Compend.Contin. Educ.Pract.Vet.* v. 6, p. S31-S35, 1984.

MUNIZ, A. Relação dos fatores nutricionais e reprodutivos na puberdade e eficiência reprodutiva, em fêmeas suínas. 2000. 104 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Animal). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

PINESE, M.E.; ROSSETO, A.C.; MARTINS, S.M.M.K.; VIANNA, W.L.; HORTA, F.C.; ABRAHÃO, A.A.F.; MORETTI, A.S. Eficiência reprodutiva de marrãs ao 1º. Parto submetido aos efeitos combinados de gonadotrofinas e “flushing”. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 12, 2005 Fortaleza. **[Anais...]** Fortaleza: Associação Brasileira de Veterinários Especialistas em Suínos, 2005, p. 248-249.

RHODES, M. T.; DAVIS, D. L.; STEVENSON, J. S. Flushing and Altrenogest affect litter. **Journal Animal Science**, v. 69, p. 34-41, 1991.

STATISTICAL ANALYSIS SISTEM. **SAS user's guide**: statistic. Versão 5. Cary: SAS, 1999.

TILTON, S.L.; BATES, R.º; PRATHER, R.S. Evaluation of response to hormonal therapy prepubertal gilts of different genetic lines. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 3062-3068, 1995.