

Notas Científicas

Acurácia da ultrassonografia e da avaliação comportamental na determinação das características funcionais de estruturas ovarianas císticas

Miller Pereira Palhão⁽¹⁾, Wanderley Paganini Filho⁽¹⁾, João Henrique Moreira Viana⁽²⁾, Cristiano Rodrigues Borges Guimarães⁽¹⁾, Ana Cristina Silva Figueiredo⁽¹⁾, Bruno Fernandes Alves Ludgero⁽³⁾ e Carlos Antônio de Carvalho Fernandes⁽¹⁾

⁽¹⁾Universidade José do Rosário Vellano, Rodovia MG 179, Km 0, Campus Universitário, CEP 37130-000 Alfenas, MG, Brasil. E-mail: millerpalhao@yahoo.com.br, wandypaganini@hotmail.com, cristianorbguimaraes@gmail.com, tina@biotran.com.br, carlos@biotran.com.br ⁽²⁾Embrapa Gado de Leite, Rua Eugênio do Nascimento, nº 610, Dom Bosco, CEP 36038-330 Juiz de Fora, MG, Brasil. E-mail: jhmviaa@hotmail.com ⁽³⁾Biotecnologia e Treinamento em Reprodução Animal, Rua Tatuin, nº 447, CEP 37130-000 Alfenas, MG, Brasil. E-mail: bruno@biotran.com.br

Resumo – O objetivo deste trabalho foi avaliar a acurácia da ultrassonografia e da sintomatologia em determinar características funcionais de estruturas císticas ovarianas. Em 51 vacas Girolando sem corpo lúteo, foram avaliados: presença ou ausência de tecido luteal na parede do folículo; concentrações séricas de progesterona (P4); e sinais comportamentais dos animais (anestro ou ninfomania). As concentrações plasmáticas de P4 foram consideradas como padrão ouro. A avaliação ultrassonográfica foi um método preciso (82,4%) para diagnosticar o tipo de cisto folicular. O anestro está relacionado à presença de cisto luteinizado e à elevada P4. Os cistos não luteinizados são frequentemente encontrados em animais com baixa P4, que apresentam comportamento de anestro ou ninfomania.

Termos para indexação: anestro, cisto folicular, cisto luteinizado, Girolando, ninfomania.

Accuracy of ultrasound and behavioral assessment in determining functional features of ovarian cystic structures

Abstract – The objective of this work was to evaluate the accuracy of ultrasound and symptomatology in determining functional features of ovarian cystic structures. In 51 Girolando cows, without corpus luteum, the following were evaluated: presence or absence of luteinized tissue on the follicle wall; serum concentrations of progesterone (P4); and animal clinical signals (anestrus or nymphomania). P4 plasma concentrations were considered as the gold standard. Ultrasound evaluation was an accurate (82.4%) method to diagnose the type of follicular cyst. Anestrus is related to the presence of luteinized cysts and high P4 levels. Non-luteinized cysts are often found in animals with low P4, which exhibit anestrus or nymphomaniac behavior.

Index terms: anestrus, follicular cyst, luteinized cyst, Girolando, nymphomania.

Os cistos ovarianos são condições patológicas caracterizadas pela presença de folículos que falham em ovular e persistem no ovário, o que altera a atividade ovariana cíclica (Hatler et al., 2006). Essa patologia é geralmente associada a alterações endócrinas observadas durante a fase de crescimento folicular, em razão das alterações na frequência de liberação dos pulsos do hormônio luteinizante (Hatler et al., 2003). Em alguns casos, a estrutura folicular anovulatória pode tornar-se luteinizada (Kang et al., 1994). Essas alterações ovarianas são frequentes em bovinos, principalmente em raças leiteiras e podem

afetar 11% do rebanho (Crane et al., 2006), o que influencia diretamente os índices reprodutivos, com aumento médio de 30 dias no intervalo de partos (Walsh et al., 2007). O diagnóstico precoce dos cistos ovarianos seguido de tratamento tem como finalidade retirar os animais do estádio infértil ou indicar para descarte aqueles acometidos cronicamente. A eficiência do tratamento está diretamente relacionada às características funcionais da estrutura cística.

Diversas sintomatologias estão associadas à presença de cistos ovarianos em bovinos. Entre elas, destaca-se a ninfomania, definida como períodos de

aceitação de monta acima do normal, ligados a ciclos estrais curtos e irregulares. Essa é uma manifestação característica da patologia e está associada à maior produção de estradiol 17 β pela parede do folículo anovulatório (Padula & Macmillan, 2006). O anestro é o principal sintoma observado, que pode ocorrer em decorrência da falta de resposta ao estradiol 17 β ou da luteinização da parede do cisto. Em vacas leiteiras, cerca de 30 a 55% dos cistos ovarianos apresentam parede luteinizada (Kang et al., 1994).

Um bom método diagnóstico normalmente associa a anamnese aos achados clínicos e sintomatológicos apresentados. A palpação retal é usualmente utilizada no diagnóstico de cistos foliculares em bovinos; porém, apresenta eficiência moderada para detectar estruturas >25 mm e está sujeita a erros nos casos de estruturas císticas menores (Roth et al., 2012). O diagnóstico conclusivo geralmente é feito com base na identificação da estrutura cística em duas avaliações consecutivas, realizadas com intervalo de dez dias, na ausência de corpo lúteo. A ultrassonografia é uma metodologia mais acurada para a avaliação ovariana e possibilita não apenas a identificação, mas também a mensuração das estruturas presentes (Padula & Macmillan, 2006). Os equipamentos ultrassonográficos frequentemente utilizados não possibilitam a caracterização de folículos ovarianos em degeneração; no entanto, permitem diferenciar cistos com presença ou ausência de parede luteinizada (Siqueira et al., 2009). A eficiência, nesse caso, é limitada pela sensibilidade do equipamento e pela experiência do operador (Farin et al., 1990). A confirmação dos casos de cistos foliculares luteinizados é dada pela concentração plasmática de progesterona (P4) acima de 0,5 ng mL⁻¹ (Kawate et al., 2011).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a acurácia da ultrassonografia e da sintomatologia em determinar características funcionais de estruturas císticas ovarianas.

Foram utilizados três rebanhos leiteiros com média de 250 animais em lactação, compostos por animais da raça Girolando, com grau de sangue entre 1/2 e 7/8 Holandês x Gir, pertencentes a duas propriedades leiteiras no sul de Minas Gerais (21°25'42"S, 46°02'06"W; 21°30'51"S, 45°50'00"W) e uma no norte de São Paulo (20°59'14"S, 48°24'44"W). O manejo nas propriedades foi semelhante, com os animais mantidos em semiconfinamento e suplementados de acordo

com as exigências para manutenção e produção leiteira média (16 kg). A alimentação básica foi composta por pastagem de *Urochloa brizantha* (Syn. *Brachiaria brizantha*), silagem de milho, caroço de algodão, polpa de citrus, feno e ração concentrada, minerais e água ad libitum nas instalações. Todos os procedimentos realizados com os animais foram aprovados pela Comissão de ética no uso de animais (CEUA) da Universidade José do Rosário Vellano (Protocolo N° 37A/2011).

Durante um período de dez meses, de março a dezembro de 2011, as propriedades foram visitadas regularmente a cada 15 a 30 dias. Em cada visita, os animais entre 30 e 90 dias pós-parto foram submetidos a exame ginecológico por meio de ultrassonografia transretal em módulo B, em escala de cinza, com uso de scanner Falcon com sonda linear de 7,5 MHz, (Esaote, Gênova, Itália). Nesse período, 732 vacas mestiças em lactação foram examinadas somente uma vez para a detecção de estrutura anecoica com diâmetro ≥ 25 mm, na ausência de corpo lúteo, o que caracterizou o diagnóstico de cisto ovariano (Roth et al., 2012). Foram registrados o diâmetro médio, em dois eixos perpendiculares, da estrutura cística e a existência ou não de bordo luteinizado (cisto luteinizado) – parede folicular com espessura ≥ 3 mm e formada por tecido com ecogenicidade semelhante à de corpo lúteo. Estruturas com parede folicular <3 mm foram caracterizadas como cistos foliculares (Siqueira et al., 2009). Todos os procedimentos foram realizados por um único técnico. Informações comportamentais, referentes ao anestro e à ninfomania, foram recuperadas de cada animal em fichas de anotações reprodutivas do rebanho.

Após o exame ultrassonográfico, uma amostra de sangue foi coletada pela punção da veia ou da artéria coccígea, com auxílio de tubos vacuolizados e heparinizados. As amostras foram centrifugadas a 600 \times g por 10 min, e o plasma recuperado foi estocado a -20°C para posterior dosagem de P4 por radioensaio com uso do kit Coat-a-Count (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, EUA). A sensibilidade do ensaio foi de 0,02 ng mL⁻¹, e o coeficiente de variação intraensaio foi de 1,9%. Foram utilizadas, como controle de qualidade do ensaio, amostras conhecidas de P4, de 0,1 e 3,5 ng mL⁻¹.

Após o diagnóstico ultrassonográfico e a recuperação das informações reprodutivas, a acurácia de cada exame

em diagnosticar a funcionalidade da estrutura cística foi comprovada pela comparação com as concentrações plasmáticas de progesterona em tabelas de distribuição de frequência. A sensibilidade e a especificidade da ultrassonografia em predizer se o cisto era luteinizado ou não se baseou nas concentrações plasmáticas de P4 (≥ 1 ng mL⁻¹ ou < 1 ng mL⁻¹, respectivamente). Considerou-se a sensibilidade como o percentual de vacas diagnosticadas com cisto luteinizado que apresentavam P4 ≥ 1 ng mL⁻¹, e a especificidade, como o percentual de vacas diagnosticadas com cisto folicular que apresentavam P4 < 1 ng mL⁻¹. Os valores preditivos – positivo ou negativo – se basearam no percentual de vacas diagnosticadas com cisto luteinizado que realmente apresentavam P4 ≥ 1 ng mL⁻¹ (valor preditivo positivo) ou no percentual de vacas diagnosticadas com cisto folicular que realmente apresentavam P4 < 1 ng mL⁻¹. A acurácia geral do exame foi mensurada pela proporção de diagnósticos corretos em relação ao total de exames (Tabela 1). Os mesmos índices foram calculados para correlacionar a sintomatologia recente dos animais, ao se considerar o anestro e a ninfomania relacionados a valores de progesterona plasmática de ≥ 1 ng mL⁻¹ e < 1 ng mL⁻¹, respectivamente. Variáveis binomiais (proporções) foram analisadas pelo teste do qui-quadrado, e as concentrações de progesterona foram comparadas no quadro da análise de variância, com auxílio do programa SAEG (Universidade Federal de Viçosa, 2001).

A ocorrência média de vacas leiteiras mestiças diagnosticadas com cisto folicular foi de 7%, e não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as propriedades avaliadas. Houve incidência de cistos ovarianos, embora inferior aos 11% reportados por Crane et al. (2006). O diâmetro médio das estruturas císticas foi de 29,6 \pm 5,2 mm e não diferiu entre as vacas classificadas como luteinizadas ou não. A acurácia da ultrassonografia em diagnosticar corretamente o tipo de cisto folicular foi de 82,4%. A sensibilidade da técnica ultrassonográfica foi de 59,1%, considerada moderada para detectar a presença de tecido luteal no bordo do folículo (Tabela 1). No entanto, o valor preditivo positivo, ou seja, a proporção de vacas diagnosticadas com cisto luteinizado que realmente apresentavam altas concentrações de P4, foi de 92,8%. O exame detectou com maior precisão os animais com cisto folicular que apresentavam concentrações de P4 < 1 ng mL⁻¹ (especificidade de 96,7%).

O diagnóstico correto do tipo de cisto folicular por meio da ultrassonografia em módulo B foi primeiramente estudado no final da década de 1980. A alta sensibilidade do exame (91,5%) relatada por Farin et al. (1990), entretanto, recorre no viés da maior prevalência de cistos foliculares luteinizados (70,1%), uma vez que os animais foram examinados antes e após o tratamento com hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH). Kawate et al. (2011) também constataram maior ocorrência desse tipo de cisto com base no diagnóstico das concentrações de P4 $\geq 0,5$ ng mL⁻¹. Contudo, no presente trabalho, os resultados foram obtidos com apenas uma avaliação dos animais, tendo-se caracterizado os cistos luteinizados como aqueles em que os animais apresentavam P4 plasmática maior que 1 ng mL⁻¹ (41,2% dos casos). As concentrações plasmáticas de P4 nos animais diagnosticados com cisto luteinizado foram maiores do que as naqueles com cisto folicular (Tabela 1). Segundo Hatler et al. (2003), os cistos foliculares são frequentemente associados a concentrações baixas ($\leq 0,1$ ng mL⁻¹) ou intermediárias de P4 ($> 0,1$ e ≤ 1 ng mL⁻¹). No presente trabalho, 78,4% dos cistos foliculares foram provenientes de vacas que apresentavam concentrações intermediárias de P4. Isso indicou luteinização parcial da parede folicular ou, ainda, processo avançado de lise da parede de cistos

Tabela 1. Concentrações médias de progesterona plasmática (padrão ouro) e distribuição dos diagnósticos de cistos foliculares ovarianos (CFO) de acordo com a característica ultrassonográfica (bordo luteinizado ou não) e com os níveis $<$ ou ≥ 1 ng mL⁻¹ de P4 em vacas Girolando em lactação⁽¹⁾.

Tipo de bordo	Progesterona plasmática (ng mL ⁻¹)	Número de animais diagnosticados com CFO ⁽²⁾		Total
		≥ 1 ng mL ⁻¹	< 1 ng mL ⁻¹	
Luteinizado	2,9 \pm 1,3A	13(a)	1(b)	14=(a)+(b)
Não luteinizado	0,8 \pm 0,9B	8(c)	29(d)	37=(c)+(d)
Total		21=(a)+(c)	30=(b)+(d)	51=(a)+(b)+(c)+(d)

⁽¹⁾Médias seguidas de letras iguais, maiúscula na coluna, não diferem pelo teste F, a 1% de probabilidade, para o tipo de bordo avaliado quanto à concentração de progesterona plasmática (P4). ⁽²⁾Os diagnósticos de cistos diferem quanto à concentração de P4, pelo teste do qui-quadrado ($p < 0,0001$). Letras minúsculas entre parênteses referem-se a: a, diagnóstico correto para cisto luteinizado; b, diagnóstico incorreto para cisto luteinizado; c, diagnóstico incorreto para cisto folicular; e d, diagnóstico correto para cisto folicular. Sensibilidade= $[(a/(a+c)) \times 100]$; especificidade= $[(d/(b+d)) \times 100]$; valor preditivo positivo= $a/(a+b)$; valor preditivo negativo= $d/(c+d)$; acurácia geral do exame = $(a+d)/(a+b+c+d)$.

luteinizados (Farin et al., 1990). Essas concentrações subluteais não são suficientes para bloquear pulsos de hormônio luteinizante, o que pode resultar na atresia do cisto e no crescimento de novos folículos (Hatler et al., 2006).

O anestro esteve associado a 68,6% dos diagnósticos, e a média de progesterona circulante em animais que manifestavam anestro foi maior do que a naqueles com sintomas de ninfomania (Tabela 2). O tipo de manifestação comportamental também pode estar relacionado à luteinização parcial da parede do cisto (Ball & Peters, 2004). No presente trabalho, em 60% dos casos, o anestro esteve associado a concentrações intermediárias de P4 (0,1 a 1 ng mL⁻¹).

A degeneração da camada da granulosa de folículos persistentes pode ocasionar aumento transitório nas concentrações de testosterona. Isso leva o animal a exibir graus variados de masculinização ou mesmo a exacerbar seu comportamento sexual (Ball & Peters, 2004). Os animais que mostraram sinais de ninfomania apresentaram concentrações plasmáticas de P4 <1 ng mL⁻¹. Somente três desses animais apresentaram P4 plasmática acima de 0,5 ng mL⁻¹, o que caracterizou o grupo de animais que apresentaram cistos foliculares como de baixa produção de P4 (0,3±0,2 ng mL⁻¹).

No geral, a sensibilidade do exame ultrassonográfico para detectar tecido luteal no bordo do folículo foi moderada, e a principal fonte de erro pode ter sido a luteinização parcial da parede. A metodologia avaliada apresentou elevada especificidade (96,7%) para cistos foliculares. Com relação às avaliações de comportamento, é importante ressaltar a necessidade

de cautela na extrapolação dos resultados obtidos para outras condições experimentais.

O exame ultrassonográfico tem acurácia de 82,4% para diagnosticar o tipo de cisto folicular em vacas leiteiras Girolando. O anestro é o comportamento observado nos animais com cisto luteinizado, e o anestro e a ninfomania, naqueles com cisto folicular.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro.

Referências

- BALL, P.J.H.; PETERS, A.R. Reproductive problems. In: BALL, P.J.H.; PETERS, A.R. (Ed.). **Reproduction in cattle**. 3rd ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2004. p.154-190. DOI: 10.1002/9780470751091.ch12.
- CRANE, M.B.; MELENDEZ, P.; BARTOLOME, J.; DE VRIES, A.; RISCO, C.; ARCHBALD, L.F. Association between milk production and treatment response of ovarian cysts in lactating dairy cows using the Ovsynch protocol. **Theriogenology**, v.66, p.1243-1248, 2006. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2006.03.035.
- FARIN, P.W.; YOUNGQUIST, R.S.; PARFET JUNIOR, L.V.B.; GARVERICK, H.A. Diagnosis of luteal and follicular ovarian cysts in dairy cows by ultrasonography. **Theriogenology**, v.34, p.633-642, 1990. DOI: 10.1016/0093-691X(90)90019-P.
- HATLER, T.B.; HAYES, S.H.; ANDERSON, L.H.; SILVIA, W.J. Effect of a single injection of progesterone on ovarian follicular cysts in lactating dairy cows. **The Veterinary Journal**, v.172, p.329-333, 2006. DOI: 10.1016/j.tvjl.2005.04.020.
- HATLER, T.B.; HAYES, S.H.; FONSECA, L.F.L. da; SILVIA, W.J. Relationship between endogenous progesterone and follicular dynamics in lactating dairy cows with ovarian follicular cysts. **Biology of Reproduction**, v.69, p.218-223, 2003. DOI: 10.1095/biolreprod.102.012179.
- KANG, B.; CHOI, H.; CHOI, S.; SON, C.; CHON, H. Progesterone assays as an aid for improving reproductive efficiency in dairy cattle. II. Use of plasma or milk progesterone profiles for differential diagnosis of ovarian cysts. **Korean Journal of Veterinary Research**, v.34, p.181-188, 1994.
- KAWATE, N.; WATANABE, K.; URNKA, K.; TAKAHASHI, M.; INABA, T.; TAMADA, H. Comparison of plasma concentration of estradiol 17β and progesterone, and conception in dairy cows with cystic ovarian diseases between Ovsynch and Ovsynch plus CIDR timed protocols. **Journal of Reproduction and Development**, v.57, p.267-272, 2011. DOI: 10.1262/jrd.10-066T.
- PADULA, A.M.; MACMILLAN, K.L. Chronic cystic ovarian disease in a Holstein cow. **Australian Veterinary Journal**, v.83, p.54-57, 2005. DOI: 10.1111/j.1751-0813.2005.tb12194.x.

Tabela 2. Concentrações médias de progesterona plasmática (Padrão ouro) e distribuição dos diagnósticos de cistos foliculares ovarianos (CFO) de acordo com a sintomatologia comportamental e com os níveis < ou ≥1 ng mL⁻¹ de P4 em vacas Girolando em lactação⁽¹⁾.

Tipo de bordo	Progesterona plasmática (ng mL ⁻¹)	Número de animais diagnosticados com CFO ⁽²⁾		Total
		≥1 ng mL ⁻¹	<1 ng mL ⁻¹	
Anestro	1,8±1,5A	21	14	35
Ninfomania	0,3±0,2B	0	16	16
Total		21	30	51

⁽¹⁾Médias seguidas de letras iguais, maiúscula na coluna, não diferem pelo teste F, a 5% de probabilidade, para a sintomatologia avaliada quanto à concentração de P4. As sintomatologias observadas diferem quanto à concentração de P4, pelo teste do qui-quadrado (p<0,0001).

ROTH, Z.; BIRAN, D.; LAVON, Y.; DAFNI, I.; YAKOBI, S.; BRAW-TAL, R. Endocrine milieu and developmental dynamics of ovarian cysts and persistent follicles in postpartum dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.95, p.1729-1737, 2012. DOI: 10.3168/jds.2011-4513.

SIQUEIRA, L.G.B.; TORRES, C.A.A.; AMORIM, L.S.; SOUZA, E.D.; CAMARGO, L.S.A.; FERNANDES, C.A.C.; VIANA, J.H.M. Interrelationships among morphology, echotexture, and

function of the bovine corpus luteum during the estrous cycle. **Animal Reproduction Science**, v.115, p.18-28, 2009. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2008.11.009.

WALSH, R.B.; KELTON, D.F.; DUFFIELD, T.F.; LESLIE, K.E.; WALTON, J.S.; LEBLANC, S.J. Prevalence and risk factors for postpartum anovulatory condition in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.315-324, 2007. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(07)72632-2.

Recebido em 21 de março de 2014 e aprovado em 26 de setembro de 2014