

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

Influência de parâmetros foliculares, luteais e da suplementação de progesterona na fertilidade de fêmeas Nelore submetidas à protocolos de IATF e ressincronização

Gabriel Victor Pereira Lima
Magister Scientiae

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2025**

GABRIEL VICTOR PEREIRA LIMA

Influência de parâmetros foliculares, luteais e da suplementação de progesterona na fertilidade de fêmeas Nelore submetidas à protocolos de IATF e ressincronização

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

Orientadora: Yame F. R. S. da Silva

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2025**

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

T

L732i
2025

Lima, Gabriel Víctor Pereira, 1998-
Influência de parâmetros foliculares, luteais e da
suplementação de progesterona na fertilidade de fêmeas nelore
submetidas a protocolos de IATF e ressincronização / Gabriel
Víctor Pereira Lima. – Viçosa, MG, 2025.
1 dissertação eletrônica (120 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Yamê Fabres Robaina Sancler da Silva.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Zootecnia, 2025.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2025.392>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Bovinos - Inseminação artificial. 2. Bovinos -
Reprodução - Fisiologia. I. Silva, Yamê Fabres Robaina Sancler
da, 1987-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Zootecnia. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia.
III. Título.

CDD 22. ed. 636.2082

GABRIEL VICTOR PEREIRA LIMA

Influência de parâmetros foliculares, luteais e da suplementação de progesterona na fertilidade de fêmeas Nelore submetidas à protocolos de IATF e ressincronização

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

APROVADA: 27 de fevereiro de 2025.

Assentimento:

Gabriel Victor Pereira Lima
Autor

Yame Fabres Robaina Sancler da Silva
Orientadora

Essa dissertação foi assinada digitalmente pelo autor em 13/06/2025 às 18:42:14 e pela orientadora em 13/06/2025 às 19:54:13. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **7HZX.I116.ZTWK** e clique no botão 'Validar documento'.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus e Nossa Senhora Aparecida do Norte, que sempre estiveram comigo, fortalecendo-me com saúde, fé e coragem para enfrentar os desafios ao longo desta jornada.

Agradeço imensamente à minha família por todo amor e incentivo. Aos meus avós Celina, José, Selvita e Antônio, que sempre foram meu alicerce, me proporcionando as melhores oportunidades e por sempre acreditar e confiar em mim. Obrigado por serem minha inspiração diária e por estarem ao meu lado em todos os momentos. Aos meus pais, Sandra e Marcos minha eterna gratidão pelo amor incondicional, pelo apoio em cada passo desta jornada e por sempre acreditarem em mim. Seus valores, ensinamentos e exemplo de dedicação foram e sempre serão a base das minhas conquistas. Sem o suporte emocional e os inúmeros sacrifícios que fizeram ao longo da minha caminhada, esta etapa não seria possível.

À minha orientadora Yamê, expresso minha mais sincera gratidão pela paciência e dedicação ao longo desta jornada. Sua experiência, conselhos e incentivo foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho e para meu crescimento acadêmico e pessoal. Agradeço por compartilhar seu conhecimento e por sempre me motivar a buscar a excelência em cada etapa deste processo.

Agradeço também ao meu coorientador Saulo, pelo apoio, confiança, sugestões valiosas e pelo compromisso em contribuir para a qualidade deste trabalho. Sua disponibilidade, olhar crítico e orientações precisas foram essenciais para o aprimoramento desta pesquisa. Agradeço por compartilhar seu conhecimento e por enriquecer minha formação acadêmica com sua experiência.

Agradeço ao Faider e Giancarlo pelo apoio durante a coleta de dados. O esforço de ambos em enfrentar os desafios do processo com profissionalismo, colaboração e paciência teve um papel fundamental na obtenção dos resultados. Sou profundamente grato pelo tempo dedicado e pela ajuda valiosa em cada etapa. À Sávio Cruz, Roberti Antônio, Arthur Gonçalves, Lorrany Garcia e Luís Henrique meus amigos de longa data, expresso minha gratidão por todo o suporte e pelos inúmeros conselhos pessoais e profissionais. Vocês são fontes de inspiração! Em especial, agradeço ao Luís pela companhia durante os dias e noites de trabalho, pelo ombro amigo e pelos valiosos ensinamentos compartilhados ao longo desta jornada.

À UEPE em Gado de Corte da UFV, meu sincero agradecimento pela concessão dos animais, pela infraestrutura disponibilizada e por todo o

suporte durante o período experimental. Agradeço, também, aos estagiários que, com dedicação, contribuíram para a realização desta pesquisa, e aos funcionários pelo auxílio no manejo dos animais. Reconheço e valorizo o esforço, a dedicação e a colaboração de cada um de vocês.

À UEPE em Equideocultura da UFV, expresso minha gratidão pelo fornecimento de equipamentos indispensáveis para a realização deste trabalho. Em especial, agradeço ao Cristian pelo suporte técnico prestado, cuja disponibilidade e conhecimento foram fundamentais.

Ao Departamento de Zootecnia da UFV, agradeço aos professores e funcionários pelo compartilhamento de conhecimento, pelas experiências enriquecedoras e pelo ambiente acadêmico que tanto contribuiu para minha formação ao longo deste percurso.

À Universidade Federal de Viçosa, minha segunda casa há 8 anos, manifesto minha profunda gratidão pela oportunidade de realizar tanto a graduação, quanto a pós-graduação. Reconheço com imenso apreço a importância desta instituição em minha trajetória acadêmica, pessoal e profissional.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), agradeço pelo apoio financeiro por meio da concessão da bolsa de estudos. Por fim, a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, seja com palavras de encorajamento, apoio técnico ou simples gestos de amizade, meu mais sincero obrigado. Cada um de vocês teve um papel fundamental nesta jornada.

Coloco um ponto final nesta página, mas uma letra maiúscula para iniciar a próxima! Este trabalho foi realizado com o apoio das seguintes agências de pesquisa brasileiras: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

“Na ciência, como na vida, os detalhes fazem a diferença entre o fracasso e o sucesso.” – Carl Sagan.

RESUMO

LIMA, Gabriel Victor Pereira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2025. **Influência de parâmetros foliculares, luteais e da suplementação de progesterona na fertilidade de fêmeas Nelore submetidas à protocolos de IATF e ressincronização.** Orientadora: Yame Fabres Robaina Sancler da Silva.

A Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) é uma biotécnica amplamente utilizada na reprodução bovina, permitindo melhorar a eficiência de rebanhos comerciais. No entanto, as perdas gestacionais ainda representam um grande desafio para a melhora dos índices reprodutivos. Diante disso, a compreensão dos mecanismos que afetam a funcionalidade folicular e luteal, bem como dos fatores fisiológicos relacionados às perdas gestacionais, é essencial para desenvolver estratégias que visem reduzir essas perdas. O 1º artigo investigou a influência da vascularização do folículo dominante e do corpo lúteo subsequente nos níveis séricos de progesterona e na taxa de prenhez aos 22 dias pós-IATF em vacas Nelore. O 2º artigo avaliou o efeito da suplementação de progesterona em duas durações distintas – 8 dias (do 14º ao 22º dia pós-IATF) e 16 dias (do 14º ao 30º dia pós IATF) – sobre a taxa de perdas gestacionais em vacas Nelore. Foram utilizados 111 animais, divididos em três categorias: novilhas superprecoces de 13 a 14 meses (n=14), novilhas precoces de 24 a 26 meses (n=48) e vacas acima de 48 meses (n=49). Todos seguiram o mesmo protocolo reprodutivo, com ressincronização no 14º dia pós-IATF. No 22º dia, foi realizado o diagnóstico gestacional presuntivo, através da ultrassonografia Doppler. Os animais foram distribuídos em três grupos: 1) diagnóstico gestacional negativo (n=45), 2) controle (n=30) e 3) tratamento (n=36). O primeiro grupo foi desconsiderado para as análises subsequentes, enquanto os demais foram divididos de forma uniforme e randomizada, considerando a categoria (ordem de parto e idade) e o peso. No grupo controle, o implante de progesterona foi removido no 22º dia, enquanto no grupo tratamento o implante foi mantido até o 30º dia pós-IATF. A vascularização do CL demonstrou elevada acurácia para o DG aos 22 dias, possibilitando a modelagem da probabilidade de prenhez ($R^2 = 0,91$; $P < 0,01$). O diâmetro FD correlacionou-se com a expressão de estro nos dias -2 ($r = 0,26$; $P < 0,01$) e 0 ($r = 0,23$; $P = 0,01$). A intensidade de vascularização do FD apresentou tendência de correlação com a taxa de prenhez aos 22 dias ($r = 0,18$; $P = 0,07$). A concentração sérica de progesterona no D22 correlacionou-se fortemente com o diâmetro do CL ($r = 0,73$; $P < 0,01$) e com a taxa de prenhez no mesmo dia ($r = 0,74$; $P < 0,01$). Adicionalmente, a vascularização do CL mostrou forte correlação com

a

taxa de prenhez ($r = 0,95$; $P < 0,01$), com o diâmetro do CL ($r = 0,86$; $P < 0,01$) e com a concentração de progesterona ($r = 0,71$; $P < 0,01$). A concentração de progesterona variou significativamente ao longo do tempo em ambos os tratamentos (CT e TRAT) e grupos experimentais (vazias e prenhas) ($P < 0,01$); no entanto, não foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos tratado e controle quanto à taxa de perda gestacional (5,88% vs. 13,33%, respectivamente; $P = 0,32$). Observou-se uma tendência ($P = 0,07$) quanto ao diâmetro da vesícula embrionária, sendo maior nas vacas que mantiveram a gestação em comparação àquelas que apresentaram perda gestacional detectada no D85 (10,24 mm vs. 8,49 mm). Verificou-se ainda correlação positiva entre o diâmetro do CL e o diâmetro do embrião ($P < 0,01$; $R^2 = 0,25$), sugerindo que CLs maiores estão associados a embriões de maior tamanho. Os resultados reforçaram a importância do monitoramento da vascularização ovariana e da suplementação de progesterona como estratégias para aumentar a eficiência reprodutiva em programas de IATF em bovinos da raça Nelore.

Palavras-chave: Perdas gestacionais, Folículo dominante, Corpo lúteo, Gado de corte, Progesterona.

ABSTRACT

LIMA, Gabriel Victor Pereira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2025. **Influence of follicular and luteal parameters and progesterone supplementation on the fertility of Nelore females submitted to TAI and resynchronization protocols.** Adviser: Yame Fabres Robaina Sancler da Silva.

Fixed-Time Artificial Insemination (FTAI) is a widely used biotechnical in bovine reproduction, enabling improved efficiency in commercial herds. However, pregnancy losses still represent a significant challenge in enhancing reproductive indices. Therefore, understanding the mechanisms affecting follicular and luteal functionality, as well as the physiological factors related to pregnancy losses, is essential for developing strategies aimed at reducing these losses. The first article investigated the influence of dominant follicle and subsequent corpus luteum vascularization on serum progesterone levels and pregnancy rate at 22 days post-FTAI in Nelore cows. The second article evaluated the effect of progesterone supplementation for two different durations—8 days (from day 14 to day 22 post-FTAI) and 16 days (from day 14 to day 30 post-FTAI)—on pregnancy loss rates in Nelore cows. A total of 111 animals were used, divided into three categories: precocious heifers (n=14), heifers (n=48), and cows (n=49). All animals followed the same reproductive protocol, with resynchronization on day 14 post-FTAI. On Day 22, a presumptive pregnancy diagnosis was performed using Doppler ultrasonography. Animals were assigned to three groups: 1) negative pregnancy diagnosis (n = 45), 2) control (n = 30), and 3) treatment (n = 36). The first group was excluded from subsequent analyses, while the remaining animals were evenly and randomly allocated according to category (parity and age) and body weight. In the control group, the progesterone implant was removed on Day 22, whereas in the treatment group, the implant was maintained until Day 30 post-FTAI. CL vascularization demonstrated high accuracy for pregnancy diagnosis at Day 22, allowing modeling of pregnancy probability ($R^2 = 0.91$; $P < 0.01$). DF diameter was correlated with estrus expression on Days -2 ($r = 0.26$; $P < 0.01$) and 0 ($r = 0.23$; $P = 0.01$). DF vascularization intensity showed a tendency toward correlation with pregnancy rate at Day 22 ($r = 0.18$; $P = 0.07$). Serum progesterone concentration on Day 22 was strongly correlated with CL diameter ($r = 0.73$; $P < 0.01$) and pregnancy rate on the same day ($r = 0.74$; $P < 0.01$). Furthermore, CL vascularization was strongly correlated with pregnancy rate ($r = 0.95$; $P < 0.01$), CL diameter ($r = 0.86$; $P < 0.01$), and progesterone concentration ($r = 0.71$; $P < 0.01$). Progesterone concentration varied significantly over time in both treatment groups

(control and treated) and experimental groups (pregnant and non pregnant) ($P < 0.01$); however, no statistical difference was observed between the treated and control groups regarding pregnancy loss rate (5.88% vs. 13.33%, respectively; $P = 0.32$). A trend ($P = 0.07$) was observed for embryonic vesicle diameter, which was greater in cows that maintained pregnancy compared to those that experienced pregnancy loss detected on Day 85 (10.24 mm vs. 8.49 mm). Additionally, a positive correlation was found between CL diameter and embryo diameter ($P < 0.01$; $R^2 = 0.25$), suggesting that larger CLs are associated with larger embryos. The results reinforced the importance of monitoring ovarian vascularization and progesterone supplementation as strategies to enhance reproductive efficiency in FTAI programs for Nelore cattle.

Keywords: Pregnancy losses, Dominant follicle, Corpus luteum, Beef cattle, Progesterone.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Esquema do protocolo de Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) adotado no estudo. No dia -10, os animais receberam um implante intravaginal contendo 0,5g de progesterona e 2 mg de benzoato de estradiol (BE). No dia -2, os dispositivos foram removidos e as vacas receberam 0,526 mg de cloprostenol sódico, Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG) (200 UI para novilhas e 300 UI para vacas) e 1 mg de cipionato de estradiol (CE). No dia 0 foi realizada a IATF. 64

Figura 2. Escore de expressão e intensidade do cio em bovinos, avaliado por meio do dispositivo EstroTECT. (A) Escore 1: 0 a 25% da área do dispositivo raspada. (B) Escore 2: 25 a 50% da área do dispositivo raspada. (C) Escore 3: 50 a 75% da área do dispositivo raspada. (D) Escore 4: 75 a 100% da área do dispositivo raspada. A extensão da remoção do revestimento do dispositivo indica a intensidade da atividade de monta, auxiliando na identificação do cio..... 65

Figura 3. Esquema do protocolo de resincronização adotado no estudo. No dia 14, os animais receberam um implante intravaginal contendo 1g de progesterona e 1 mg de benzoato de estradiol (BE). No dia 22, as vacas com DG negativo tiveram os dispositivos intravaginais removidos e receberam 0,526 mg de cloprostenol sódico, (Gonadotrofina Coriônica Equina) eCG (200 UI para novilhas e 300 UI para vacas) e 1 mg de cipionato de estradiol (CE). No dia 24 foi realizada a Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF)..... 66

Figura 4. Representação da vascularização do folículo pré-ovulatório avaliados através da ultrassonografia Doppler. (A) Folículo com 38% da borda vascularizada e intensidade de vascularização 0. (B) Folículo com 10% da borda vascularizada e intensidade de vascularização 0. (C) Folículo com 68% da borda vascularizada e intensidade de vascularização 1. (D) Folículo com 16,5% da borda vascularizada e intensidade de vascularização 1. A avaliação levou em consideração a área e a intensidade de vascularização apenas da borda do folículo, com um limite de detecção de 0,05 m/s... 67

Figura 5. Avaliação da vascularização do CL através da ultrassonografia Doppler. (A) Escore 0 = 0% da área vascularizada. (B) Escore 1 = 1 a 25% da área vascularizada. (C)

Escore 2 = 25 a 50% da área vascularizada. (D) Escore 3 = 50 a 75% da área vascularizada. (E) Escore 4 = 75 a 100% da área vascularizada. A avaliação considerou tanto a área periférica quanto central do CL, com um limite de detecção de 0,05 m/s. Vacas classificadas com escores 0 e 1 foram consideradas vazias, enquanto escores 2, 3 e 4 indicam possível gestação..... 67

Figura 6. Esquema do cronograma experimental do estudo. O protocolo inclui a sincronização inicial (Sync), seguida da Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF). Após a IATF, foi realizada a resincronização (Resync) para novo manejo reprodutivo. O DG foi realizado em dois momentos: o primeiro utilizando ultrassonografia Doppler (DGd) através da avaliação da vascularização do CL aos 22 dias, e ultrassonografia modo brilho (DGb) para confirmação da gestação, através da visualização do embrião e da vesícula embrionária aos 30 dias pós IATF..... 68

Figura 7. Concentração de progesterona (ng/mL) nos dias -2, 0, 14, 22 em função do diagnóstico gestacional. O grupo DG+ corresponde aos animais identificados como possivelmente gestantes por meio da vascularização do CL, enquanto o grupo DG- inclui os animais classificados como não gestantes. 70

Figura 8. Relação entre a porcentagem da área vascularizada do CL e a probabilidade de prenhez aos 22 dias. A análise demonstra que existe correlação entre as duas variáveis ($p < 0,05$), com um coeficiente de determinação (r^2) de 0,91, indicando uma forte associação. A figura indica que quanto maior a vascularização do CL, maior a chance de prenhez, evidenciado pela linha de tendência (tracejada). As esferas representam área vascularizada predita do CL (%) de cada animal, enquanto a linha sólida representa o ponto de corte para prenhez..... 71

Figura 9. Gráficos de dispersão ilustrando a Correlação de Pearson entre variáveis coletadas no D22. (A) Correlação entre a concentração de progesterona (ng/mL) e o diâmetro do CL (mm), com $p < 0,01$ e $r = 0,73$. (B) Correlação entre a concentração de progesterona (ng/mL) e a área vascularizada do CL (%), com $p < 0,01$ e $r = 0,71$. (C) Correlação entre a concentração de progesterona no D22 (ng/mL) e o diâmetro do FD no D0 (mm), com $p = 0,04$ e $r = 0,21$. (D) Correlação entre a área vascularizada do CL (%)

e o diâmetro do CL (mm), com $p < 0,01$ e $r = 0,87$. Nos gráficos, as esferas representam o diâmetro do CL (mm) em (A) e (D), e a área vascularizada do CL (%) em (B) e (C), enquanto a linha tracejada indica a tendência da relação entre as variáveis. 74

Figura 10. Representação esquemática do protocolo de Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) utilizado no experimento. No dia -10, os animais receberam um dispositivo intravaginal contendo 0,5 g de progesterona, em associação a 2 mg de benzoato de estradiol (BE). No dia -2, houve a remoção dos dispositivos e administração de 0,526 mg de cloprostenol sódico, Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG) (200 UI para novilhas e 300 UI para vacas) e 1 mg de cipionato de estradiol (CE). A IATF foi realizada no dia 0. 94

Figura 11. Representação do protocolo de ressincronização utilizado no experimento. No D14, os animais receberam um dispositivo intravaginal contendo 1g de progesterona associado a 1 mg de benzoato de estradiol (BE). No D22, as vacas com DG negativo tiveram os dispositivos intravaginais removidos e receberam 0,526 mg de cloprostenol sódico, Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG) (200 UI para novilhas e 300 UI para vacas) e 1 mg de cipionato de estradiol (CE). A segunda Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) foi realizada no 24º dia, porém esses animais foram desconsiderados do experimento. 94

Figura 12. Delineamento experimental do estudo. O protocolo consistiu na sincronização inicial (Sync) no D-10, seguida da retirada do dispositivo intravaginal de progesterona no D-2, e inseminação artificial em tempo fixo (IATF) no D0. Após a IATF, foi realizada a ressincronização (Resync) para novo manejo reprodutivo no D14. O DG foi realizado em dois momentos: utilizando ultrassonografia Doppler (DGd) através da avaliação da vascularização do CL no D22, e ultrassonografia modo brilho (DGb) para confirmação da gestação, através da visualização do embrião e da vesícula embrionária no D30 e D85. No dia 22, ou seja, DGd, foi realizada a divisão dos grupos. 95

Figura 13. Avaliação da vascularização do CL por meio da ultrassonografia Doppler. (A) Escore 0 = ausência de vascularização detectável (0% da área). (B) Escore 1 = vascularização leve e periférica, abrangendo 1 a 25% da área. (C) Escore 2 =

Vascularização moderada, abrangendo a periferia e tendendo ao centro, correspondendo de 25 a 50% da área. (D) Escore 3 = vascularização acentuada, abrangendo periferia e centro, compreendendo 50 a 75% da área vascularizada. (E) Escore 4 = vascularização intensa da região periférica e central, correspondendo de 75 a 100% da área. A avaliação considerou tanto a área periférica quanto central do CL, com um limite de detecção de 0,05 m/s. Animais com escores 0 e 1 foram consideradas não gestantes, enquanto escores 2, 3 e 4 indicam possível gestação..... 96

Figura 14. Concentração de progesterona (ng/mL) ao longo do tratamento dos dias -2, 0, 14, 22 e 30, considerando as perdas gestacionais e a suplementação de progesterona. As barras brancas representam a média dos animais que mantiveram a gestação. A barra pontilhada indica a média dos animais do grupo controle que mantiveram a gestação. As barras cinzas indicam a média dos animais do grupo tratado que apresentaram perdas gestacionais. As barras tracejadas indicam a média dos animais do grupo controle que tiveram perdas gestacionais. A linha sólida representa a média geral da concentração de progesterona nos diferentes dias de tratamento. As linhas de preenchimento indicam o erro padrão da média. 100

Figura 15. Diâmetro da vesícula embrionária (mm) em função da perda gestacional. A barra pontilhada representa a média dos animais que tiveram perdas gestacionais (n = 6), enquanto a barra tracejada indica a média dos animais que mantiveram a gestação (n = 60). As linhas de preenchimento indicam o erro padrão da média..... 101

Figura 16. Relação entre a o diâmetro do CL (mm) e o diâmetro do embrião (mm). A análise demonstra que existe correlação entre as duas variáveis ($p < 0,05$), com um coeficiente de determinação (r^2) de 0,25, indicando moderada associação. A figura indica que quanto maior o diâmetro do CL, o diâmetro do embrião tende a ser maior, evidenciado pela linha de tendência (tracejada). As esferas representam o diâmetro do CL de cada animal. 102

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Correlação de Pearson entre o dia experimental (D-2, D0 e D22) e as variáveis 1 e 2. A tabela apresenta os valores de correlação (R) e seus respectivos p-valores. Valores de p menores que 0,05 indicam correlação significativa, enquanto valores de p entre 0,05 e 0,1 sugerem tendência. Valores R próximos de 0 indicam fraca ou nenhuma correlação, enquanto valores próximos de 1 ou -1 indicam uma forte correlação positiva ou negativa, respectivamente. 72

Tabela 2. Comparação entre os grupos tratado (TRAT) e controle (CT) para manutenção da gestação (%), perda gestacional (%), concentração de progesterona (ng/mL), diâmetro do embrião (mm) e diâmetro da vesícula embrionária (mm) (média ± erro padrão da média). Valores de p inferiores a 0,05 indicam diferenças estatísticas. 102

Tabela 3. Correlação de Pearson entre o dia do tratamento (D30 e D85) e as variáveis 1 e 2. A tabela apresenta os valores de correlação (R) e seus respectivos p-valores. Valores de p menores que 0,05 indicam correlação significativa, enquanto valores de p entre 0,05 e 0,1 sugerem tendência. Valores R próximos de 0 indicam fraca ou nenhuma correlação, enquanto valores próximos de 1 ou -1 indicam uma forte correlação positiva ou negativa, respectivamente. 103

LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

$\mu\text{g/ml}$	Micrograma/mililitro;
3 β -HSD	3 β -hidroxiesteroide desidrogenase;
ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico;
AGNE	cidos graxos não esterificados;
BE	Benzoato de estradiol;
BEN	Balanço energético negativo;
BEP	Balanço energético positivo;
bPL	Hormônio lactogênico placentário bovino;
bST	Somatotropina bovina;
BVD	Diarreia viral bovina;
CE	Cipionato de estradiol;
CL	Corpo lúteo;
CMS	Consumo de matéria seca;
CONCEA	Conselho nacional de controle de experimentação animal;
CORR	Correlação;
COX – 2	Cicloxygenase 2;
CRH	Hormônio liberador de corticotrofina;
CT	Controle;
D0	Dia da IATF;
D-10	10 dias antes da IATF;
D14	14 dias pós IATF;
D-2	2 dias antes da IATF;
D22	22 dias pós IATF;
D30	30 dias pós IATF;
D85	85 dias pós IATF;
DG-	Diagnóstico gestacional negativo;
DG	Diagnóstico gestacional;
DG+	Diagnóstico gestacional positivo;
DGb	Diagnóstico gestacional modo brilho;
DGd	Diagnóstico gestacional modo Doppler;
E ₂	Estrógeno;
ECC	Escore de condição corporal;

eCG	Gonadotrofina coriônica equina;
FD	Folículo dominante;
FGF ₂	Fator de crescimento fibroblástico 2;
FIV	Fertilização in vitro;
FPF	Fator precoce de gestação;
FSH	Hormônio folículo estimulante;
g	Gramas;
GH	Hormônio do crescimento;
GHRH	Hormônio de liberação do hormônio do crescimento;
GlyCAM -1	Molécula de adesão celular dependente de glicosilação 1;
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofinas;
HSP	Proteínas de choque térmico;
IA	Inseminação Artificial;
IATF	Inseminação Artificial em tempo fixo;
IBR	Rinotraqueíte infecciosa bovina;
IFN- τ	Interferon tau;
IGF-1	Fator de crescimento semelhante a insulina – 1
IGF-2	Fator de crescimento semelhante a insulina – 2
LH	Hormônio luteinizante;
mg	Miligramas;
MHC –1	Complexo de histocompatibilidade classe 1;
mL	Mililitro;
mm	Milímetros;
MUC – 1	Mucina 1;
ng/ml	Nanograma/mililitro;
NPY	Neuropeptídeo Y;
OPN	Osteopontina;
P ₄	Progesterona;
PAF	Fator ativador de plaquetas;
PAG	Glicoproteína associada à gestação;
PGE ₂	Prostaglandina E ₂ ;
PGF ₂ α	Prostaglandina F ₂ α ;
POMC	Pro-opiomelanocortina;
PSPB	Proteína B específica da gestação;

r	Coeficiente de correlação de Pearson;
r ²	Coeficiente de determinação;
REG	Regressão;
REL	Retículo endoplasmático liso;
RELM	Regressão linear múltipla;
Resync	Ressincronização;
RIA	Radioimunoensaio;
RNA _m	Ácido ribonucleico mensageiro;
SAS	Statistical analysis system;
SNC	Sistema nervoso central;
SP	São Paulo;
StAR	Proteína reguladora aguda da esteroidogênese;
Sync	Sincronização;
TETF	Transferência de embrião em tempo fixo;
TGF-β	Fator de crescimento transformador – β;
TRAT	Tratamento;
UFF	Universidade Federal Fluminense;
UFV	Universidade Federal de Viçosa;
UI	Unidades internacionais;
US	Ultrassonografia;
UTMP	Proteína do leite uterino;
VEGF	Fator de crescimento vascular endotelial;

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	20
REVISÃO DE LITERATURA	22
1. Ciclo estral e interação útero-ovário.....	22
2. Ovulação e luteogênese	23
3. Fertilização e desenvolvimento embrionário.....	24
4. Implantação e placentação.....	26
5. Luteólise <i>versus</i> reconhecimento materno da gestação	28
6. Perdas gestacionais	31
6.1. Morte embrionária, abortamento e perdas econômicas	31
6.2. Fatores associados as perdas embrionárias	31
6.3. Morte fetal.....	35
6.4. Medidas de redução das perdas gestacionais	37
6.4.1. Somatotropina bovina (bST)	37
6.4.2. CL acessório, pré-sincronização e progesterona	38
6.4.3. Supressão do desenvolvimento folicular.....	39
6.4.4. Nutrição	39
6.5. Progesterona.....	40
6.5.1 Farmacocinética e farmacodinâmica da progesterona	41
OBJETIVOS.....	43
HIPÓTESES	43
REFERÊNCIAS	43
ARTIGO 1	59
1. INTRODUÇÃO	61
2. MATERIAL E MÉTODOS	63
2.1 Aspectos éticos do estudo.....	63
2.2 Animais e local de pesquisa.....	63
2.3 Avaliação do escore de condição corporal e pesagem.....	63
2.4 Protocolo de Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) utilizado	63
2.5 Identificação de cio	64
2.6 Protocolo de ressincronização.....	65
2.7 Avaliação ultrassonográfica.....	66
2.8 Coleta de sangue	68

2.9 Análise estatística	69
3. RESULTADOS	69
4. DISCUSSÃO.....	74
5. CONCLUSÕES.....	78
REFERENCIAS	78
ARTIGO 2	89
1. INTRODUÇÃO	91
2. MATERIAL E MÉTODOS	92
2.1 Aspectos éticos do estudo	92
2.2 Animais e local de pesquisa.....	93
2.3 Delineamento experimental	93
2.4 Avaliação do escore de condição corporal e pesagem.....	95
2.5 Avaliação ultrassonográfica.....	96
2.6 Coleta de sangue	97
2.7 Análise estatística	97
3. RESULTADOS	98
4. DISCUSSÃO.....	104
5. CONCLUSÕES.....	108
REFERÊNCIAS	108

INTRODUÇÃO

O Brasil, com sua vasta extensão territorial, ocupa posição de destaque na produção de carne bovina, sendo o maior rebanho comercial do mundo, com 238,6 milhões de cabeças (IBGE, 2023), e o segundo maior produtor global de carne, contribuindo com 14% da produção mundial (ABIEC, 2023). Apesar desse potencial, a pecuária de corte brasileira e mundial ainda enfrentam desafios relacionados à eficiência produtiva (TERRY et al., 2020) tais como, baixa taxa de lotação, desgaste de pastagens, índices reprodutivos, condições climáticas adversas e qualidade genética. A densidade populacional tende a aumentar a cada ano, e esse aumento gera maior necessidade da produção animal e seus derivados (FAO, 2014). Existem duas formas de aumentar a produção de carne bovina, através do aumento do rebanho ou o aumento na produtividade. Nos últimos 30 anos a pecuária Brasileira se modernizou, ficando mais eficiente e sustentável. A produção de carne por hectare por ano aumentou 183% enquanto a área de pastagem utilizada diminuiu 18% (ABIEC, 2023). A produtividade está diretamente relacionada à eficiência reprodutiva, e o aprimoramento dessa eficiência pode ser alcançado por meio do uso de técnicas reprodutivas, como a Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF), ressincronização do cio após a IATF e estratégias para a redução das perdas gestacionais (PASCOTTINI et al., 2025)

A IATF é uma técnica que consiste na mimetização parte do ciclo estral de fêmeas bovinas através da utilização de protocolos hormonais, visando a sincronização do cio e da ovulação, sem a necessidade da detecção de cio (BÓ; BARUSELLI, 2014). A técnica replica uma onda folicular do ciclo estral, tendo duração de 9 a 11 dias, dependendo do protocolo utilizado (ALVES et al., 2024). A biotecnologia foi criada visando: otimizar manejo e a mão de obra, por reduzir a necessidade de observação de cio e inseminar vários animais no mesmo dia; induzir a ciclicidade de animais em anestro; padronização e melhoramento genético dos animais através da utilização de touro provados e das estratégias da estação reprodutiva; e diminuição do período de serviço através da redução do intervalo entre cios (MERCADANTE; LAMB, 2024). A estação reprodutiva, utilizada principalmente em vacas de corte, permite a sincronização dos partos para o final da estação seca, diminuindo os riscos de infecções causadas por parasitas e bactérias, como onfalites e diarreia neonatal. Além disso, o pico de lactação das vacas irá coincidir com o momento de maior disponibilidade de alimento, bem como o início do consumo de forragem pelo bezerro (BRAUNER et al., 2024)

Uma estratégia utilizada para maximizar a eficiência da estação reprodutiva é a resincronização (Ressync). Nessa técnica, vacas inseminadas ou cobertas são submetidas a um novo protocolo hormonal antes do diagnóstico gestacional (DG). A retirada do dispositivo liberador de progesterona (P₄) coincide com o DG e os animais sem prenhez confirmada são inseminados dois dias depois, reduzindo o intervalo entre inseminações e consequentemente a duração da estação reprodutiva (SÁ FILHO et al., 2014). Isso resulta na produção de mais “bezerros do cedo”, sendo animais mais rentáveis economicamente pela sua maior eficiência produtiva (EWING et al., 2024). A utilização da ultrassonografia Doppler, associada à técnica de Ressync, tem se mostrado uma ferramenta eficaz para reduzir a duração da estação de monta (ANDRADE et al., 2024). A técnica de ultrassonografia Doppler descrita por Pugliesi (2017) permite avaliar a vascularização do corpo lúteo (CL) e classificar os animais em duas categorias: animais vazios, com 25% ou menos de vascularização do CL, e animais possivelmente prenhes, com mais de 25% de vascularização do CL. Essa avaliação permite antecipar o DG, reduzindo o intervalo de tempo necessário para identificar a possível prenhez, passando de 30 para 22 dias após a IATF. Essa abordagem não substitui a confirmação final da gestação, que deve ser realizada por meio da visualização do embrião e da vesícula embrionária, utilizando ultrassonografia modo brilho aos 30 dias pós IATF, garantindo maior precisão na identificação da prenhez (CHAFFAUX et al., 1986). No entanto, a ultrassonografia Doppler, por sua vez, fornece um diagnóstico presuntivo que facilita a resincronização das fêmeas não prenhes, permitindo a inseminação artificial (IA) em um intervalo mais curto. Dessa forma, a técnica contribui para a otimização da estação de monta e aumenta a eficiência produtiva e reprodutiva do rebanho (PUGLIESI et al., 2017).

A rentabilidade da atividade pecuária depende diretamente da eficiência reprodutiva, sendo a taxa de prenhez, a taxa de resposta aos protocolos e as perdas gestacionais fatores determinantes para essa eficiência (MADUREIRA et al., 2022). As perdas gestacionais são divididas de acordo com sua cronologia, inicialmente acontecerem as falhas na fertilização, menos não sendo considerada uma perda gestacional, vale ser citada devido a sua importância zootécnica. Esse processo ocorre na ampola da tuba uterina quando o espermatozoide encontra o oócito, tendo uma taxa de aproximadamente 10%, ou seja, 90% dos animais cobertos ou inseminados geram um embrião (HAFEZ; HAFEZ, 2004). Em seguida, pode ocorrer a morte embrionária, que pode ser precoce, entre a fertilização e os primeiros 21 dias de gestação (22%) ou tardia,

entre 21 e 42 dias de gestação (6%). Por fim, as demais perdas compõem o abortamento, que ocorre entre o dia 43 e 270 de gestação (5%) (REESE et al., 2020). Existem vários fatores que influenciam as perdas gestacionais, sendo os principais: anormalidades cromossômicas; qualidade do oócito; escore de condição corporal (ECC); status reprodutivo; qualidade do touro/sêmen; potencial produtivo (leite e carne); estresse; reconhecimento materno; ambiente uterino; e concentração de progesterona (ABDALLA et al., 2024). A fase que mais gera perdas, é a morte embrionária precoce, por isso estratégias para redução das perdas gestacionais nessa fase, são mais importantes fisiologicamente e economicamente.

REVISÃO DE LITERATURA

1. Ciclo estral e interação útero-ovário

O ciclo estral corresponde a um conjunto de eventos fisiológicos rítmicos e coordenados, onde alterações hormonais que ocorrem em períodos regulares, levam a alterações morfológicas no aparelho reprodutor e no comportamento da fêmea (GALINA; ORIHUELA; DUCHATEAU, 1987). O ciclo estral corresponde ao período entre dois estros, sendo que a vaca apresenta ciclos com duração média de 21 dias, variando entre 18 e 24 dias (BINELLI et al., 2001). Por ser uma espécie poliéstrica não estacional, a vaca apresenta vários ciclos estrais por ano, além disso ela é monovulatória, sendo incomum duplas ovulações (2 a 3%) (GORDON, 1994). Em cada ciclo ocorre o desenvolvimento folicular coordenado, sendo marcado pelas etapas de recrutamento, seleção, divergência e dominância (IRELAND et al., 2000).

Os bovinos possuem um número limitado de oócitos, variando entre 100.000 e 150.000 folículos primordiais que envolvem as células germinativas (WEBB; ARMSTRONG, 1998). Os folículos ovarianos apresentam seu crescimento através de ondas, sendo que a maioria dos animais apresentam de 2 a 3 ondas por ciclo, porém alguns indivíduos apresentam 1 ou 4 ondas (MOORE; THATCHER, 2006). Vacas geralmente apresentam 2 ondas foliculares com duração média de 10 dias, enquanto novilhas apresentam 3 ondas com duração média de 7 dias, porém a última tende a ser mais curta (ADAMS; JAISWAL, 2008). Por isso, fisiologicamente, é necessário que haja uma comunicação íntima entre ovário e endométrio, para o estabelecimento adequado de um ambiente uterino, sendo que a receptividade sexual e ovulação devem coincidir com a preparação do ambiente uterino (TINNING et al., 2023).

2. Ovulação e luteogênese

A ovulação é um processo fisiológico que ocorre durante o metaestro, desencadeado pelo pico de LH da fase de estro do ciclo reprodutivo (RICHARDS, 2005). Nesse processo, há o rompimento da parede folicular, liberando o complexo cúmulo-oócito, que é captado pelas fimbrias do infundíbulo, a extremidade mais distal da tuba uterina (LIU; SIMADA; RICHARDS, 2008). O oócito é então transportado até a ampola, a porção dilatada da tuba uterina, onde ocorre a fecundação (KARSCH et al., 1997). Posteriormente, o embrião recém-formado é conduzido ao útero pelo movimento ciliar das células do infundíbulo (porção mais proximal da tuba uterina) e é nutrido pela secreção das glândulas tubárias (SENGER, 2003). A ovulação é um processo semelhante a uma reação inflamatória, sendo que o folículo não se rompe apenas pela pressão do líquido folicular, mas, principalmente, pela degradação da parede do folículo (RICHARDS et al., 2002).

Após a ovulação, as células da teca interna e da granulosa do folículo passam por um processo de metamorfose denominado luteinização (REYNOLDS; REDMER, 1999). Esse processo converte as células do folículo dominante, anteriormente produtoras de estradiol, em células altamente vascularizadas e especializadas na produção de progesterona, caracterizando uma inversão hormonal (NISWENDER et al., 2007). A luteogênese envolve a remodelação tecidual nas células da teca interna e da granulosa, por meio de processos de hiperplasia, hipertrofia, migração celular e angiogênese, e ocorre em um período de aproximadamente 1 a 5 dias (NISWENDER et al., 2000). O crescimento do corpo lúteo (CL) resulta da hipertrofia das células luteais grandes, derivadas das células da granulosa, e da hiperplasia das células luteais pequenas, originadas das células da teca interna. As células luteais grandes e pequenas correspondem a aproximadamente 40% e 20% do volume do corpo lúteo, respectivamente, os 40% restante são formados por vasos sanguíneos, matriz extracelular, fibroblastos e células de defesa (WILTBANK, 1994).

O corpo lúteo é uma glândula transitória, responsável pela produção de progesterona, que dentre várias outras funções, atua reduzindo a contratilidade uterina, suprimindo a defesa imunológica uterina para antígenos fetais, bem como estimula a secreção de leite uterino pelas glândulas endometriais (WILTBANK et al., 2014). A P₄ também atua estimulando a deposição de gordura no epitélio uterino e na porção superficial das glândulas endometriais, servindo com uma reserva lipídica e precursor da PGF_{2α} (MCCRACKEN; SCHRAMM; OKULICZ, 1984).

3. Fertilização e desenvolvimento embrionário

A fertilização corresponde ao processo de união dos gametas masculino e feminino para a formação de uma única célula, o zigoto (BERGER, 1996). Esse processo compreende as seguintes etapas: capacitação espermática, reconhecimento e adesão ao oócito, reação acrossômica, fusão das membranas dos gametas, bloqueio à poliespermia, ativação do oócito, fusão dos pró-núcleos e início do processo de clivagem (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

A maioria dos oócitos são fertilizados (90%), porém existe uma perda muito grande entre o a fertilização e o parto (55%). Isso resulta em apenas 70% dos oócitos fertilizados chegam a produzir um concepto a termo (SREENAN; DISKIN; MORRIS, 2001). Portanto entender os processos de foliculogênese, ovulação, fertilização, transporte embrionário, desenvolvimento embrionário e placentário, reconhecimento materno e implantação embrionária são importantes para estudar mecanismo que visem à redução das perdas gestacionais (BESKOW; GREGORY; ROCHA, 2009). Após o processo de fecundação na ampola da tuba uterina, ocorre a formação do zigoto, que consiste na primeira fase do embrião, resultante da união dos pro-núcleos masculino e feminino (SCHATTEN; SCHATTEN, 1989). O embrião recém-formado sofre divisões celulares sequenciais, sem que ocorra inicialmente grande aumento da massa celular, uma vez que o zigoto possui uma baixa relação núcleo/citoplasma por ser formado a partir de duas células haploides, além disso existe uma limitação física causada pela zona pelúcida (YANAGIMACHI, 1981). Esse processo é denominado clivagem e, em vacas, caracteriza-se por um crescimento restrito, com redução de aproximadamente 20% da massa celular. No entanto, ocorre um aumento proporcional no tamanho do núcleo, resultando em células com uma relação núcleo/citoplasma semelhante à das células somáticas (MC LAREN, 1974). Após a primeira clivagem são formadas duas células chamadas de blastômeros, elas se dividem de forma sincronizada até a quarta divisão celular. A partir desse ponto, as clivagens tornam-se independentes, ocorrendo em ritmos diferentes para cada célula devido ao controle individual do ciclo celular e às diferenças metabólicas entre os blastômeros (PAPAIIOANNOU; EBERT, 1986).

Até a fase de 16 células, o embrião se encontra no oviduto e é nutrido por substâncias produzidas pelas glândulas presentes no epitélio tubárico (CROSBY; GANDOLFI; MOOR, 1988). Entre o dia 4 e 7 após a ovulação, o embrião na fase de mórula chega ao útero, especificamente na porção mais apical do corno uterino ipsilateral a ovulação (WILLADSEN et al., 1991). A velocidade com que o embrião chegará no

útero é influenciado por fatores maternos, que atuam sobre a atividade da musculatura lisa presente na tuba uterina, principalmente no istmo (BORUSZEWSKA et al., 2019). O principal agente relacionado a velocidade da mio-contracção do istmo é a relação estrógeno/progesterona, onde o estrógeno (E_2) é responsável por aumentar o potencial contrátil, através da estimulação pela via do segundo mensageiro, sensibilizando os receptores de ocitocina (KLEIN, 2021). A progesterona (P_4) por sua vez, atua reduzindo a contratilidade uterina, por reduzir a expressão dos receptores de ocitocina no endométrio (GOFF; JAMSHIDI; KOMBÉ, 2006). Outros fatores importantes são as prostaglandinas, sendo que as da série F reduzem a contracção tubárica e as da série E estimulam (LITWACK, 2022a).

A quinta divisão mitótica ocorre no sétimo dia após a ovulação, sendo que o embrião apresenta 32 células, formando o blastocisto inicial (DYCE; SACK; WENSING, 2019). A maioria das células se encontram na periferia do embrião, formando o trofoblasto ou trofoectoderma, essas células são extremamente adesivas e possuem formato cuboide, além disso, elas são delimitadas por microvilosidades, que são responsáveis pela captação seletiva e transporte de nutrientes (SAMUELSON, 2007). O trofoblasto são as células primordiais da placenta, formando o córion (FELICIANO, 2024). Mais internamente ao trofoblasto, existe uma densa camada de células, denominada embrioblasto ou massa celular interna. Essas células dão origem a três linhagens germinativas primárias durante o processo de gastrulação, sendo elas: Ectoderma, que origina a epiderme, anexos epidérmicos (pelos, cascos), cavidades e sistema nervoso; Mesoderma, que origina a derme, sistemas músculo-esquelético, circulatório, reprodutor e excretor; Endoderma, que origina os sistemas respiratório e digestivo (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

As células do trofoblasto são ricas em mitocôndrias e possuem um metabolismo extremamente acelerado. Para manter seu metabolismo, surgem as bombas de Na^+/K^+ , elas geram um gradiente iônico que induz o movimento de fluido para dentro do embrião, formando a blastocèle (KLEIN, 2021). Por volta do nono dia de gestação, a zona pelúcida é rompida e o embrião entra na fase de blastocisto eclodido (LAWRENCE; FOWLER, 1997). A eclosão é causada por diversos fatores, sendo eles: Enzimas proteolíticas e metaloproteinases produzidas pelo útero e embrião, principalmente plasmina e tripsina que causam o amolecimento da zona pelúcida (FERREIRA, 2010); Taxa de crescimento do embrião, devido ao ambiente uterino rico em nutrientes (GREEN; HUNTER; MANN, 2005); Processo de contracção e expansão do blastocisto, devido a hiperplasia celular e o

acúmulo de fluido na blastocele (HAFEZ; HAFEZ, 2004); Liberação de prostaglandinas, especialmente da série E, que ocorrem devido ao dano células e liberação dos fosfolipídeos de membrana, causados pelo movimento do fluido na blastocele e o rompimento da zona pelúcida (BORUSZEWSKA et al., 2019).

Do 13° ao 21° dia após o estro, o embrião passa por uma fase de alongamento logarítmico, passando de uma forma esférica para uma forma filamentosa, sendo chamado de concepto alongado (WRENZYCKI et al., 2004). Esse crescimento lateral exponencial é causado pela intensa proliferação das células do trofoblasto e do endoderma extraembrionário, formando o córion e o saco vitelínico, respectivamente (HAFEZ; HAFEZ, 2004). Essa expansão do trofoectoderma permite que o embrião estenda suas membranas placentárias por todo útero, sinalizando sua presença e impedindo a luteólise precoce (REECE, 2006). A progesterona tem um papel muito importante no desenvolvimento embrionário inicial, já que ela reduz a contratilidade e tonicidade uterina, permitindo a retenção e permanência do embrião no útero, além de induzir a liberação de proteínas pelas glândulas endometriais, sendo as principais a proteína do leite uterino (UTPM) e a osteopontina (OPN), que são fundamentais para a nutrição do embrião antes da placentação (JOHNSON et al., 1999).

4. Implantação e placentação

A superfície apical do endométrio é revestida por uma camada espessa de glicocálix, formado por glicoproteínas que atuam protegendo as células contra injúrias químicas (medicamentos e antissépticos), mecânicas e biológicas (toxinas e enzimas digestivas) (KING; ATKINSON; ROBERTSON, 1982). A principal glicoproteína presente no glicocálix uterino é a mucina 1 (MUC – 1), sendo um tipo de mucina e sua síntese estimulada pela progesterona (HAFEZ; HAFEZ, 2004). Após a ovulação a concentração de P₄ sobe progressivamente, estimulando a produção de MUC – 1 que impede a ligação entre as proteínas de membrana das células do trofoblasto, principalmente a integrina, e seus receptores presentes no endométrio materno (MANN; LAMMING, 1999). Entre o oitavo e decimo dia de gestação, os receptores intranucleares de progesterona tem uma queda em sua regulação/sensibilização, dessa forma, a síntese de MUC – 1 é reduzida e o sítio de ligação da integrina é exposto, possibilitando o contato entre o concepto e a superfície do endométrio formando a placentação epiteliocorial (DAVENPORT et al., 2023). Outra glicoproteína ligante que está envolvida no processo de implantação embrionária é a molécula de adesão celular dependente de glicosilação 1

(GlyCAM -1- like), encontrada em grande concentração no leite uterino, entre os dias 15 e 17 de gestação, sendo secretada pelo endométrio e pelo embrião (LI et al., 2021). A galectina é outra enzima secretada no lúmen uterina e se liga a integrina presente no trofoblasto, estimulando sua ligação com o endométrio. A catepsina também atua no processo de implantação, degradando o glicocálix e expondo o sítio de ligação da integrina (BAZER et al., 2008).

O endométrio bovino é formado por áreas carunculares e intercarunculares, sendo que as carúnculas servem como pontos de ancoragem para as vilosidades coriônicas, sendo elas projeções do trofoblasto que irão formar o córion da placenta (TINNING et al., 2023). Com o desenvolvimento do concepto, essas vilosidades da superfície trofoblástica vão reduzindo de tamanho, isso permite um contato íntimo entre as células do trofoblasto e o endométrio materno (BOWEN; BURGHARDT, 2000). Por volta do 17º de gestação, células mononucleares do trofoblasto se unem formando células binucleadas. Essas células migram e se fundem as células presentes no endométrio uterino, formando um conjunto de células multinucleares chamado sinciciotrofoblasto (GORDON, 1994). Esse sincício possui as seguintes funções: Proteção imunológica, para que o feto não seja reconhecido como um corpo estranho pelo organismo materno (NOAKES, 1992); Implantação do embrião no endométrio, já que as células binucleares são extremamente adesivas e formam as vilosidades coriônicas (HAFEZ; HAFEZ, 2004); Formação da placenta, já que ela é formada pela interação entre as células binucleares do trofoectoderma e o endométrio materno (DAVENPORT et al., 2023); Produção e transporte do hormônio lactogênio placentário bovino (bPL), sendo ele produzido pelas células binucleares do trofoblasto e tendo como função estimular a lactação e regular o metabolismo materno, aumentando a disponibilidade de glicose, a mobilização de ácidos graxos e causando um efeito de resistência à insulina, ajudando no direcionamento de nutrientes para o embrião (HUANG et al., 2009).

Entre os dias 21º e 30º de gestação, ocorre a placentação, ou seja, o processo de formação e organização da placenta, sendo ela responsável pela troca de nutrientes, gases e produtos de excreção entre mãe e filho (HAEGER; HAMBRUCH; PFARRER, 2016). A placenta do bovino é do tipo cotiledonária, onde a ligação materno/fetal é realizada através de projeções uterinas denominadas carúnculas, que são sobrepostas por projeções placentárias denominadas cotilédones, formando os placentomas (SCHNEIDER, 1991). A placenta é formada por anexos placentários, sendo eles: Âmnio, composto por uma membrana que envolve o feto e contém o líquido amniótico, que protege o concepto

contra impactos mecânicos, além de contribuir com a termorregulação e movimentação fetal; Córion, formado pelas células do trofoblasto que entram em contato com o endométrio materno e formam o sinciciotrofoblasto, sendo importantes na troca de gases e nutrientes (glicose, aminoácidos, vitaminas K e do complexo B) com a corrente sanguínea do epitélio uterino; Saco vitelínico, sendo responsável pela nutrição inicial do embrião, até a placenta assumir essa função; Alantoide, essa membrana se desenvolve junto ao feto e está envolvido na excreção de resíduos metabólicos do conceito, além de auxiliar no sistema urinário fetal, através da formação do cordão umbilical (PERRY, 1981).

5. Luteólise *versus* reconhecimento materno da gestação

A luteólise é o processo de lise funcional e morfológica do CL, que ocorre entre os dias 15 e 18 do ciclo estral, quando não ocorreu a fecundação ou quando houve falhas no mecanismo de reconhecimento materno da gestação. Durante a luteólise, o endométrio secreta a $PGF_{2\alpha}$, sendo o principal agente luteolítico (LUKASZEWSKA; HANSEL, 1980). Em bovinos, a $PGF_{2\alpha}$ chega até o CL através do mecanismo de circulação contracorrente, por meio da comunicação entre a veia útero-ovárica e a artéria ovariana (HANSEN, 1991). Esse mecanismo tem como finalidade aumentar a biodisponibilidade da $PGF_{2\alpha}$ no ovário, já que quando essa molécula passa pela circulação sistêmica, ela é metabolizada no pulmão, causando perda de aproximadamente 90% da sua concentração inicial (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

Concomitante à presença do corpo lúteo, existe o surgimento de novas ondas foliculares, onde os folículos em desenvolvimento chegam até a fase de dominância, porém não ovulam devido a inibição da liberação de hormônio luteinizante (LH), pela progesterona, devido ao feedback negativo exercido na secreção do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) hipotalâmico (MCCRACKEN; CUSTER; LAMSA, 1999). Esses folículos em desenvolvimento produzem estrógeno, que dentre outras funções, atua sensibilizando os receptores de ocitocina e estimulando a ativação da proteína cinase C, que atua como segundo mensageiro na síntese de $PGF_{2\alpha}$ (FERREIRA, 2010). Esse aumento nos níveis de E_2 , associado a baixa responsividade uterina a P_4 , que ocorre a partir do 16º dia pós ovulação, estimula a liberação de ocitocina armazenada na hipófise posterior ou neurohipófise, sendo que esse hormônio é produzido pelo hipotálamo, especificamente nos núcleos supraquiasmático e paraventricular (NORMAN; HENRY, 2015a). O aumento da ocitocina sérica gera uma pequena produção de $PGF_{2\alpha}$, que através

do mecanismo de Feedback positivo, estimula a síntese e secreção de ocitocina pelo corpo lúteo maduro (LEEMASTER et al., 1999). Esse processo leva a liberação de fosfolipídeos de membrana que são captados pela enzima fosfolipase A₂ presente na circulação sanguínea, convertendo-os em ácido araquidônico. Essa substância entra na via dos eicosanoides, através da enzima cicloxigenase 2 (COX – 2), principalmente, levando a produção da PGF₂α (SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2023). Esse sinalizador celular gera vasoconstrição na artéria ovariana, reduzindo o aporte nutricional para o corpo lúteo, levando a isquemia e morte das células luteínicas, gerando uma cicatriz composta por tecido conectivo e colágeno, o corpo albicans (NOAKES, 1992). Assim, após a luteólise um novo ciclo estral é restabelecido, dando a oportunidade de uma nova gestação à fêmea.

Dessa forma, quando ocorre fertilização, o embrião viável deve impedir a luteólise para assegurar a secreção contínua de progesterona (SPENCER et al., 2007). O processo fisiológico no qual o embrião sinaliza sua presença ao organismo é denominado reconhecimento materno da gestação. Para isso, ele sintetiza e libera fatores que modulam a produção de prostaglandina F₂α (PGF₂α) pelo endométrio materno, evitando a degradação do corpo lúteo (KERBLER et al., 1997). Tais fatores são agentes antiluteolíticos que garantem a continuidade da atividade do corpo lúteo e a continuidade da produção de progesterona (SPENCER et al., 1995). Esse mecanismo ocorre de forma mais crítica entre os dias 14 e 19 do ciclo estral, período em que o embrião deve ocupar uma grande área do endométrio para exercer seu efeito modulador sobre a PGF₂α (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

Caso a cópula não resulte em fertilização ou o embrião não seja viável, os mecanismos de reconhecimento materno não são ativados, levando o útero a secretar PGF₂α, o que causa a lise do corpo lúteo e o reinício do ciclo reprodutivo (STOJKOVIC et al., 1999). Na vaca, esse reconhecimento ocorre entre os dias 16 e 19 pós-ovulação (THATCHER; MEYER; DANET-DESNOYERS, 1995), quando o embrião produz proteínas sinalizadoras que atuam exclusivamente no lúmen uterino, sem efeito sistêmico antiluteolítico (HAFEZ; HAFEZ, 2004). O principal inibidor da síntese de PGF₂α é a proteína trofoblástica bovina 1, de baixo peso molecular e natureza ácida, cuja produção ocorre entre os dias 16 e 19 de gestação (HELMER et al., 1989). Essa proteína possui grande similaridade com os interferons e, por isso, foi classificada como interferon tau bovino (BAZER; SPENCER; OTT, 1977).

Até o 16º dia de gestação, a progesterona exerce forte ação sobre seus receptores, dificultando a ligação do estrógeno e da ocitocina, o que impede a secreção de $\text{PGF}_{2\alpha}$ e, conseqüentemente, a luteólise (GROSS et al., 1988). No entanto, a exposição prolongada do útero à progesterona reduz a responsividade dos receptores, tornando o útero mais sensível ao estrógeno a partir do dia 16 pós-ovulação e ativando o mecanismo de luteólise (PATE, 2024).

Concomitante a isso, as células mononucleares do trofoderma secretam o interferon tau bovino, que possui as seguintes funções: inibição da enzima COX - 2, reduzindo a conversão do ácido araquidônico em $\text{PGF}_{2\alpha}$ (MEIDAN; BASAVARAJA, 2022); modulação da expressão gênica de enzimas (COX - 2 e fosfolipase A_2) e receptores (estrógeno e ocitocina) envolvidos na síntese da $\text{PGF}_{2\alpha}$ (WILTBANK et al., 2023); estimulação da síntese de prostaglandina E_2 (PGE_2), que aumenta o fluxo sanguíneo intraovariano, levando a maior proliferação celular no corpo lúteo, bem como maior aporte de colesterol para a produção de progesterona (BORUSZEWSKA et., 2019); estabilização dos receptores de P_4 no endométrio (ZHANG et al., 2024); supressão do sistema imune materno através de genes que estimulam a síntese de β_2 – microglobulina e o complexo de histocompatibilidade classe 1 (MHC – 1) (BAZER; OTT; SPENCER, 1994); e prolongação da sobrevivência do embrião, através do estímulo de genes relacionados com a proliferação celular, receptividade uterina e implantação do embrião, sendo eles transcritores das proteínas galectina 15, mucinas e catepsina 1 (RIZOS et al., 2003). Além disso, o endométrio de vacas gestantes, produz um fator de inibição da síntese de $\text{PGF}_{2\alpha}$, sendo ele o ácido linoleico (STAPLES; BURKE; THATCHER, 1998).

Na fase inicial da gestação, existe a modificação da composição lipídica do endométrio, onde o ácido araquidônico é substituído pelo ácido linoleico, modulando indiretamente a síntese de $\text{PGF}_{2\alpha}$, pela redução sérica do seu precursor (FATTAHI et al., 2018). O embrião, além do interferon tau, produz fatores imunossupressores importante para a manutenção da gestação, como: o fator precoce de gestação (FPF), a zigotina, o fator ativador de plaquetas (PAF), o fator pré implantação e proteínas de choque térmico (HSPs). O FPF suprime a ação de linfócitos B e T, além de atuar como fator de crescimento (CORDOBA; SARTORI; FRICKE, 2001). Já a zigotina, que é o primeiro fator produzido pelo embrião, consiste no sinal mais precoce de reconhecimento materno. Esse fator é produzido 24 horas após a ovulação e impede que o sistema imune materno reconheça as proteínas de origem paterna como patógeno, evitando a rejeição do embrião (HAFEZ; HAFEZ, 2004). O PAF é produzido logo após a ovulação e atua auxiliando no

transporte do embrião pelo oviduto, bem como estimulando a síntese de serotonina, que por sua vez estimula a secreção de P₄ pelo CL (HANSEL; HICKEY, 1988). O fator pré-implantação é responsável por modular a resposta imune materna (BARNEA; CHOI; LEAVIS, 2000). As HSPs são produzidas pelo embrião a partir do terceiro dia de gestação, com maior ação após o 16º dia. Elas atuam protegendo o embrião contra o estresse térmico, porém em estímulos crônicos, pode gerar uma produção excessiva dessas proteínas, causando danos ao embrião (CHAUOAT et al., 1995). Além disso, células binucleadas do trofoblasto atuam convertendo a PGF₂α em PGE₂, que atua aumentando o fluxo sanguíneo para o CL, estimulando a síntese de P₄ (FERREIRA, 2010).

6. Perdas gestacionais

6.1. Morte embrionária, abortamento e perdas econômicas

As falhas reprodutivas estão associadas com as falhas na fertilização, à morte embrionária precoce e tardia, além do abortamento (SANTOS et al., 2004a). Existe um grande impacto econômico relacionado às perdas gestacionais, de até US\$ 6,25 por vaca exposta para cada redução de 1% na taxa de prenhez (MERCADANTE, 2020). A morte embrionária é dividida em duas fases: a precoce, que ocorre da fertilização até o 21º dia de gestação, e a tardia, que acontece entre o 21º e o 42º dia de gestação (BESKOW; GREGORY; ROCHA, 2009). A morte fetal ou abortamento ocorre após o 42º dia de gestação (GRUNERT et al., 2005).

A taxa de fertilização, quando as condições são ideais – incluindo a qualidade seminal, o escore de condição corporal adequado dos animais e a correta aplicação da técnica de inseminação artificial –, é extremamente elevada, atingindo aproximadamente 90%. Isso indica que a maior parte dos embriões consegue iniciar seu desenvolvimento (ROBINSON et al., 2008). Por outro lado, diversas são as causas que podem impactar a sobrevivência embrionária, sendo variáveis as causas de morte, como: problemas endócrinos; anormalidades genéticas; alta produtividade (carne e leite); doenças infecciosas e imunológicas; fatores ambientais, principalmente o estresse térmico; aberrações cromossômicas; distúrbios nutricionais, dentre outros (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

6.2. Fatores associados às perdas embrionárias

- Qualidade folicular, oocitária e do CL: Animais com uma concentração de P₄ sub luteal (1 a 2 ng/ml), apresentam aumento na pulsatividade de LH hipofisário,

levando a um maior desenvolvimento do folículo pré-ovulatório, que mantém a dominância por um maior período. Isso induz o reinício da meiose antes da ovulação, gerando menor qualidade oocitária no momento da fertilização e conseqüentemente maiores perdas embrionárias (REVAH; BUTLER, 1996). Da mesma forma, problemas no desenvolvimento folicular, como secreção inadequada das gonadotrofinas, irá resultar em um folículo dominante menor, com menor células esteroideogênicas (células da teca interna e granulosa), causando menor produção de E₂ durante o ciclo estral. Isso resulta em um CL menor, com menor potencial para produzir P₄ (ROBINSON et al., 2005).

- Qualidade do CL: A concentração de P₄ plasmática está intimamente relacionada com o tamanho do CL até o quinto dia do ciclo estral, reduzindo no oitavo dia e desaparecendo após o dia 16 (FERREIRA, 2010). A função esteroideogênica do CL está relacionada tanto com sua vascularização quanto com o seu tamanho, por isso a cada célula luteal existe um capilar sanguíneo adjacente (ANDRADE et al., 2019). Na luteogênese, os principais fatores vasculares são o fator de crescimento vascular endotelial (VEGFA) e o fator de crescimento fibroblástico 2 (FGF₂), potentes estimuladores da proliferação de células endoteliais (FERREIRA, 2010).
- Duração do proestro e subsequente fase luteal: Animais que passam por um período de proestro curto, tem sua exposição ao estradiol reduzida, gerando maior sensibilidade ao hormônio. Dessa forma no próximo ciclo estral, o útero estará mais responsivo ao E₂, e conseqüentemente à ocitocina, que irá estimular a síntese precoce de PGF₂ α , causando a lise prematura do CL, antes da fase de reconhecimento materno da gestação (PETERS; PURSLEY, 2003; MANN; LAMMING, 2000).
- Concentração de P₄ e ambiente uterino: A progesterona após a ovulação é importante para o desenvolvimento endometrial e nutrição do embrião, além de reduzir a motilidade uterina e sua imunidade (BESKOW; GREGORY; ROCHA, 2009). Para evitar a luteólise precoce, a P₄ bloqueia o sistema do segundo mensageiro da cascata de produção de prostaglandinas. Além disso, ela aumenta o desenvolvimento do conceito, estimulando a produção de interferon tau pelo embrião, inibindo a síntese de PGF₂ α pelo endométrio (ROBINSON et al., 2008).
- Reconhecimento materno da gestação: Como dito anteriormente, o embrião é responsável por produzir interferon tau, que atua na cascata do ácido

- araquidônico, inibindo a via dos eicosanoides e impedindo a produção de $\text{PGF}_{2\alpha}$. Dessa forma é necessário um embrião saudável produzindo interferon tau, mas também um CL ativo, secretando P_4 em concentrações adequadas e com responsividade às luteotropinas produzidas pelo embrião (WATHES et al., 2003).
- Regulação endócrina: O desequilíbrio entre E_2 e P_4 após o processo de fertilização pode alterar a velocidade de transporte do embrião da tuba uterina para o útero, levando à morte pré-implantação. Isso causa uma redução no tamanho do embrião, tendo menor resposta aos hormônios luteotróficos, além de menor capacidade de produzir interferon-tau, sendo incapaz de impedir a luteólise (HAFEZ; HAFEZ, 2004).
 - Fatores nutricionais: Vacas em restrição alimentar prolongada podem apresentar deformações no endométrio, que, em casos mais graves, evoluem para fibrose uterina, o que impede a implantação embrionária (BESKOW; GREGORY; ROCHA, 2009). Além disso, os hormônios esteroides são produzidos a partir do colesterol, e animais com baixo ECC possuem níveis reduzidos dessa molécula. Vacas alimentadas com dietas contendo alto nível de gossipol, especialmente com concentrações superiores a $5 \mu\text{g/ml}$, tendem a apresentar maiores taxas de perda embrionária (SANTOS et al., 2004a). Além disso, vacas em balanço energético negativo (BEN), comum no pós-parto, mobilizam suas reservas lipídicas para gerar energia e atender às exigências metabólicas, o que resulta no acúmulo de substâncias como ácidos graxos não esterificados (AGNE) e corpos cetônicos no fluido folicular, reduzindo a qualidade oocitária, resultando em um embrião de qualidade inferior. A perda de uma unidade de ECC, em uma escala de 1 a 5, do parto até 30 dias pós-parto aumenta em 2,41 vezes as taxas de morte embrionária (LÓPEZ-GATIUS et al., 2002). Da mesma forma, a perda de ECC durante a gestação também é prejudicial, uma vez que a perda de um ponto de ECC entre os dias 28 e 56 de gestação aumentam em 3,2 vezes a probabilidade de perda gestacional (SILKE et al., 2002).
 - Estresse térmico: Vacas em estresse térmico possuem maior liberações de cortisol, que causa redução na qualidade oocitária e liberação de hormônios esteroides (ZERON et al., 2001). O estresse calórico entre os dias 8 e 17 de gestação alteram o ambiente uterino, o desenvolvimento do concepto e a atividade secretória das glândulas endometriais (GEISER; ZAVY; BIGGERS, 1988). Segundo Gonzalez (2002), um aumento de $0,5^\circ\text{C}$ na temperatura uterina no dia do serviço ou um dia

após, reduz a taxa de concepção em aproximadamente 10%. Além disso, o embrião antes do quarto dia de vida é extremamente sensível ao estresse térmico, uma vez que as HSP são produzidas após esse período (LANG et al., 2024)

- Anestro prolongado: A primeira fase luteal pós-anestro é curta (<12 dias), resultando em uma exposição limitada do ambiente uterino à P₄ durante o diestro (INSKEEP, 2002). Isso leva ao desenvolvimento de um folículo dominante com menor diâmetro, que produz concentrações reduzidas de E₂ (MANN; LAMMING, 2000). A baixa exposição prévia à progesterona e ao estrógeno provoca a liberação prematura de PGF₂α no ciclo estral subsequente, antes que o embrião tenha a capacidade de produzir interferon-tau e sinalizar sua presença ao organismo materno (SANTOS et al., 2004a).
- Produção de leite: O aumento na produção de leite eleva o consumo de matéria seca (CMS) e a taxa metabólica, o que, por sua vez, acelera a depleção hepática de hormônios esteroides como a progesterona. Isso reduz a ação hormonal no útero, e nas fases críticas (4 a 7 dias e 14 a 17 dias pós-ovulação), pode intensificar as perdas gestacionais (BESKOW; GREGORY; ROCHA, 2009);
- Doenças infecto contagiosas: Doenças causam modificações na homeostase do organismo animal, levando a alterações sistêmicas como a febre, além de mudanças no ambiente uterino, o que gera um maior desafio para a sobrevivência embrionária (REECE, 2006). Além disso, existe um maior direcionamento de nutrientes e do fluxo sanguíneo para os órgãos afetados pela enfermidade, reduzindo o aporte nutricional para o útero (SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2023);
- Efeito touro: A utilização da IA resultou na utilização de touros provados geneticamente, além do rigoroso controle da qualidade seminal através da avaliação de parâmetros como motilidade e vigor pré e pós congelamento, patologias espermáticas e controle da carga microbiana através do uso de antimicrobianos, reduzindo o efeito touro nas perdas gestacionais (CHENOWETH; MCPHERSON, 2016). O principal fator relacionado ao macho é a incompatibilidade imunológica que pode bloquear a fertilização ou provocar perda gestacional. Em bovinos, a homozigose para certos grupos sanguíneos e certas moléculas relacionadas à transferrina e o antígeno J estão associados com

redução na fertilidade e aumento das perdas gestacionais (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

- Incompatibilidades genéticas ou imunológicas: Podem levar à morte embrionária em diferentes níveis, como entre espermatozoide e oócito, espermatozoide e organismo materno, ou entre embrião e organismo materno (HAFEZ; HAFEZ, 2004). Essas incompatibilidades podem ocorrer devido a anormalidades cromossômicas, defeitos genéticos, falhas no imprinting genômico ou reações imunológicas, como a produção de anticorpos contra os espermatozoides e a incompatibilidade no complexo de histocompatibilidade (MHC) (ROSA, 2016). Além disso, existem alguns haplotipos, principalmente no cromossomo sexual X, que afetam a viabilidade dos embriões femininos, levando a morte embrionária (WU et al., 2020).

6.3. Morte fetal

A maior parte das perdas gestacionais ocorrem durante o período embrionário (cerca de 28%), porém existe uma perda de aproximadamente 5%, entre os dias 42 e 270 de gestação, caracterizando o abortamento (GRUNERT et al., 2005). Em animais provenientes da fertilização in vitro (FIV) e clonagem, este número é ainda maior, chegando a 20% (TAVERNE et al., 2002) e 43% (HEYMAN et al., 2002), respectivamente.

A viabilidade fetal pode ser avaliada por parâmetros hormonais, químicos e ultrassonográficos (JONKER, 2004). A ultrassonografia modo brilho auxilia na identificação dos batimentos cardíacos, organogênese e comunicação materno-fetal através dos placentomas (KOHAN-GHADR et al., 2008). A ultrassonografia modo doppler auxilia na identificação da vascularização fetal e placentária (OLIVEIRA et al., 2023). Além disso, existem proteínas produzidas pelas células binucleares do trofoblasto que prediz a gestação, sendo elas a glicoproteína associada à gestação (PAG) e a proteína B específica da gestação (PSPB) (RIAL et al., 2024a), além do sulfato estrona produzida pela placenta, adrenal e ovário (HIRAKO; TAKAHASHI; DOMEKI, 2002). As duas proteínas produzidas possuem alta sensibilidade, sendo que antes mesmo da progesterona reduzir, seus níveis plasmáticos reduzem (RIAL et al., 2024b).

Segundo Hafez e Hafez (2004), a morte fetal é dividida em quatro tipos, sendo elas:

- **Infeccioso:** Causado por agentes patológicos com tropismo para o aparelho reprodutor, sendo as principais doenças campilobacteriose, triconomose, brucelose, rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), diarreia viral bovina (BVD), neosporose e leptospirose, que corresponde a 55,9% dos abortos bovinos (SANTOS et al., 2004a);
- **Induzido:** O mecanismo do parto é extremamente complexo, sendo iniciado pelo sistema hipotalâmico-hipofisário-adrenal do feto e finalizado com a expulsão do concepto e das membranas fetais (BERNAL, 2003). No final da gestação, devido a limitação física e nutricional, o feto produz o hormônio liberador de corticotrofina (CRH), que é convertido em pro-opiomelanocortina (POMC) ainda no hipotálamo (ZHANG; HEANEY, 2024). A POMC é enviada até a adenohipófise, onde é convertida em hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), este induz a secreção de cortisol pelo córtex da adrenal, desencadeando o parto (TAKAGI et al., 2002). O cortisol, causa a inversão hormonal, convertendo progesterona em estrógeno, estimulando a atividade de três enzimas, sendo elas a 17alfa-hidroxilase, 17-20 desmolase e aromatase. A primeira converte P₄ em 17-hidroxiprogesterona; a 17-20 desmolase converte 17-hidroxiprogesterona em androstenediona; e por fim a aromatase converte androstenediona em estradiol (REECE, 2006). A redução da P₄ e o aumento do E₂, ocasionam o aumento da contração miométrial, além de estimular a síntese de PGF₂α que auxilia na contração da parede uterina e na lise do CL, resultando em uma queda brusca na progesterona circulante (SENGER, 2003). Dessa forma, entendeu-se que não só o estresse fetal, mas também o estresse materno pode desencadear o parto, através do mecanismo de conversão da progesterona em estrógeno (RAFATI; MEHRABANI-YEGANEH; HANSON, 2010). Além disso, a aplicação exógena de fontes de E₂, análogos da PGF₂α e glicocorticoides, dependendo da fase gestacional, podem induzir o parto ou o abortamento (BOLTE et al., 1977; KORDTS; JÖCHLE, 1975);
- **Não infecciosos e espontâneos:** As anormalidades cromossômicas geram defeitos genéticos, levando a erros na divisão celular ou problemas na síntese proteica (TAMMEN; NICHOLAS, 2022). Outras causas são distúrbios nutricionais, BEN, desequilíbrio hormonal como a deficiência de P₄, estresse, trauma físico, gestação gemelar e status reprodutivo do animal (FERREIRA, 2010).

- Mumificação fetal: É caracterizada pela morte fetal onde não a expulsão do feto do ambiente uterino. Os fluidos placentários são reabsorvidos, causando a desidratação do feto e dos anexos placentários (DEATON; OLDS; SEATH, 1959). Ocorre principalmente do quinto ao sétimo mês de gestação e normalmente o feto mumificado permanece no útero, devido a ação da P₄, causando contração da cérvix e formação do tampão mucoso, devido à persistência do CL (HAFEZ; HAFEZ, 2004). Em alguns casos, o tampão mucoso pode ser rompido levando a penetração de bactérias pelo canal cervical, que degradam os tecidos moles fetais, deixando os ossos flutuando nos fluidos placentários. Essa afecção é denominada maceração fetal, sendo um processo séptico, diferente da mumificação fetal (DANIEL GIVENS; MARLEY, 2008).

6.4. Medidas de redução das perdas gestacionais

6.4.1. Somatotropina bovina (bST)

O bST é um peptídeo análogo ao hormônio do crescimento (GH), sendo produzido pelos somatotropos, células acidofílicas da adenohipófise (REECE, 2006). Sua síntese endógena é estimulada pelo hormônio de liberação do hormônio do crescimento (GHRH) hipotalâmico, que chega até a hipófise anterior através do sistema porta hipotalâmico-hipofisário (CONNOR; ASHWELL; DAHL, 2002). O GH é secretado na circulação sistêmica e se desloca até o fígado, onde estimula a secreção dos fatores de crescimento semelhante a insulina I e II (IGF -I e IGF- II) (MCGUIRE et al., 1992). O GH e as somatomedinas são sinérgicos e atuam no metabolismo tecidual e bipartição de nutrientes (RAO; RAMACHANDRAN, 1977). Dependendo do status metabólico o GH irá desempenhar diferentes efeitos, sendo que, animais em BEN irão apresentar maior efeito lipolítico para aumentar a disponibilidade energética, principalmente para a produção de leite, reduzindo a síntese de IGF -1, que é extremamente importante na esteroidogênese (LANNA et al., 1995). Já animais em balanço energético positivo (BEP) irão apresentar maior disponibilidade de GH para estimular a produção de IGF -1 e conseqüentemente a esteroidogênese (ACOSTA et al., 2017).

Atualmente, o bST é utilizado para prolongar o pico de lactação, sendo viável economicamente apenas em vacas de alta produção (SCHAMS et al., 1989). Ele estimula a mobilização de gordura corporal, aumentando o aporte energético para a glândula mamária, levando a um acréscimo de 10 a 20% na produção de leite (CAPUCO et al., 2001). Dessa forma, dietas desbalanceadas irão gerar déficit energético, levando a maior

mobilização de gordura, causando aumento nos níveis de AGNE, que se acumulam no fluido folicular, reduzindo a qualidade oocitária (FERST et al., 2020). Além disso, existe um menor aporte energético para o aparelho reprodutor, afetando a taxa de prenhez, a taxa de sobrevivência embrionária e a esteroidogênese (SANTOS et al., 2004a). O GH, bem como as somatomedinas possuem receptores em vários tecidos corporais, incluindo o aparelho reprodutor (BURATINI et al., 2000). Nos ovários atua estimulando o desenvolvimento folicular e do CL, intensificando a esteroidogênese. Já no útero estimula o desenvolvimento do endométrio e das glândulas endometriais, melhorando o desenvolvimento oocitário e embrionário (COSTA et al., 2020).

Em vacas Holandesas cíclicas, Santos et al. (2004b) avaliaram a administração de somatotropina bovina (bST) no início do protocolo reprodutivo (dia 0), entre 63 e 66 dias pós-parto. A aplicação de bST demonstrou tendência à redução da mortalidade embrionária em 5,7%, embora tenha sido observada uma queda de 14,9 pontos percentuais na taxa de detecção de estro em vacas múltíparas. Em outro estudo, Moreira et al. (2002), utilizando o bST no dia 0 de um protocolo de superovulação, observaram redução no número de oócitos não fertilizados, aumento na proporção de embriões viáveis para transferência e estímulo ao desenvolvimento embrionário até o estágio de blastocisto.

6.4.2. CL acessório, pré-sincronização e progesterona

Ferramentas como a pré-sincronização e indutores de ovulação, são capazes de gerar um ou mais CL acessório, auxiliando o CL primário a produzir P₄ durante a fase luteínica (FLORES et al., 2025). Existem diversos protocolos de pré-sincronização que utilizam PGF₂ α , análogos de GnRH, estradiol, progesterona ou a associação desses hormônios. A pré-sincronização tem como objetivo estimular a ocorrência de um ou dois estros antes do início do protocolo visando melhorar o ambiente uterino e a qualidade oocitária, preparando o útero para a gestação e o gameta para a fertilização (BURATO et al., 2024). Outra forma de estimular a formação do CL acessório é a indução da ovulação, através do encurtamento do diestro, utilizando os análogos da PGF₂ α (STEVENSON et al., 2018) ou estimulando a liberação de LH, utilizando análogos do GnRH (SILVA et al., 2018). Os fármacos similares a PGF₂ α devem ser utilizados no diestro, no mínimo 5 a 6 dias pós ovulação, momento em que seus receptores estão presentes no CL, sendo que os agentes luteolíticos atuam causando lise funcional e morfologia da glândula transitória (GUMEN et al., 2012). Já os análogos do GnRH são mais utilizados pós IA/cobertura

estimulando a ovulação e conseqüentemente o aumento da P_4 , melhorando o ambiente uterino e o mecanismo de reconhecimento materno da gestação (RATZBURG et al., 2020).

A progesterona é conhecida como o hormônio da gestação, atuando na redução da imunidade uterina, diminuição da contratilidade do aparelho reprodutor, alteração do comportamento sexual, contração da cérvix, formação do tampão mucoso, secreção das glândulas endometriais e tubáricas, estímulo à produção de fatores luteotróficos e antiluteolíticos (MOTOMURA et al., 2023). Todos esses fatores atuam em conjunto no aparelho reprodutor feminino, fornecendo condições favoráveis para o desenvolvimento do concepto (HAFEZ; HAFEZ, 2004). A suplementação de progesterona deve ser evitada imediatamente após a IA/cobertura, uma vez que leva ao encurtamento do ciclo estral subsequente, por reduzir o período de metaestro e adiantar o diestro (BESKOW; GREGORY; ROCHA, 2009).

6.4.3. Supressão do desenvolvimento folicular

A presença de um FD durante a fase de reconhecimento materno da gestação irá aumentar os níveis de E_2 circulante, sensibilizando os receptores de ocitocina, ativando a via do segundo mensageiro, conseqüentemente estimulando a síntese de $PGF_{2\alpha}$ e a luteólise (ROBINSON et al., 2001). Durante o período crítico, ou seja, entre o dia 14 e 19 pós ovulação, é interessante a supressão do desenvolvimento do FD através de sua ovulação ou atresia, sendo estimulado por análogos do GnRH ou aumento da concentração de P_4 , respectivamente (BESKOW; GREGORY; ROCHA, 2009). Além disso, altas concentrações de E_2 durante o metaestro tem potencial antiluteolítico, limitando a luteogênese, conseqüentemente, reduzindo a síntese de P_4 (FERREIRA, 2010).

6.4.4. Nutrição

O estado nutricional regula os processos reprodutivos através de sinais endócrinos e metabólicos (FERREIRA; TORRES, 1993). A suplementação de alguns ácidos graxos, como o ômega 3 e 6, modulam a secreção de $PGF_{2\alpha}$, reduzindo a concentração do seu precursor, impedindo a luteólise (FERST et al., 2021). O controle do ECC é extremamente importante, uma vez que vacas gordas apresentam maior nível de leptina, hormônio produzido pelos adipócitos, atuando no sistema nervoso central (SNC), reduzindo o apetite e a secreção de GnRH (BARB, HAUSMAN; LENTS, 2008). A

leptina atua inibindo a síntese do neuropeptídeo Y (NPY), responsável pelo estímulo ao CMS, além de aumentar a produção da POMC (GAMBA; PRALONG, 2006). Dessa forma, ocorre uma redução do consumo alimentar, aumentando a mobilização de gordura e os efeitos negativos associados ao AGNE (FERST et al., 2020). Outro efeito é a inibição da síntese de GnRH, através dos opioides endógenos, produzidos a partir da POMC (BARB; KRAELING, 2004). Dessa forma, o excesso de leptina compromete a qualidade embrionária e oocitária, bem como o ambiente uterino pelo comprometimento na esteroidogênese (FERREIRA, 2010). Entretanto, em concentrações adequadas (4 a 5 ng/mL) a leptina atua na angiogênese, sistema imune, função intestinal, crescimento fetal, termogênese, seleção do FD e formação do CL, sendo fundamental para o desenvolvimento embrionário e fetal (MARTI; BERRAONDO; MARTINEZ, 1999; JACOBS; CONWAY, 1999).

A suplementação com Selênio e vitamina E ajudam a proteger os gametas, o embrião e o útero do estresse oxidativo, possuindo efeito sinérgico e aditivo (BOURNE et al., 2008). Esses micronutrientes atuam também como imunoestimulantes e imunomoduladores (GUPTA; GUPTA; SONI, 2005). Em associação, melhoram a qualidade dos gametas, estimulam o sistema imune, melhoram o desenvolvimento embrionário e reduzem a luteólise precoce (VAN SAUN; HERDT; STOWE, 1989; BOURNE et al., 2008).

6.5. Progesterona

A comunicação celular é realizada através de hormônios, neurotransmissores ou fatores de crescimento, sendo que existem quatro mecanismos de comunicação intercelular (REECE, 2006), sendo eles: Comunicação sináptico neural, onde um neurotransmissor específico é produzido em um neurônio aferente pré-sináptico, em resposta a um estímulo captado do meio externo. Esse sinalizador químico é secretado na fenda sináptica, sendo transportado por diversos neurônios, até chegar ao neurônio eferente, que produz a resposta a partir do estímulo captado (WITHERS; COOPER, 2024); Comunicação intácrina, quando a célula envia sinais químicos que agem na mesma célula que é produzida (BREED; MOORE, 2022). Comunicação endócrina, onde um hormônio específico é produzido em uma glândula, é secretado na corrente sanguínea e atua em uma célula alvo, com receptores específicos (SENGER, 2003); Comunicação parácrina, onde uma determinada célula libera um mensageiro químico no líquido extracelular, que é captado pela célula vizinha estimulando uma função específica, como

no processo de cicatrização (GONZÁLEZ, 2002); Comunicação autócrina, onde a célula envia sinais químicas que regulam atividades na própria célula, sendo um processo comum em células do sistema imunológico (SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2023); Comunicação justácrina, onde as células se comunicam diretamente através do contato íntimo entre suas membranas plasmáticas. Nesse tipo de comunicação, não há a liberação de mensageiros químicos, ela ocorre através da interação entre moléculas de sinalização presente na membrana plasmática de uma célula com receptores na membrana de células adjacentes, sendo uma comunicação comum entre as células embrionárias (XIONG et al., 2010).

A atividade gonadal é regulada por mecanismos de Feedback ou retroalimentação endócrina, sendo controlados pelo sistema nervoso e imuno endócrino (WITHERS; COOPER, 2024). A depender da concentração sérica, os hormônios reprodutivos, principalmente os esteroides, podem exercer feedback positivo (estimulatório) ou negativo (inibitório), onde esse processo envolve a comunicação entre duas ou mais glândulas e órgãos alvo (LITWACK, 2022b). A retroalimentação inibitória é um mecanismo regulatório onde o aumento de determinado hormônio inibe a produção de outro, tendo como exemplo a progesterona produzida pelo CL durante a fase de diestro, que reduz a secreção de GnRH hipotalâmico. Por sua vez, a retroalimentação positiva estimula a liberação de um hormônio a partir do aumento sérico de outro, tendo como exemplo o aumento dos níveis de estradiol durante o estro, que resulta em um pico pré-ovulatório de LH hipofisário (NORMAN; HENRY, 2015b).

6.5.1 Farmacocinética e farmacodinâmica da progesterona

A progesterona é um hormônio da classe dos esteroides, sendo sintetizada no corpo lúteo, adrenal e placenta, a partir do colesterol e sob ação das gonadotrofinas hipofisárias, tendo como precursor o acetato tecidual ou a absorção sanguínea, obtidos através da alimentação (NORMAN; HENRY, 2015c). O colesterol é careado pela via sanguínea por um transportador específico (LDL, HDL ou VLDL) que possui receptor na membrana plasmática de diversas células, inclusive as células pequenas e grandes do CL (SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2023). Após adentrar na célula, o colesterol é transportado do citosol para a mitocôndria através da proteína reguladora aguda da esteroidogênese (StAR) (CHRISTENSEN; DEVOTO, 2003). Na membrana interna da mitocôndria existe inicialmente a conversão do colesterol, uma molécula de 27 carbonos, em pregnenolona, contendo 21 carbonos, através da enzima desmolase (Citocromo

P450scc), que é estimulada pelo LH hipotalâmico (REECE, 2006). A pregnenolona então vai até o retículo endoplasmático liso (REL) através de micro domínios entre as duas organelas, onde é convertida em progesterona através da enzima 3β -hidroxiesteroide desidrogenase (3β -HSD), formando uma molécula de 21 átomos de carbono (NISWENDER et al., 1994).

A progesterona possui diversas funções no organismo animal, sendo elas: Proporcionar um ambiente uterino adequado para a implantação e manutenção da gestação, através do aumento da atividade secretória das glândulas endometriais, que produzem o leite uterino, responsável pela nutrição do embrião antes da placentação (GREEN; HUNTER; MANN, 2005); estimular a produção da proteína MUC – 1, presente no glicocálix do endométrio uterino, impedindo a implantação precoce (HAFEZ; HAFEZ, 2004); reduzir a motilidade uterina, pela redução da expressão dos receptores de ocitocina e na produção de estradiol, causando um período de quiescência uterina, permitindo o desenvolvimento embrionário e fetal (MANN; LAMMING, 1999); regular o sistema imunológico, reduzindo a quimiotaxia de células de defesa para o útero, evitando a rejeição do embrião, que é geneticamente diferente da mãe (HANSEN, 1997); estimular o desenvolvimento dos alvéolos da glândula mamária (NORMAN; HENRY, 2015c); regular o ciclo reprodutivo e ovulação, através da inibição do pico pré ovulatório de LH, isso possibilita que um folículo mais competente se torne o dominante e ovule (KINDAHL; LINDELL; EDQVIST, 1979); atuar sinergicamente ao estrógeno induzindo o comportamento de cio (KOJIMA, 2003); maturar o citoplasma do oócito, ativando as organelas celulares, estimulando a organização do citoesqueleto e acumulando nutrientes, essenciais para o desenvolvimento embrionário (DODE, 2006); maturar o núcleo do oócito, estimulando a ativação da meiose, através da indução das quinases dependentes de ciclina pós ovulação (MEMILI; FIRST, 2000); controlar a receptividade sexual, inibindo o pico de E_2 , consequentemente o estro, impedindo a copula de vacas gestantes e animais sem um folículo dominante próximo a ovulação (GONZÁLEZ, 2002).

A maioria das reações químicas relacionadas com a síntese de hormônios esteroides são irreversíveis, por isso deficiências enzimáticas vão causar acúmulo do esteroide precursor, que tendem a ser convertido em andrógenos, causando virilização de fêmeas (GARVERICK; SMITH, 1993). Quanto a sua metabolização, a P_4 , assim como os demais hormônios esteroides, são inativados pelo fígado e excretados pelo rim, sendo que a meia vida plasmática é de 5 a 20 minutos (KLEIN, 2021). O excesso de

progesterona, pode estimular a produção de enzimas hepáticas específicas, encurtando seu período de meia vida (REECE, 2006).

Dessa forma, a progesterona destaca-se como um hormônio essencial para a regulação do ciclo reprodutivo. Suas funções vão desde a preparação do endométrio para a implantação embrionária até a regulação imunológica e comportamento reprodutivo. Alterações na sua produção, metabolismo ou ação podem comprometer significativamente a função reprodutiva, tornando-a um ponto-chave na fisiologia reprodutiva e um alvo estratégico para intervenções terapêuticas e zootécnicas.

OBJETIVOS

O objetivo do presente estudo foi avaliar possíveis reduções de morte embrionária através da suplementação de progesterona entre os dias 14 e 30 pós-IATF, em vacas zebrúinas (*Bos taurus indicus*) da raça Nelore.

Além disso, objetivou correlacionar fatores relacionados com as perdas gestacionais em bovinos, sendo eles: Concentração de progesterona, diâmetro do FD, CL, embrião e vesícula embrionária, expressão de cio; vascularização do FD e CL, taxa de perda gestacional, concepção e prenhez nos dias 22, 30 e 85 pós IATF;

Por fim, teve como objetivo avaliar o custo adicional da suplementação de progesterona e seu impacto econômico associado a redução na mortalidade gestacional em vacas da raça Nelore.

HIPÓTESES

Nossa hipótese é que a suplementação de progesterona reduzirá a morte embrionária precoce e tardia, por melhorar o ambiente uterino e o mecanismo de reconhecimento materno da gestação.

O impacto econômico da suplementação de progesterona será positivo, uma vez que haverá redução na mortalidade embrionária, levando a uma maior taxa de nascimento, refletindo no aumento da receita proveniente da produção e venda de animais.

REFERÊNCIAS

ABDALLA, H. et al. Factors influencing pregnancy loss between days 30 and 70 in a single cattle herd: A comprehensive analysis of sire, cow, and other contributing factors. *Theriogenology*, v. 229, p. 138–146, 1 nov. 2024.

- ACOSTA, D. A. V. et al. Effect of bovine somatotropin injection in late pregnant Holstein heifers on metabolic parameters and steroidogenic potential of the first postpartum dominant follicle. **Theriogenology**, v. 104, p. 164–172, 1 dez. 2017.
- ADAMS, G. P; JAISWAL, R. Dinâmica folicular em bovinos: visão geral da história e atualização. **Acta Sci. Vet**, v. 36, suppl. 2, p. s377-s386, 2008.
- ALVES, R. L. O. R. et al. Timed-artificial insemination protocols for *Bos indicus* beef heifers: Evaluation of protocol length and variations in prostaglandin F2 α treatments. **Theriogenology**, v. 223, p. 122–130, 15 jul. 2024.
- ANDRADE, J. P. N. et al. Early pregnancy diagnosis at 21 days post artificial insemination using corpus luteum vascular perfusion compared to corpus luteum diameter and/or echogenicity in Nelore heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 209, p. 106144, 1 out. 2019.
- ANDRADE, J. P. N. et al. Optimizing ReBreed21 II: Fertility and reproductive efficiency in different parities during a shortened breeding season in beef cattle. **Theriogenology**, v. 224, p. 41–49, 1 ago. 2024.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNE (ABIEC). **Relatório da Indústria de Carne Bovina 2023**. São Paulo, 2023. Disponível em: <https://www.abiec.com.br/wp-content/uploads/Final-Beef-Report-2023>. Acesso em: 22 jan. 2025.
- BARB, C. R; HAUSMAN. G. J; LENTS, C. A. Energy metabolism and leptin: effects on neuroendocrine regulation of reproduction in the gilt and sow. **Rev. Reprod. Domest. Anim**, v. 43, suppl. 2, p. 324-330, 2008.
- BARB, C. R; KRAELING, R. R. Role of leptin in the regulation of gonadotrophin secretion in farm animals. **Anim. Reprod. Sci.** v. 82-83, p. 155-167, 2004.
- BARNEA, E. R; CHOI, Y. J; LEAVIS, P. C. Embryo maternal signaling prior to implantation. **Early Pregnancy**, v. 4, n. 3, p. 166-175, 2000.
- BAZER, F. W; SPENCER, T. E; OTT, T. L. Interferon tau: a novel pregnancy recognition signal. **J Reprod Immunol** 1977; 37: 412 – 420.
- BAZER, F. W; BURGHARDT, R. C; JOHNSON, G. A. et al. Interferons and progesterone for establishment and maintenance of pregnancy: interactions among cell signaling pathways. **Reprod. Biol.** v. 8, n. 3, p. 179 – 211, 2008.
- BAZER, F. W; OTT, T.L; SPENCER, T.E. Pregnancy recognition in ruminants, pig and horses; signals from the trophoblast. **Theriogenology**, v. 41, p. 79-94, 1994.
- BERGER, T. Fertilization in ungulates. **Anim. Reprod. Sci.** v. 42, p. 351-360, 1996.

- BERNAL, A. L. Mechanisms of labour-biochemical aspects. **BJOG**, v. 110, n. 20, p. 39-45, 2003.
- BESKOW, A; GREGORY, R. M; ROCHA, D. C. Mortalidade embrionária em bovinos de leite. **Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Faculdade de Veterinária**, [s. l.], p. 1-32, 2009.
- BINELLI, M; THATCHER, W. W; MATTOS, R. et al. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. **Theriogenology**, v. 56, p. 1451-1463, 2001.
- BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S. Synchronization of ovulation and fixed-time artificial insemination in beef cattle. **Animal**, v. 8, n. SUPPL. 1, p. 144–150, 1 jan. 2014.
- BOLTE, K. A. et al. Dexamethasone and estradiol benzoate induced parturition in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 8, n. 1, p. 45–58, 1 jul. 1977.
- BORUSZEWSKA, D; GRYCMACHER, K; KOWALCZYK-ZIEBA, I; SINDEREWICZ, E; STASZKIEWICZ-CHODOR, J; WOCLAWEK-POTACKA, I. Expression of enzymes involved in the synthesis of prostaglandin E₂ in early- and late-cleaved bovine embryos at different stages of preimplantation development. **Theriogenology**, v. 133, p. 45 - 55, 15 Jul. 2019.
- BOURNE, N. et al. The effect of parenteral supplementation of vitamin E with selenium on the health and productivity of dairy cattle in the UK. **The Veterinary Journal**, v. 177, n. 3, p. 381–387, 1 set. 2008.
- BOWEN, J. F; BURGHARDT, R.C. Cellular mechanisms of implantation in domestic farm animals. **Semin. Cell Dev. Biol**, v. 11, p. 93-104, 2000.
- BRAUNER, C. C. et al. A 12-year summary of the effects of estrous synchronization and body weight at breeding on reproductive success of Bos indicus-influenced beef heifers grazing warm-season grasses. **Applied Animal Science**, v. 40, n. 6, p. 847–854, 1 dez. 2024.
- BREED, M. D.; MOORE, J. Neurobiology and Endocrinology for Animal Behaviorists. **Animal Behavior**, p. 29–72, 1 jan. 2022.
- BURATINI, J. et al. Effects of dominant follicle aspiration and treatment with recombinant bovine somatotropin (BST) on ovarian follicular development in Nelore (Bos indicus) heifers. **Theriogenology**, v. 54, n. 3, p. 421–431, 1 ago. 2000.
- BURATO, S. et al. Influence of early progesterone removal on follicular development, expression of estrus, and pregnancy rates in presynchronized postpartum beef cows. **Animal Reproduction Science**, v. 267, p. 107541, 1 ago. 2024.

- CAPUCO, A. V. et al. Mammary Cell Number, Proliferation, and Apoptosis During a Bovine Lactation: Relation to Milk Production and Effect of bST. **Journal of Dairy Science**, v. 84, n. 10, p. 2177–2187, 1 out. 2001.
- CHAFFAUX, S. et al. Transrectal real-time ultrasound scanning for diagnosing pregnancy and for monitoring embryonic mortality in dairy cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 10, n. 3, p. 193–200, 1 mar. 1986.
- CHAUOAT, G; MENU, E; DELAGE, G. et al. Immuno endocrine interactions in early pregnancy. **Hum. Reprod**, v. 10, suppl. 2, p. 255-259, 1995.
- CHENOWETH, P. J.; MCPHERSON, F. J. Bull breeding soundness, semen evaluation and cattle productivity. **Animal Reproduction Science**, v. 169, p. 32–36, 1 jun. 2016.
- CHRISTENSEN, L. K; DEVOTO, L. Colesterol transport and steroidogenesis by the corpus luteum – Review. **Reprod. Biol. Endocrinol.**, v.1, n. 90, p. 1-9, 2003.
- CONNOR, E. E.; ASHWELL, M. S.; DAHL, G. E. Characterization and expression of the bovine growth hormone-releasing hormone (GHRH) receptor. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 22, n. 4, p. 189–200, 1 jun. 2002.
- CORDOBA, M. C; SARTORI, R; FRICKE, P. M. Assessment of a commercially available early conception factor (ECF) test for determining pregnancy status of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 1884-1889, 2001.
- COSTA, N. P. et al. Effects of recombinant bovine somatotropin on pregnancy per artificial insemination, corpus luteum cellular composition and endometrial gland morphometry in beef cattle. **Theriogenology**, v. 141, p. 180–185, 1 jan. 2020.
- CROSBY, I. M; GANDOLFI, F; MOOR, R. M. Control of protein synthesis during early cleavage of sheep embryos. **J Reprod Fertil** 1988; 82: 769-775.
- DAVENPORT, K. M. et al. Review: Implantation and placentation in ruminants. **animal**, v. 17, p. 100796, 1 maio 2023.
- DANIEL GIVENS, M.; MARLEY, M. S. D. Infectious causes of embryonic and fetal mortality. **Theriogenology**, v. 70, n. 3, p. 270–285, 1 ago. 2008.
- DEATON, O. W.; OLDS, D.; SEATH, D. M. A Study of Some Possible Genetic Causes of Mummified Fetuses in Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 42, n. 2, p. 312–314, 1 fev. 1959.
- DODE, M. A. N. Avanços na maturação oocitária em bovinos. **Acta. Sci. Vet**, v. 34, suppl. 1, p. 113-130, 2006.

- DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. **Tratado de anatomia veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019.
- EWING, K. P. et al. Effects of spring and fall stockpile grazing management system on performance of fall-calving beef cows, preweaning calf performance, forage characteristics, and economics. **Applied Animal Science**, v. 40, n. 6, p. 835–846, 1 dez. 2024.
- FAO – ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A AGRICULTURA E ALIMENTAÇÃO. **O País 25** [pdf]. Lisboa, 2014. Disponível em: https://www.fao.org/fileadmin/user_upload/faoweb/lisbon/docs/O_Pa%C3%ADs_25_7_2014.pdf. Acesso em: 22 jan. 2025.
- FATTAHI, A. et al. Effects of dietary omega-3 and -6 supplementations on phospholipid fatty acid composition in mice uterus during window of pre-implantation. **Theriogenology**, v. 108, p. 97–102, 1 mar. 2018.
- FELICIANO, G. D. **Embriologia fundamental**. 1. ed. Rio de Janeiro: Freitas Bastos, 2024.
- FERREIRA, A. M. **Reprodução da Fêmea Bovina**. Editora Editar; 1º Edição; Valença – RJ; 2010. 420 p.
- FERREIRA, A. M; TORRES, C. A. A. Perda de peso corporal e cessação da atividade ovariana cíclica em vacas mestiças leiteiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 27, n. 1, p. 411-418, 1993.
- FERST, J. G. et al. Intrafollicular injection of nonesterified fatty acids impaired dominant follicle growth in cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 219, p. 106536, 1 ago. 2020.
- FLORES, T. et al. Presynchronization with a progesterone device and prostaglandin F2 α enhances ovulatory response to first GnRH, estrus expression and tended to increase fertility in beef heifers submitted to a 5-day CO-Synch protocol. **Theriogenology**, v. 234, p. 117–124, 1 mar. 2025.
- GALINA, C. S.; ORIHUELA, A.; DUCHATEAU, A. Reproductive Physiology in Zebu Cattle: Unique Reproductive Aspects that Affect Their Performance. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 3, n. 3, p. 619–632, 1 nov. 1987.
- GAMBA, M; PRALONG, F. P. Control of GnRH neuronal activity by metabolics factors: the role of leptin and insulin. Review. **Mol. Cell. Endocrinol.** v. 254-255, p. 133-139, 2006.

- GARVERICK, H. A.; SMITH, M. F. Female Reproductive Physiology and Endocrinology of Cattle. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 9, n. 2, p. 223–247, 1 jul. 1993.
- GEISER, R. D, ZAVY, M. T, BIGGERS, G. G. Effect of heat stress of conceptus and uterine secretion in the bovine. **Theriogenology**. 1988; 29:1075.
- GOFF, A. K.; JAMSHIDI, A. A.; KOMBÉ, A. Inhibition of prostaglandin F_{2α} synthesis and oxytocin receptor by progesterone antagonists in bovine endometrial cells in vitro. **Steroids**, v. 71, n. 9, p. 785–791, 1 set. 2006.
- GONZÁLEZ, F. H. D. **Introdução a Endocrinologia Reprodutiva Veterinária**. Porto Alegre: UFRGS, 2002. 145 p.
- GORDON, I. **Laboratory production of cattle embryos**. Wallingford, UK: CAB International, 1994. 640 p.
- GREEN, M.P; HUNTER, M. G; MANN, G. E. Relationships between maternal hormone secretion and embryo development on day 5 of pregnancy in dairy cows. **Animal Reproduction**, v. 88, p. 179 – 189, 2005.
- GROSS, T. S; THATCHER, W. W; HANSEN, P. J; JOHNSON, J. W; HELMER, S. D. Presence of an intracellular endometrial inhibitor of prostaglandin synthesis during early pregnancy in the cow. **Prostaglandins** 1988; 35: 359-387.
- GRUNERT, E; BIRGEL, E. H; VALE, W. G; JUNIOR, H. B. **Patologia e clínica da reprodução dos animais domésticos – Ginecologia**. 1. ed. São Paulo: Varela, 2005. P. 468 – 470.
- GUMEN, A. et al. Effect of presynchronization strategy before Ovsynch on fertility at first service in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v. 78, n. 8, p. 1830–1838, 1 nov. 2012.
- GUPTA, S.; GUPTA, H. K.; SONI, J. Effect of Vitamin E and selenium supplementation on concentrations of plasma cortisol and erythrocyte lipid peroxides and the incidence of retained fetal membranes in crossbred dairy cattle. **Theriogenology**, v. 64, n. 6, p. 1273–1286, 1 out. 2005.
- HAEGER, J.-D.; HAMBRUCH, N.; PFARRER, C. The bovine placenta in vivo and in vitro. **Theriogenology**, v. 86, n. 1, p. 306-312, jul. 2016.
- HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Reproduction in Farm Animals**. 7th ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 2004. 513 p.
- HANSEL, W; HICKEY, G. J. Early pregnancy signals in domestic animals. *Ann. N.Y. Acad. Sci*, v. 541, p. 472 – 484, 1988.

- HANSEN, P. J. Interactions between the immune system and the bovine conceptus. **Theriogenology**, v. 47, p. 121 – 130, 1997.
- HANSEN, P. J. Rescue of the corpus luteum from luteolysis by bovine trophoblast protein 1: an example of maternal recognition of pregnancy. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 3, p. 42-65, 1991.
- HELMER, S. D; GROSS, T. S; NEWTON, G. R; HANSEN, P.J; THATCHER, W. W. Bovine trophoblast protein-I complex alters endometrial protein and prostaglandin secretion and induces an intracellular inhibition of prostaglandin synthesis in vitro. **J Reprod Fertil** 1989; 87: 421-430.
- HEYMAN, Y; CHAVATTE-PALMER, P; LEBOURHIS, D. et al. Frequency and occurrence of late-gestation losses from cattle cloned embryos. **Biol. Reprod.** v. 66, p. 6-13, 2002.
- HIRAKO, M.; TAKAHASHI, T.; DOMEKI, I. Peripheral changes in estrone sulfate concentration during the first trimester of gestation in cattle: comparison with unconjugated estrogens and relationship to fetal number. **Theriogenology**, v. 57, n. 7, p. 1939–1947, 15 abr. 2002.
- HUANG, W. et al. Interactions of the bovine placental lactogen and prolactin receptor genes are associated with fertility traits in cattle. **Animal**, v. 3, n. 12, p. 1743–1745, 1 jan. 2009.
- IBGE. **Produção da Pecuária Municipal**. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2023. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html#:~:text=Em%202021%2C%20o%20rebanho%20bovino,224%2C6%20milh%C3%B5es%20de%20cabe%C3%A7as>. Acesso em: 22 jan. 2025.
- INSKEEP, E. K. Factors that effect embryo survival in the cow: application of technology to improve calf crop. In: **Factors Affecting Calf Crop: Biotechnology of Reproduction**. 1. ed. CRC Press, 2002. P. 255 – 279.
- IRELAND, J. J; MIHM, M; AUSTIN, E. et al. Historical perspective of turnover of dominant follicles during the bovine estrous cycle: key concepts, studies, advancements and terms. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p.1648-1658, 2000.
- JACOBS, H. S; CONWAY, G. S. Leptin, polycystic ovaries and polycystic ovary syndrome. Review. **Hum. Reprod. Update**. v. 5, n. 2, p. 166-171, 1999.

- JOHNSON, G. A; BURGHARDT, F. W; SPENCER, T. E. et al. Ovine osteopontin II. Osteopontin and $\alpha\beta 3$ integrin expression in the ovine uterus and conceptus during the peri-implantation period. **Biol Reprod**, v. 61, p. 892-899, 1999.
- JONKER, F. H. Fetal death: comparative aspects in large domestic animals. **Anim. Reprod. Sci.** v. 82-83, p. 415-430, 2004.
- KARSCH, F. J; BOWEN, J. M; CARATY, A. et al. Gonadotropin-releasing hormone requirements for ovulation. **Biol. Reprod.** v. 56, n. 2, p. 303-309, 1997.
- KERBLER, T. L; BUHR, M. M; JORDAN, L. T. et al. Relationships between maternal plasma progesterone concentration and interferon-tau synthesis by the conceptus in cattle. **Theriogenology**, v.47, n. 3, p. 703-714, 1997.
- KINDAHL, H.; LINDELL, J. O.; EDQVIST, L. E. On the control of prostaglandin release during the bovine estrous cycle. Effects of progesterone implants. **Prostaglandins**, v. 18, n. 5, p. 813-820, 1 nov. 1979.
- KING, G.J; ATKINSON, B.A; ROBERTSON, H.A. Implantation and early placentation in domestic ungulates. **J Reprod Fertil** 1982; 31: 17-30.
- KLEIN, B. G. **Cunningham: tratado de fisiologia veterinária**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2021.
- KOHAN-GHADR, H. R. et al. Ultrasonographic and histological characterization of the placenta of somatic nuclear transfer-derived pregnancies in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 69, n. 2, p. 218-230, 15 jan. 2008.
- KOJIMA, F. N. The Estrous Cycle in Cattle: Physiology, Endocrinology, and Follicular Waves. **The Professional Animal Scientist**, v. 19, n. 2, p. 83-95, 1 abr. 2003.
- KORDTS, E.; JÖCHLE, W. Induced parturition in dairy cattle: A comparison of a corticoid (flumethasone) and a prostaglandin (PGF 2α) in different age groups. **Theriogenology**, v. 3, n. 5, p. 171-178, 1 maio 1975.
- LANG, L. I. et al. The effects and mechanisms of heat stress on mammalian oocyte and embryo development. **Journal of Thermal Biology**, v. 124, p. 103927, 1 ago. 2024.
- LANNA, D. P. D. et al. Effect of Somatotropin Treatment on Lipogenesis, Lipolysis, and Related Cellular Mechanisms in Adipose Tissue of Lactating Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 78, n. 8, p. 1703-1712, 1 ago. 1995.
- LAWRENCE, T. L. J; FOWLER, V. R. Gametes, fertilization and embryonic growth. In: Lawrence, T. L. J; Fowler, V. R. **Growth of farm animals**. Cambridge: University Press. Cap. 5, p. 150-178, 1997.

- LEEMASTER, J. W; SEALS, R. C; HOPKINS, F. M. et al. Effects of administration of oxytocin on embryonic survival in progesterone supplemented cattle. **Prostaglandins**, v. 57, p. 259-268, 1999.
- LI, X. et al. PPP2R2A affects embryonic implantation by regulating the proliferation and apoptosis of Hu sheep endometrial stromal cells. **Theriogenology**, v. 176, p. 149–162, 1 dez. 2021.
- LITWACK, G. Eicosanoids. **Hormones**, p. 195–212, 1 jan. 2022a.
- LITWACK, G. Hormones: an introduction. **Hormones**, p. 1–27, 1 jan. 2022b.
- LIU, Z; SIMADA, M; RICHARDS, J. S. The involvement of the Toll-like receptor family in ovulation. **J. Assit. Reprod. Genet.** v. 25, p. 223-228, 2008.
- LÓPEZ-GATIUS, F; SANTOLARIA, P; YÁNIZ, J; RUTLAND, J; LÓPEZ-BÉJAR, M. Factors affecting pregnancy loss from gestation day 38 a 90 in lactating dairy cows from a single herd. **Anim. Reprod. Sci.** v. 57, p. 1251-1261, 2002.
- LUKASZEWSKA, J; HANSEL, W. Corpus luteum maintenance during early pregnancy in the cow. **J. Reprod. Fertil.** v. 59, p.485-493, 1980.
- MADUREIRA, A. M. L. et al. Association between genomic daughter pregnancy rates and reproductive parameters in Holstein dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 105, n. 6, p. 5534–5543, 1 jun. 2022.
- MANN, G. E; LAMMING, G. E. The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. **Reprod. Domest. Anim.** v. 43, p.269-274, 1999.
- MANN, G. E; LAMMING, G. E. The role of sub-optimal preovulatory estradiol secretion in the etiology of premature luteolysis during the short oestrus cycle in the cow. **Anim. Reprod. Sci.** v. 64, p. 171-180, 2000.
- MARTI, A; BERRAONDO, B; MARTINEZ, J. A. Leptin: physiological actions. **J. Physiol. Biochem.** v. 55, p. 43-50, 1999.
- MC LAREN A. Fertilization, cleavage and implantation. In: Hafez E.S.E, ed. **Reproduction in Farm Animals**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1974.
- MCCRACKEN, J; SCHRAMM, W; OKULICZ, W. Hormone receptor control of pulsatile secretion of PGF₂ α from the ovine uterus during luteolysis and its abrogation in early pregnancy. **Animal Reproduction Science** 1984; 7: 31 -55.
- MCCRACKEN, J. A; CUSTER, E. E; LAMSA, J. C. Luteolysis: a neuroendocrine mediated event. **Physiol. Rev**, v. 79, p. 263-323, 1999.
- MCGUIRE, M. A. et al. Response of Somatomedins (IGF-I and IGF-II) in Lactating Cows to Variations in Dietary Energy and Protein and Treatment with

- Recombinant n-Methionyl Bovine Somatotropin,. **The Journal of Nutrition**, v. 122, n. 1, p. 128–136, 1 jan. 1992.
- MEIDAN, R.; BASAVARAJA, R. Interferon-Tau regulates a plethora of functions in the corpus luteum. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 78, p. 106671, 1 jan. 2022.
- MEMILI, E; FIRST, N. L. Zygotic and embryonic gene expression in cow: a review of timing and mechanism of early expression as compared with other species. **Zygote**, v. 8, p. 87-96, 2000.
- MERCADANTE, V. R. G.; DIAS, N. W.; TIMLIN, C. L.; PANCINI, S. Economic consequences of pregnancy loss in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 98, supl. 4, p. 124, 30 nov. 2020.
- MERCADANTE, V. R. G.; LAMB, G. C. Implementing Fixed-Time Artificial Insemination Programs in Beef Herds. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 40, n. 1, p. 141–156, 1 mar. 2024.
- MOORE, K; THATCHER, W. W. Major advances associated with reproduction in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 1254-1266, 2006.
- MOREIRA, F.; BADINGA, L.; BURNLEY, C.; THATCHER, W. W. Bovine somatotropin increases embryonic development in superovulated cows and improves post-transfer pregnancy rates when given to lactating recipient cows. **Theriogenology**, v. 57, n. 4, p. 1371-1387, 1 mar. 2002.
- MOTOMURA, K. et al. The effects of progesterone on immune cellular function at the maternal-fetal interface and in maternal circulation. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 229, p. 106254, 1 maio 2023.
- NISWENDER, G. D; DAVIES, T. L; GRIFFITH, R. J. et al. Judge, jury and executioner: the auto-regulation of the luteal function. **Soc. Reprod. Fertil. Suppl**, v. 64, p. 191-206, 2007.
- NISWENDER, G. D; JUENGEL, J. L; SILVA, P. J. et al. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. **Physiol. Rev**, v. 80, p. 1-29, 2000.
- NISWENDER, G. D; JUENGEL, J.L; MCGUIRE, W. J. et al. Luteal function the estrous cycle and early pregnancy. **Bio. Reprod**, v. 50, p. 239-247, 1994.
- NOAKES, D.E. **Fertility and Obstetrics in Cattle**; Blackwell Scientific Publications; 1º Edição; Oxford, UK, 1992.
- NORMAN, A. W.; HENRY, H. L. Posterior Pituitary Hormones. **Hormones**, p. 81–88, 1 jan. 2015a.

- NORMAN, A. W.; HENRY, H. L. The Hypothalamus and Anterior Pituitary. **Hormones**, p. 55–79, 1 jan. 2015b.
- NORMAN, A. W.; HENRY, H. L. Estrogens and Progestins. **Hormones**, p. 275–296, 1 jan. 2015c.
- OLIVEIRA, K. R. et al. Differential average daily gain of pregnant Holstein × Gyr dairy heifers causes placental adaptations to support fetal growth and development. **Journal of Dairy Science**, v. 106, n. 10, p. 6938–6950, 1 out. 2023.
- PAPAIOANNOU, V. E; EBERT, K. M. Comparative aspects of embryo manipulation in mammals. In: Rossant J, Pederson RA, eds. **Experimental Approaches to Mammalian Embryonic Development**. New York: Cambridge University Press, 1986.
- PASCOTTINI, O. B. et al. Perspectives in cattle reproduction for the next 20 years – A European context. **Theriogenology**, v. 233, p. 8–23, 1 fev. 2025.
- PATE, J. L. Luteolysis. **Reference Module in Biomedical Sciences**, 1 jan. 2024.
- PERRY, J.S. The mammalian fetal membranes. **J Reprod Fertil** 1981; 62: 321-335.
- PETER, G.G.J. **Obstetrícia Veterinária**. Elsevier Limited; 2º Edição; Cambridge UK, 2006.
- PETERS, M. W; PURSLEY, J. R. Timing of final GnRH of the Ovsynch protocols affects ovulatory follicle size, subsequent luteal function, and fertility in dairy cows. **Theriogenology**. v.60, p. 1197-1204, 2003.
- PUGLIESI, G.; REZENDE, R.G.; DA SILVA, J.B.; LOPES, E.; NISHIMURA, T.K.; BARUSELLI, P.S.; MADUREIRA, E.H.; BINELLI, M. Uso da ultrassonografia Doppler em programas de IATF e TETF em bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 41, n. 1, p. 140-150, 11 abr. 2017.
- RAFATI, N.; MEHRABANI-YEGANEH, H.; HANSON, T. E. Risk factors for abortion in dairy cows from commercial Holstein dairy herds in the Tehran region. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 96, n. 3–4, p. 170–178, 1 set. 2010.
- RAO, A. J.; RAMACHANDRAN, J. Growth Hormone and the Regulation of Lipolysis. **Growth Hormone and Related Proteins**, p. 43–60, 1 jan. 1977.
- RATZBURG, K. et al. Presynchronization with CIDR, with or without GnRH, prior to CO-Synch in beef heifers. **Theriogenology**, v. 146, p. 80–87, 1 abr. 2020.
- REECE, W. O. **Dukes/ Fisiologia dos Animais Domésticos**. 12th ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, 2006. 926 p.

- REESE, S. et al. Pregnancy loss in beef cattle: a meta-analysis. **Animal Reproduction Science**, v. 212, p. 106251, 2020.
- REVAH, I; BUTLER, W. R. Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocytes. **J. Reprod. Fertil.** v. 106, p. 39-47, 1996.
- REYNOLDS, L. P; REDMER, D. A. Growth and development of the corpus luteum – Review. **J. Reprod. Fertil.** v. 54, suppl, p. 188-191, 1999.
- RIAL, C. et al. Development and evaluation of a lateral flow-based portable optical system for determination of the pregnancy status of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 107, n. 10, p. 8642–8653, 1 out. 2024.
- RICHARDS, J. S; RUSSEL, D. L; YOSHIOKA, S. et al. Ovulation: new dimensions and new regulations of the inflammatory-like response. **Annu. Rev. Physiol.** v.64, p. 69-92, 2002.
- RICHARDS, J. S. Ovulation: new factors that prepare the oocyte for fertilization. **Mol. Cell. Endocrinol.** v. 234, n. 1-2, p. 75-79, 2005.
- RIZOS, D; GUTIÉRREZA-ÁDAN, D.L; PÉREZ-GARNELO, S. et al. Bovine embryo culture in the presence or absence of serum: implications of blastocyst development, cryotolerance and messenger RNA expression. **Bio Reprod**, v. 68, p.236 – 243, 2003.
- ROBINSON, R. S; HAMMOND, A. J; HUNTER, M.G. et al. The induction of a delayed post-ovulatory progesterone rise in dairy cows: a novel model. **Domest. Anim. Endocrinol.** v. 28, p. 285-295, 2005.
- ROBINSON, R. S; HAMMOND, A. J; WATHES, D.C. et al. Corpus luteum endometrium embryo interactions in the dairy cow: underlying mechanisms and clinical relevance. **Reprod. Domest. Anim.** v. 43, suppl. 2, p.104-112, 2008.
- ROBINSON, R. W; MANN, G. E; LAMMING, G. E; WATHES, D. C. Expression of oxytocin, oestrogen and progesterone receptors in uterine biopsy samples throughout the oestrus cycle and pregnancy in cows. **Reproduction Sci.** v. 122, p. 965-979, 2001.
- ROSA, T. D. da S. Expressão do complexo de histocompatibilidade principal na espermatogênese bovina. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) – Centro de Ciências Agrárias, **Universidade Estadual do Maranhão**, São Luís, 2016.

- SÁ FILHO, M. F. et al. Resynchronization with unknown pregnancy status using progestin-based timed artificial insemination protocol in beef cattle. **Theriogenology**, v. 81, n. 2, p. 284–290, 15 jan. 2014.
- SAMUELSON, D. A. Tratado de histologia veterinária. 1. ed. Rio de Janeiro: **Elsevier**, 2007.
- SANTOS, J. E. P; THATCHER, W. W; CHEBEL, R. C. et al. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. **Anim. Reprod. Sci**, v. 82-83, p. 513-535, 2004a.
- SANTOS, J. E. P. *et al.* Effect of bST and reproductive management on reproductive performance of Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 4, p. 868-881, Apr. 2004b.
- SCHAMS, D. et al. GROWTH HORMONE (bST), INSULIN, INSULIN LIKE GROWTH FACTOR I (IGF-I) AND IGF-I BINDING PROTEINS DURING LACTATION IN CATTLE. **Biotechnology in Growth Regulation**, p. 255, 1 jan. 1989.
- SCHATTEN, H; SCHATTEN, G, eds. The Molecular Biology of Fertilization. New York: **Academic Press**, 1989.
- SCHNEIDER, H. Placental transport function. **J Reprod Fertil** 1991; 3:345.
- SENGER, P.L. **Pathways to pregnancy and parturition**. 2 ed. Pullman, USA: Current Conceptions, 2003. 368 p.
- SILKE, V; DISKIN, M. G, D. A. et al. Extent, pattern and factors associated with late embryonic losses in dairy cattle. **Anim. Reprod. Sci**. v. 71, p. 1-12, 2002.
- SILVA, L. A. C. L. et al. Presynchronization by induction of a largest follicle using a progesterone device in GnRH-based-ovulation synchronization protocol in crossbred dairy cows. **Theriogenology**, v. 119, p. 233–237, 1 out. 2018.
- SPENCER, T.E; BECKER, W.C; GEORGE, P; MIRANDO, M.A; OGLE, T.F; BAZER, F.W. Ovine interferon-tau inhibits estrogen receptor up-regulation and estrogen-induced luteolysis in cyclic ewes. **Endocrinology** 1995; 136: 4932 – 4944.
- SPENCER, T.E; JOHNSON, G. A; BAZER, F. W. et al. Pregnancy recognition and conceptus implantation in domestic ruminants: roles of progesterone, interferons and endogenous retroviruses. **Repro. Fertil. Dev**, v. 19, p. 65-78, 2007.
- SPINOSA, H. S; GÓRNIK, S. L; BERNARDI, M. M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2023.

- SREENAN, J. M; DISKIN, M. G; MORRIS, D. G. Embryo survival rate in cattle: a major limitation to the achievement of high fertility. **British Society of Animal Science Occasional Publication**. v. 1, n. 27, p. 93-104, 2001.
- STAPLES, C.R; BURKE, J.M; THATCHER, W.W. Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. **Journal of Dairy Science** 1998; 81: 856-871.
- STEVENSON, J. S. et al. Dose frequency of prostaglandin F₂ α administration to dairy cows exposed to presynchronization and either 5- or 7-day Ovsynch program durations: Ovulatory and luteolytic risks. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 10, p. 9575–9590, 1 out. 2018.
- STOJKOVIC, M; BUTTNER, M; ZAKHARTCHENKO, V. et al. Secretion of interferon-tau by bovine embryos in long term culture: comparison of in vivo derived, in vitro produced, nuclear transfer and demi embryo. **Animal Reproduction Science**. v. 55, p. 151 – 162, 1999.
- TAKAGI, M; FUJIMOTO, S; OHTANI, M. et al. Bovine retained placenta: hormonal concentrations in fetal and maternal placenta. **Placenta**. v. 23, p. 429-437, 2002.
- TAMMEN, I.; NICHOLAS, F. W. Genetic Defects in Cattle. **Encyclopedia of Dairy Sciences: Third edition**, v. 1, p. 626–636, 1 jan. 2022.
- TAVERNE, M. A; BREUKELMAN, S. P; PERENYL, Z. et al. The monitoring of bovine pregnancies derived from transfer of in vitro produced embryos. **Reprod. Nutr. Dev.** v. 42, p. 613-624, 2002.
- TERRY, S. A. et al. Strategies to improve the efficiency of beef cattle production. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 101, n. 1, p. 1–19, 18 set. 2020.
- THATCHER, W.W; MEYER, M.D; DANET-DESNOYERS, G. Maternal recognition of pregnancy. **J Reprod Fertil** 1995; 49: 15-28.
- THURMOND, M. C; PICANSO, M.C; JAMESON, C. M. CM. Considerations for use of descriptive epidemiology to investigate fetal losses in dairy cows. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** v. 197, p. 1305-1312, 1990.
- TINNING, H. et al. Review: Endometrial function in pregnancy establishment in cattle. **animal**, v. 17, p. 100751, 1 maio 2023.
- VAN SAUN, R. J.; HERDT, T. H.; STOWE, H. D. Maternal and Fetal Vitamin E Concentrations and Selenium-Vitamin E Interrelationships in Dairy Cattle. **The Journal of Nutrition**, v. 119, n. 8, p. 1156–1164, 1 ago. 1989.

- WATHES, D.C; TAYLOR, V. J; CHENG, Z. et al. Follicle growth, corpus luteum function and their effect on embryo development in postpartum dairy cows. **Reproduction**, v. 61, suppl., p. 219-237, 2003.
- WEBB, R; ARMSTRONG, D. G. Control of ovarian function: effect of local interaction and environmental influences on follicular turnover in cattle: a review. **Livest. Prod. Sci**, v. 53, n. 2, p. 95-112, 1998.
- WILLADSEN, S.M; JANZEN, R.E; MC ALISTER, J.J; SHEA, B.F; HAMILTON, G; MCDERMAND, D. The viability of late morula and blastocysts produced by nuclear transplantation in cattle. **Theriogenology** 1991; 35:161-170.
- WILTBANK, M. C. Cell types and hormonal mechanisms associated with mid cycle corpus luteum function. **J. Anim. Sci.** v. 72, p. 1873-1883, 1994.
- WILTBANK, M. C. et al. Physiological and practical effects of progesterone on reproduction in dairy cattle. **Animal**, v. 8, n. SUPPL. 1, p. 70–81, 1 jan. 2014.
- WILTBANK, M. C. et al. Review: Maintenance of the ruminant corpus luteum during pregnancy: interferon-tau and beyond. **animal**, v. 17, p. 100827, 1 maio 2023.
- WITHERS, P. C.; COOPER, C. E. Animal Physiology. **Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences**, 1 jan. 2024.
- WRENZYCKI, C; HERMANN, D; LUCAS-HAHN, A. et al. Gene expression patterns in vitro produced and somatic nuclear transfer derived preimplantation bovine embryo: relationship to the large offspring syndrome? **Animal Reproduction Science**, v. 82-83, p. 593-603, 2004.
- WU, X. et al. Novel haplotypes responsible for prenatal death in Nordic Red and Danish Jersey cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 5, p. 4570–4578, 1 maio 2020.
- XIONG, T; TANG, W; LIU, S; ELE, Y; TANG, Z; LI, J. Both Juxtacrine and Paracrine Signaling Indispensable in Spermatogonial Stem Cell Cultures. **Journal of Reproduction and Contraception**, [S. l.], v. 21, n. 4, p. 193 - 202, 2010.
- YANAGIMACHI, R. Mechanisms of fertilization in mammals. In: **Fertilization and Embryonic Development in Vitro**. New York: Plenum Press, 1981; 81-187.
- ZERON, Y; OCHERETNY, A; KEDAR, O. et al. Seasonal changes in bovine fertility: relation to developmental competence of oocytes, membrane properties and fatty acid composition of follicles. **Reproduction**, v. 121, p. 447-454, 2001.
- ZHANG, D.; HEANEY, A. P. Regulation of POMC and ACTH secretion. **Reference Module in Biomedical Sciences**, 1 jan. 2024.

ZHANG, L. et al. Early pregnancy modulates the expression of interferon-stimulated genes, progesterone receptors, and progesterone-induced blocking factor in ovine duodenum. **Small Ruminant Research**, v. 237, p. 107323, 1 ago. 2024.

ARTIGO 1

Artigo redigido segundo as normas da revista *Theriogenology*, ISSN 0093-691X, classificada como A1 pelo QUALIS – CAPES 2022.

Relação entre a vascularização do folículo dominante e do corpo lúteo na concentração de progesterona e na taxa de prenhez de fêmeas Nelore de diferentes categorias submetidas a protocolos de IATF e ressincronização

RESUMO

As biotecnologias reprodutivas, como a IATF e a ressincronização, otimizam os índices zootécnicos de rebanhos bovinos de corte, melhorando a eficiência produtiva e reprodutiva. A ultrassonografia Doppler aprimora esse manejo ao permitir a predição precoce da prenhez, por meio da vascularização do folículo dominante (FD) e do corpo lúteo (CL). O estudo avaliou a influência da vascularização do folículo dominante e do corpo lúteo subsequente nos níveis séricos de progesterona e na taxa de prenhez aos 22 dias pós-IATF. Foram utilizadas 111 fêmeas Nelore divididas em novilhas superprecoces (n=14), novilhas precoces (n=48) e vacas (n=49). O protocolo reprodutivo incluiu a sincronização no dia -10, retirada do implante de progesterona no dia -2, IATF no dia 0 e ressincronização no dia 14. No 22º dia, foi realizado o diagnóstico gestacional (DG) mediante escore de vascularização do CL. O sangue dos animais foi coletado e processado para dosagem sérica de progesterona nos dias -2, 0, 14 e 22. Além disso, no dia -2, foi realizada a mensuração do diâmetro do FD e no dia da IATF, foram avaliados o diâmetro, a vascularização e a intensidade de vascularização do FD, além da detecção de cio. Houve diferença estatística na concentração de progesterona entre os dias do tratamento ($P < 0,01$). A vascularização do CL mostrou-se altamente acurada para diagnosticar a prenhez aos 22 dias, permitindo a modelagem da probabilidade de prenhez ($r^2 = 0,91$; $P < 0,01$). Expressão de cio no D0 foi correlacionada com o diâmetro do FD no D-2 ($r = 0,26$; $P < 0,01$) e D0 ($r = 0,23$; $P = 0,01$). A intensidade de vascularização do FD apresentou tendência de correlação com a taxa de prenhez aos 22 dias ($r = 0,18$; $P = 0,07$). A concentração de progesterona no D22 correlacionou-se fortemente com o diâmetro do CL ($r = 0,73$; $P < 0,01$) e com a taxa de prenhez aos 22 dias ($r = 0,74$; $P < 0,01$). Ademais, a vascularização do CL demonstrou forte correlação com a taxa de prenhez ($r = 0,95$; $P < 0,01$), o diâmetro do CL ($r = 0,86$; $P < 0,01$) e a concentração de P4 ($r = 0,71$; $P < 0,01$). Em conclusão, as avaliações do diâmetro e da vascularização de estruturas ovarianas,

como o folículo dominante e o corpo lúteo, se correlacionam e podem ser utilizadas para prever níveis séricos de progesterona e prenhez, sendo a vascularização do CL aos 22 dias pós IATF, o método mais acurado.

Palavras-chave: Cio; Ressincronização; Ultrassonografia Doppler; Progesterona; Bovinos de corte.

ABSTRACT

Reproductive biotechnologies, such as fixed-time artificial insemination (FTAI) and resynchronization, optimize the production indices of beef cattle herds, improving productive and reproductive efficiency. Doppler ultrasonography enhances this management by allowing early pregnancy prediction through the vascularization of the dominant follicle (DF) and the corpus luteum (CL). This study evaluated the influence of dominant follicle and subsequent corpus luteum vascularization on serum progesterone levels and pregnancy rates 22 days post-FTAI. A total of 111 Nelore females were used, divided into precocious heifers (n=14), heifers (n=48), and cows (n=49). The reproductive protocol included synchronization on day -10, progesterone implant removal on day -2, FTAI on day 0, and resynchronization on day 14. On day 22, pregnancy diagnosis (PD) was performed using a CL vascularization score. Blood samples were collected and processed to measure serum progesterone levels on days -2, 0, 14, and 22. Additionally, on day -2, DF diameter was measured, and on the day of FTAI, DF diameter, vascularization, and vascularization intensity were evaluated, along with estrus detection. A statistically significant difference in progesterone concentration was observed between treatment days ($P < 0.01$). CL vascularization was highly accurate for diagnosing pregnancy on day 22, allowing pregnancy probability modeling ($r^2 = 0.91$; $P < 0.01$). Expression of behavioral estrus on day 0 was correlated with both DF diameter on day -2 ($r = 0.26$; $P < 0.01$) and day 0 ($r = 0.23$; $P = 0.01$). Vascularization intensity of the DF tended to be correlated with pregnancy rate on day 22 ($r = 0.18$; $P = 0.07$). Progesterone concentration on day 22 was correlated with CL diameter ($r = 0.73$; $P < 0.01$) and pregnancy rate on day 22 ($r = 0.74$; $P < 0.01$). Furthermore, CL vascularization demonstrated a correlation with pregnancy rate ($r = 0.95$; $P < 0.01$), CL diameter ($r = 0.86$; $P < 0.01$), and P4 concentration ($r = 0.71$; $P < 0.01$). In conclusion, the evaluation of the diameter and vascularization of ovarian structures, such as the dominant follicle and corpus luteum, were correlated and can be used to predict serum progesterone levels

and pregnancy. Vascularization of the CL on day 22 post-FTAI proved to be the most accurate method.

Keywords: Estrus; Resynchronization; Doppler ultrasonography; Progesterone; Beef cattle.

1. INTRODUÇÃO

Os protocolos de IATF são ferramentas reprodutivas utilizadas para reduzir o intervalo entreaios e evitar a necessidade da detecção do estro, intensificando o manejo reprodutivo e conseqüentemente melhorando os índices zootécnicos da propriedade [1], [2], [3]. Essa técnica consiste na sincronização dos animais para que todos sejam inseminados em um momento pré-determinado, mimetizando o ciclo estral por meio do controle hormonal da dinâmica folicular [4],[5], [6].

Os protocolos de IATF têm duração média de 8 a 11 dias, sendo estruturado em 3 etapas principais: (1) Sincronização do desenvolvimento folicular, utilizando a associação de hormônios como progesterona e estradiol para inibir a secreção hipotalâmica de GnRH, reduzindo os níveis de LH e FSH, levando à atresia dos folículos dependentes de gonadotrofinas e à emergência de uma nova onda, simulando os eventos do metaestro e diestro [7], [8], [9]. (2) Luteólise e desenvolvimento folicular final, que ocorre geralmente no dia da retirada do dispositivo de progesterona com a administração de análogos da PGF_{2α}, que causam vasoconstrição da artéria ovariana, levando à regressão do CL [10], [11], [12], [13]. Simultaneamente, o desenvolvimento folicular final é estimulado pela aplicação do eCG, que promove a síntese de andrógenos pelas células da teca interna e a hipertrofia das células da granulosa, aumentando a produção de estradiol, mimetizando o proestro [14], [15]. (3) Indução do cio e da ovulação, utilizando os análogos do estrógeno, sendo o mais utilizado o cipionato de estradiol, aplicado também no dia da retirada do dispositivo de progesterona, intensificando a concentração de estradiol que é responsável por induzir o comportamento de cio e o pico pré-ovulatório de LH [16], [17], [18]. Alternativamente, os análogos do GnRH podem ser administrados no dia da inseminação artificial para induzir o pico pré-ovulatório de LH e sincronizar a ovulação, simulando os eventos do proestro e estro [19], [20].

A ressincronização é uma estratégia reprodutiva utilizada para reduzir o intervalo entre inseminações, sendo amplamente aplicada em sistema de criação de bovinos de corte durante a estação reprodutiva [21], [22]. A ressincronização precoce e superprecoce encurtam a duração da estação de monta, aumentando a taxa de prenhez e garantindo que

um maior número de bezerros possa nascer no final da estação seca e início da estação chuvosa. Esse período é estrategicamente favorável, uma vez que há menor incidência de onfalites e miíases, além de maior de disponibilidade de alimento, otimizando potencial produtivo dos bezerros [23], [24].

Além dos benefícios zootécnicos, a ressincronização contribui para a padronização dos lotes, facilitando o manejo operacional, nutricional, sanitário e reprodutivo, além de otimizar a comercialização dos animais [25], [26], [27]. O protocolo consiste na sincronização dos animais por meio da associação de progesterona e estradiol iniciada oito dias antes do DG, permitindo que a remoção do dispositivo de liberação de progesterona coincida com o DG [28], [29]. Esse manejo é realizado em todas as fêmeas, sendo que em vacas vazias o protocolo segue com as mesmas etapas da IATF (luteólise e indução do cio e da ovulação), resultando na inseminação dois dias após o DG [30].

A ultrassonografia Doppler, é uma ferramenta utilizada para avaliar a vascularização em determinados órgãos [31], [32], [28]. Na reprodução animal, sua principal aplicação é a análise da vascularização do CL, sendo empregada como método presuntivo da detecção precoce da prenhez. Essa técnica permite avaliar diretamente a viabilidade do CL e, indiretamente, sua capacidade de produção de progesterona [33], [34].

Através dessa técnica é possível antecipar o DG, podendo ser realizado 21 a 22 dias pós IA ou cobertura, reduzindo assim o intervalo entre inseminações/coberturas, impactando positivamente no intervalo entre partos [35], [36]. No entanto, trata-se de um diagnóstico presuntivo, com alta acurácia para identificar vacas vazias, necessitando da reavaliação dos animais 30 dias após a IATF, através da ultrassonografia modo B para confirmação da gestação e visualização do embrião [37], [34], [38].

Outra aplicação da ultrassonografia Doppler na reprodução é a avaliação da vascularização do FD (FD), permitindo a mensuração da porcentagem da borda vascularizada e a intensidade do fluxo sanguíneo [39]. Esses parâmetros podem ser utilizados como indicativos presuntivos da ovulação e da qualidade do futuro CL [40]. A qualidade do FD e, conseqüentemente do CL, influencia diretamente a produção de progesterona, hormônio responsável pela manutenção da gestação. Dessa forma, a avaliação da qualidade folicular e luteal pode contribuir para a estimativa da taxa de prenhez em bovinos [41].

Nesse sentido, os objetivos do presente estudo foram: (1) avaliar a variação da concentração de progesterona ao longo do período experimental e sua relação com a taxa de prenhez; (2) analisar a influência da vascularização do CL na taxa de prenhez aos 22

dias pós-IATF; e (3) correlacionar a vascularização do FD no momento da IATF com a taxa de prenhez. As hipóteses consideradas foram que: (1) a vascularização do FD no momento da IATF está positivamente correlacionada com a taxa de prenhez; (2) a maior vascularização do CL está associada a uma maior taxa de prenhez aos 22 dias pós-IATF; e (3) a variação na concentração de progesterona ao longo do período experimental influencia diretamente a taxa de prenhez, com níveis mais altos favorecendo melhores resultados reprodutivos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Aspectos éticos do estudo

O estudo foi realizado em conformidade com as normas estabelecidas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e recebeu aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais de Produção da Universidade Federal de Viçosa (CEUAP-UFV), sob protocolo #36/2024.

2.2 Animais e local de pesquisa

A pesquisa foi conduzida na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão em Gado de Corte do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, localizada no campus Viçosa - MG (Latitude 20° 76' 70" S e Longitude 42° 87' 08" O), durante a estação reprodutiva de 2023/2024. Foram utilizadas 111 fêmeas bovinas púberes da raça Nelore (*Bos taurus indicus*), de distintas categorias: 14 novilhas superprecoces (13 e 14 meses), 48 novilhas precoces (24 e 26 meses) e 49 vacas (> 48 meses). Todos os animais foram mantidos a pasto (capim *Brachiaria decumbens*), receberam suplementação proteico/energético, e água e sal mineral ad libitum.

2.3 Avaliação do escore de condição corporal e pesagem

No dia da sincronização dos animais, foi realizada a pesagem através de balança analógica, bem como a avaliação do escore de condição corporal (ECC). A análise foi realizada por um único avaliador, sendo que o método utilizado possui uma escala de 1 a 9 [42], sendo o 1 um animal muito magro e o 9 um animal muito gordo.

2.4 Protocolo de Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) utilizado

Todas as vacas foram submetidas ao protocolo hormonal adaptado de Maturana Filho (2024) [43] e descrito na figura 1, onde o dia 0 foi definido como o dia da IATF. No dia

-10, os animais receberam um dispositivo intravaginal contendo 0,5g de progesterona (Primer monodose®, Agener União Saúde Animal), administração intramuscular de 2 mg de benzoato de estradiol (Ric-Be®, Agener União Saúde Animal) e 0,526 mg de cloprostenol sódico (Estron®, Agener União Saúde Animal). No dia -2, os dispositivos foram removidos e as vacas foram tratadas com injeção intramuscular de 0,526 mg de cloprostenol sódico (Estron®, Agener União Saúde Animal), eCG (200 UI para novilhas e 300 UI para vacas) (Novormon 5000®, Zoetis) e 1 mg de cipionato de estradiol (Cipiotec®, Agener União Saúde Animal). No dia 0, ou seja, 48 horas após a retirada do dispositivo intravaginal de progesterona, foi realizada a IATF. Utilizou-se sêmen de 6 touros Nelore para a IATF, selecionados de acordo com o planejamento genético da propriedade, focando na complementariedade de características. O sêmen foi proveniente de central certificada (ABS Global), que realiza rigorosos testes de qualidade seminal e controle microbiológico, garantindo sua adequação para a IATF.

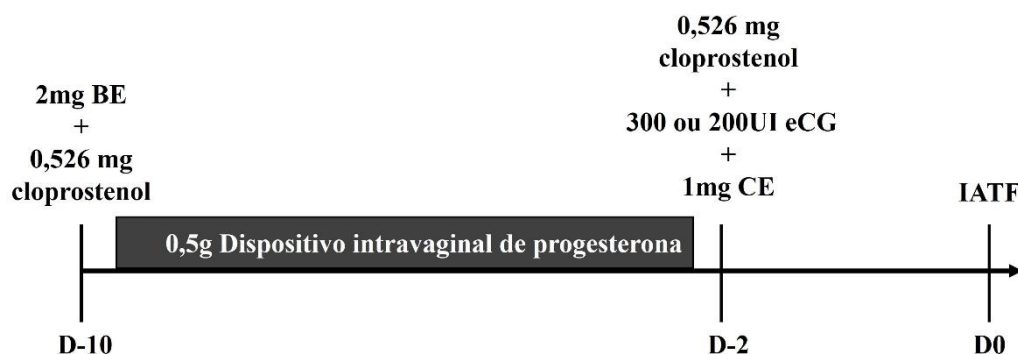


Figura 1. Esquema do protocolo de Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) adotado no estudo. No dia -10, os animais receberam um implante intravaginal contendo 0,5g de progesterona e 2 mg de benzoato de estradiol (BE). No dia -2, os dispositivos foram removidos e as vacas receberam 0,526 mg de cloprostenol sódico, Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG) (200 UI para novilhas e 300 UI para vacas) e 1 mg de cipionato de estradiol (CE). No dia 0 foi realizada a IATF.

2.5 Identificação de cio

No dia -2, foi colocado na base da cauda um adesivo para identificação de cio (EstroTECT™ Rockway Inc., Spring Valley, WI, EUA). No dia 0, no momento da IATF, foram feitas observações para determinar a apresentação e intensidade do cio. A análise do adesivo foi então classificada em escores de 1 a 4, como descrito por Smith (2024)

[44], sendo exemplificado na figura 2. Apenas animais com escores 2 e 3 foram considerados em cio, ou seja, com mais de 50% da área do adesivo raspado.



Figura 2. Escore de expressão e intensidade do cio em bovinos, avaliado por meio do dispositivo EstroTECT. (A) Escore 1: 0 a 25% da área do dispositivo raspada. (B) Escore 2: 25 a 50% da área do dispositivo raspada. (C) Escore 3: 50 a 75% da área do dispositivo raspada. (D) Escore 4: 75 a 100% da área do dispositivo raspada. A extensão da remoção do revestimento do dispositivo indica a intensidade da atividade de monta, auxiliando na identificação do cio.

2.6 Protocolo de ressincronização

Quatorze dias após a IATF, todas as fêmeas foram submetidas a um protocolo de ressincronização (Resynch), adaptado de Sá Filho (2014) [45] e descrito na figura 3. O protocolo consistiu na inserção de um dispositivo intravaginal contendo 1g de progesterona (Primer®, Agener União Saúde Animal) e administração intramuscular de 1 mg de benzoato de estradiol (Ric-Be®, Agener União Saúde Animal). No dia 22 (8 dias após o início da ressincronização), foi realizado o DG através da ultrassonografia Doppler. As fêmeas não prenhes receberam por via intramuscular 0,526 mg de cloprostenol sódico, eCG (Novormon 5000®, Zoetis), sendo administrado 200 UI para novilhas e 300 UI para vacas, e 1 mg de cipionato de estradiol (Cipiotec®, Agener União Saúde Animal), no momento da retirada do dispositivo intravaginal, e a IATF foi realizado 48 horas depois.

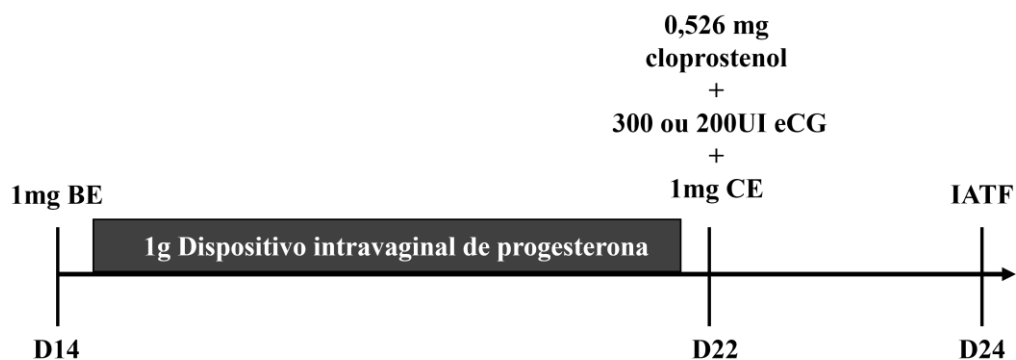


Figura 3. Esquema do protocolo de ressincronização adotado no estudo. No dia 14, os animais receberam um implante intravaginal contendo 1g de progesterona e 1 mg de benzoato de estradiol (BE). No dia 22, as vacas com DG negativo tiveram os dispositivos intravaginais removidos e receberam 0,526 mg de cloprostenol sódico, (Gonadotrofina Coriônica Equina) eCG (200 UI para novilhas e 300 UI para vacas) e 1 mg de cipionato de estradiol (CE). No dia 24 foi realizada a Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF).

2.7 Avaliação ultrassonográfica

A avaliação ultrassonográfica foi realizada por via trasretal por meio do ultrassom Z5VET® (Mindray Medical 201 International Limited, Nanshan, Shenzhen, China) equipado com um transdutor linear (6–8 MHz), nos dias 0 e 8 do protocolo de IATF para avaliar a presença de CL e diâmetro do folículo predominante. No momento da inseminação artificial foi mensurado o diâmetro do folículo pré-ovulatório, bem como sua intensidade de vascularização e área da borda vascularizada. A intensidade de vascularização foi dividida em escore 0 (baixa intensidade) e 1 (alta intensidade). A porcentagem da área vascularizada foi avaliada de forma subjetiva, conforme o método descrito por Tarso (2016) [46] e ilustrado na figura 4. As análises foram realizadas em duplo cego por dois avaliadores distintos, sem conhecimento prévio sobre o grupo ao qual cada animal pertencia.

No dia 22 após a IATF, foi realizado o DG superprecoce, utilizando a ultrassonografia Doppler para avaliação da vascularização do CL, como descrito por Pugliesi (2017) [47], onde as vacas possivelmente prenhes apresentaram escores entre 2 e 4 (>25% da área do CL vascularizada) e as vacas consideradas vazias apresentaram escores entre 0 e 1 (≤25% da área do CL vascularizada), sendo exemplificado na figura 5. Simultaneamente foi realizada a mensuração do diâmetro e volume do CL. Trinta dias após a IATF, foi

realizado o DG em todas as vacas consideradas possivelmente prenhes, utilizando a ultrassonografia modo brilho, sendo considerado positivo quando observada a presença do embrião vivo e da vesícula embrionária. O cronograma experimental está descrito na figura 6.

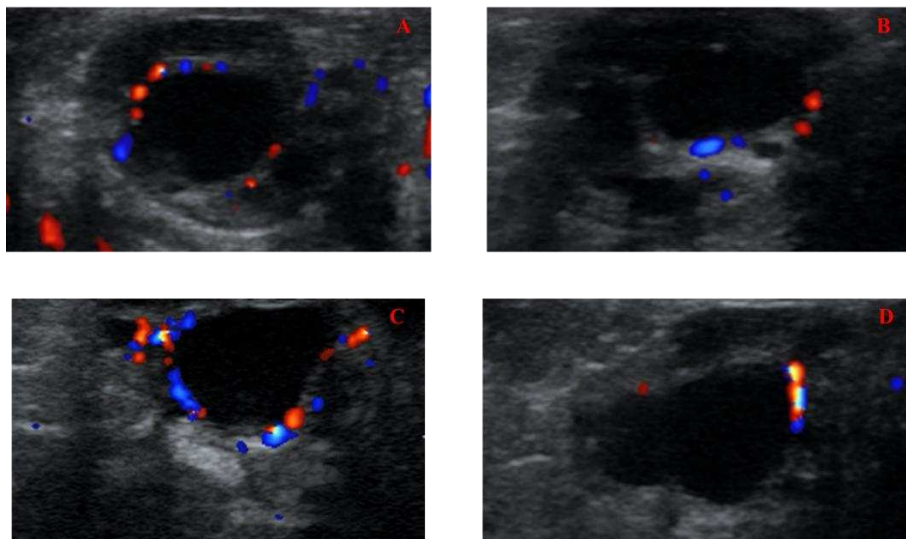


Figura 4. Representação da vascularização do folículo pré-ovulatório avaliados através da ultrassonografia Doppler. (A) Folículo com 38% da borda vascularizada e intensidade de vascularização 0. (B) Folículo com 10% da borda vascularizada e intensidade de vascularização 0. (C) Folículo com 68% da borda vascularizada e intensidade de vascularização 1. (D) Folículo com 16,5% da borda vascularizada e intensidade de vascularização 1. A avaliação levou em consideração a área e a intensidade de vascularização apenas da borda do folículo, com um limite de detecção de 0,05 m/s.

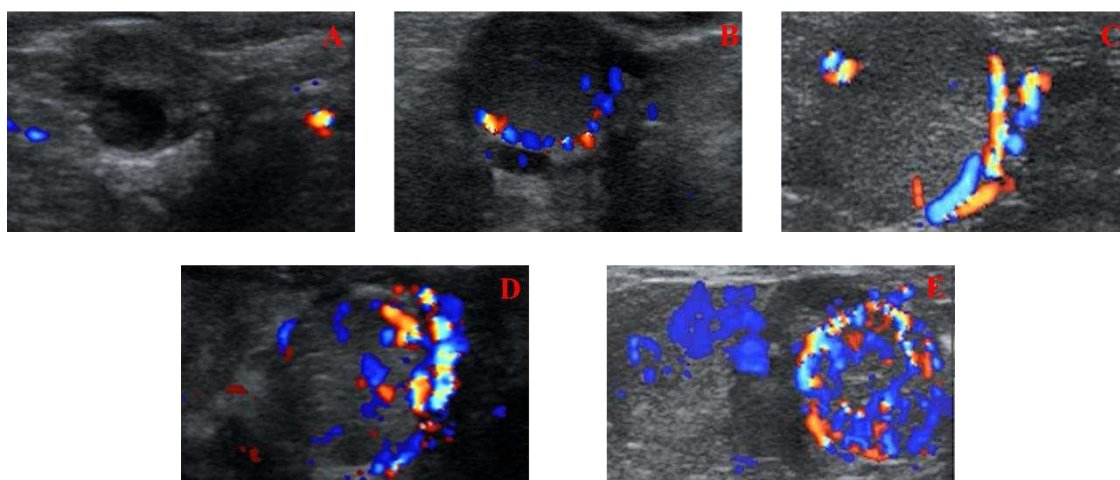


Figura 5. Avaliação da vascularização do CL através da ultrassonografia Doppler. (A) Escore 0 = 0% da área vascularizada. (B) Escore 1 = 1 a 25% da área vascularizada. (C)

Escore 2 = 25 a 50% da área vascularizada. (D) Escore 3 = 50 a 75% da área vascularizada. (E) Escore 4 = 75 a 100% da área vascularizada. A avaliação considerou tanto a área periférica quanto central do CL, com um limite de detecção de 0,05 m/s. Vacas classificadas com escores 0 e 1 foram consideradas vazias, enquanto escores 2, 3 e 4 indicam possível gestação.

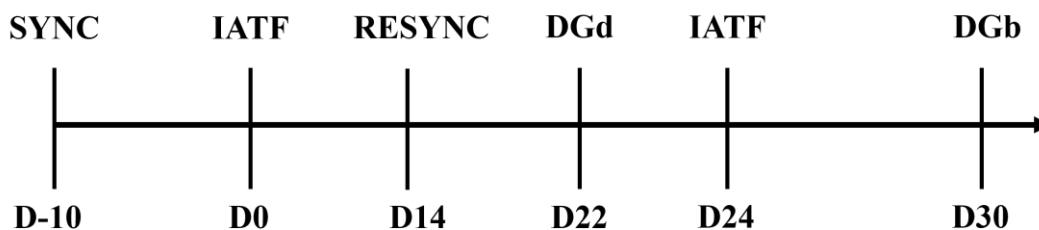


Figura 6. Esquema do cronograma experimental do estudo. O protocolo inclui a sincronização inicial (Sync), seguida da Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF). Após a IATF, foi realizada a ressincronização (Resync) para novo manejo reprodutivo. O DG foi realizado em dois momentos: o primeiro utilizando ultrassonografia Doppler (DGd) através da avaliação da vascularização do CL aos 22 dias, e ultrassonografia modo brilho (DGb) para confirmação da gestação, através da visualização do embrião e da vesícula embrionária aos 30 dias pós IATF.

2.8 Coleta de sangue

Nos dias -2 e 0 do protocolo de IATF, assim como no primeiro dia da Resynch e no DG através da ultrassonografia Doppler (14 e 22 dias pós IATF, respectivamente), foram realizadas coletas de sangue em todos os animais para avaliar os níveis séricos da progesterona. O sangue foi coletado através de punção da veia jugular externa em tubos de 10 mL sem anticoagulante (Vacutainer Systems®; Becton Dickinson, São Paulo, SP, Brasil). As amostras foram refrigeradas por 24 h e posteriormente centrifugadas a 2.200 x g por 10 min para extração de soro. O soro foi coletado com o auxílio de uma pipeta de Pasteur e transferido para microtubos tipo Eppendorf de 1,5 mL, totalizando 444 amostras. As amostras foram congeladas e armazenadas a -20°C até serem analisadas. O método utilizado para mensuração da concentração sérica de progesterona foi um kit comercial de progesterona RIA (Immunotech®, Praga, República Theca) no Laboratório de Dosagem Hormonal da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense (UFF, Niterói, Rio de Janeiro, Brasil). Os coeficientes de variância intra-ensaio e inter-ensaio foram de 11% e 4,8%, respectivamente, e a sensibilidade foi de 0,04 ng/mL.

2.9 Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando o software SAS System e o procedimento REG para ajuste do modelo de regressão linear. O objetivo foi avaliar os fatores que influenciam a variável taxa de prenhez aos 22 dias. Essa variável foi modelada em função do percentual de vascularização do CL, visando validar o método de DG superprecoce.

Para investigar a concentração de progesterona em função do dia experimental foi utilizado o procedimento Mixed para medidas repetidas. O modelo de efeitos mistos foi ajustado utilizando a estimativa dos parâmetros pelo método REML, considerando a estrutura de covariância para representar a variabilidade entre os indivíduos. Os efeitos fixos foram avaliados com base no erro padrão, e os graus de liberdade foram determinados pelo método Between-Within.

A análise de correlação foi conduzida utilizando o procedimento CORR para avaliar as relações entre o dia experimental e outras variáveis do estudo. O objetivo foi identificar possíveis associações entre as variáveis, sendo elas a concentração de progesterona, diâmetro do FD (FD), diâmetro do CL, percentual e escore de vascularização do CL, intensidade e porcentagem de vascularização do FD, expressão de cio, taxa de prenhez aos 22 dias. O método utilizado foi a correlação de Pearson, empregando o coeficiente de correlação (R) para determinar a força e o vetor das associações entre as variáveis.

Diferenças com $P \leq 0,05$ foram consideradas significativas e $0,05 < P \leq 0,10$ foram designadas como tendência para as variáveis avaliadas.

3. RESULTADOS

A Figura 7 apresenta a variação da concentração de progesterona (ng/mL) em função do dia experimental. Houve diferença estatística entre os dias avaliados e grupos experimentais ($p < 0,01$).

No D-2, a concentração de progesterona foi de $5,1 \pm 0,5$ ng/mL no grupo DG + e $5,8 \pm 0,6$ ng/mL no grupo DG-. No dia 0, houve uma redução para $1,4 \pm 0,2$ ng/mL e $1,3 \pm 0,2$ ng/mL, respectivamente. No D14, observou-se um aumento nas concentrações séricas do hormônio, atingindo $34,0 \pm 3,1$ ng/mL no grupo DG + e $28,3 \pm 3,7$ ng/mL no grupo DG-. Posteriormente, no D22, houve uma redução para $27,5 \pm 1,1$ ng/mL no grupo DG + e $7,5 \pm 1,3$ ng/mL no grupo DG-. Houve diferença estatística na concentração de progesterona em relação ao dia experimental, o grupo (DG+ e DG-) e a interação entre as variáveis ($p < 0,01$).

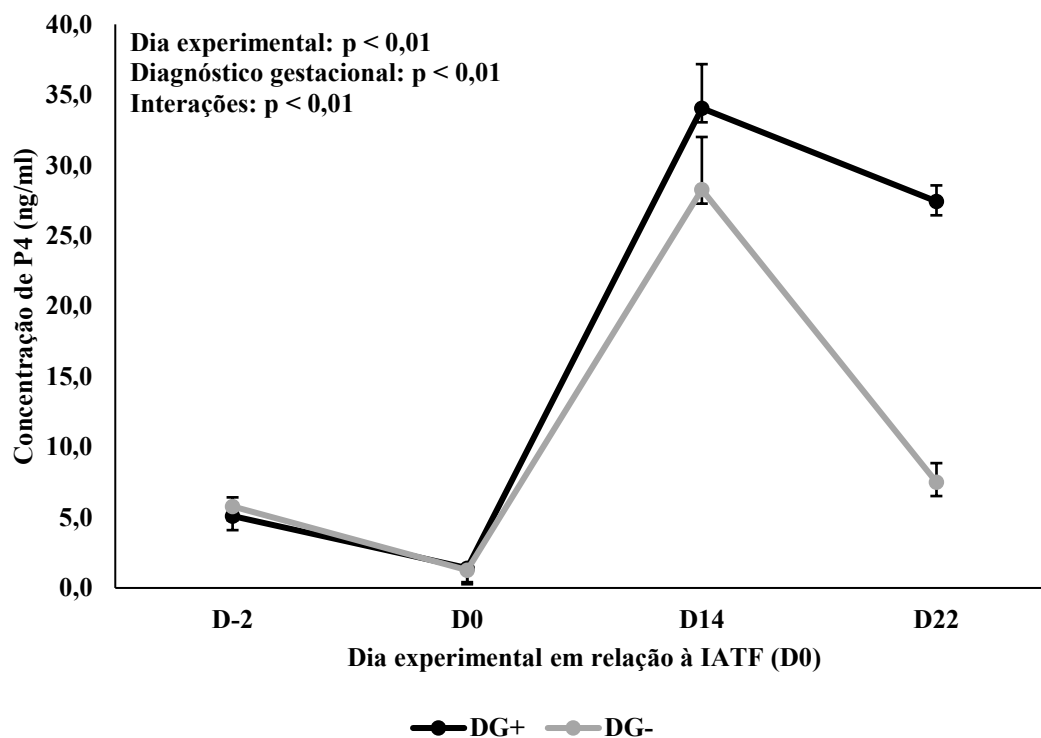


Figura 7. Concentração de progesterona (ng/mL) nos dias -2, 0, 14, 22 em função do diagnóstico gestacional. O grupo DG+ corresponde aos animais identificados como possivelmente gestantes por meio da vascularização do CL, enquanto o grupo DG- inclui os animais classificados como não gestantes.

A Figura 8 apresenta a relação entre a porcentagem da área vascularizada do CL no dia 22 e a probabilidade de prenhez. Observou-se uma relação positiva entre essas variáveis ($p < 0,05$), indicando que quanto maior a área vascularizada, maior a probabilidade de prenhez. A regressão linear apresentou um alto coeficiente de determinação ($R^2 = 0,91$), sugerindo uma forte associação entre as variáveis, validando o método proposto. Todas as vacas diagnosticadas como prenhes no D22 mantiveram gestantes no D30, sendo confirmadas pela visualização de embrião viável, demonstrando a alta acurácia da técnica utilizada. Foi estabelecido um ponto de corte para taxa de prenhez, considerando como referência os animais com mais de 25% da área do CL vascularizada.

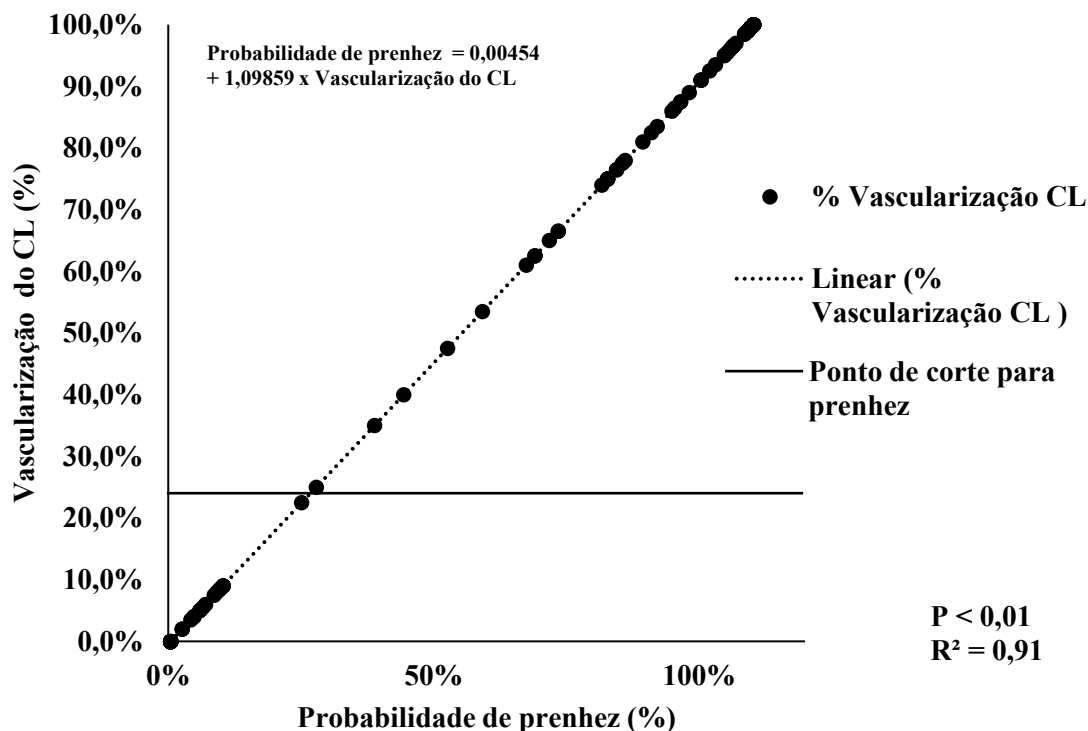


Figura 8. Relação entre a porcentagem da área vascularizada do CL e a probabilidade de prenhez aos 22 dias. A análise demonstra que existe correlação entre as duas variáveis ($p < 0,05$), com um coeficiente de determinação (r^2) de 0,91, indicando uma forte associação. A figura indica que quanto maior a vascularização do CL, maior a chance de prenhez, evidenciado pela linha de tendência (tracejada). As esferas representam área vascularizada predita do CL (%) de cada animal, enquanto a linha sólida representa o ponto de corte para prenhez.

Os resultados das análises de correlação são apresentados na tabela 1 e figura 9 (A, B, C e D). O diâmetro do FD no dia -2 apresentou uma correlação positiva com a expressão de cio no dia 0 ($R = 0,26$; $p < 0,01$), indicando uma associação significativa entre essas variáveis.

No dia 0, a intensidade de vascularização do FD apresentou correlação significativa com o percentual de vascularização do FD ($R = 0,50$; $p < 0,01$), e uma tendência para a correlação com a taxa de prenhez aos 22 ($R = 0,18$; $p = 0,07$). Além disso, o diâmetro do FD teve correlação significativa com a expressão de cio ($R = 0,23$; $p = 0,01$) e com a concentração de progesterona no D22 ($R = 0,21$; $p = 0,04$), enquanto o percentual de vascularização do FD apresentou uma tendência de correlação com a expressão de cio ($R = 0,17$; $p = 0,09$).

No dia 22, a concentração de progesterona apresentou correlação positiva com a taxa de prenhez aos 22 dias ($R = 0,74$; $p < 0,01$) e com o diâmetro do CL ($R = 0,73$; $p < 0,01$). Além disso, a taxa de prenhez aos 22 dias teve correlação com o diâmetro do CL ($R = 0,87$; $p < 0,01$) e com o escore de vascularização do CL ($R = 0,95$; $p < 0,01$). Por fim, o escore de vascularização do CL também apresentou alta correlação com o percentual de vascularização do CL ($R = 0,98$; $p < 0,01$).

Tabela 1. Correlação de Pearson entre o dia experimental (D-2, D0 e D22) e as variáveis 1 e 2. A tabela apresenta os valores de correlação (R) e seus respectivos p-valores. Valores de p menores que 0,05 indicam correlação significativa, enquanto valores de p entre 0,05 e 0,1 sugerem tendência. Valores R próximos de 0 indicam fraca ou nenhuma correlação, enquanto valores próximos de 1 ou -1 indicam uma forte correlação positiva ou negativa, respectivamente.

Dia	Variável 1	Variável 2	R	P-valor
D-2	Diâmetro FD	Expressão de cio no dia 0	0,26	<0,01
D0	Diâmetro FD	Concentração de P4 D22	0,21	0,04
D0	Intensidade vascularização FD	Taxa de prenhez 22 dias	0,18	0,07
D0	Intensidade vascularização FD	% Vascularização FD	0,50	<0,01
D0	Diâmetro FD	Expressão de cio no dia 0	0,23	0,01
D0	% Vascularização FD	Expressão de cio no dia 0	0,17	0,09
D22	Concentração de P4	Taxa de prenhez 22 dias	0,74	<0,01
D22	Concentração de P4	Diâmetro CL	0,73	<0,01
D22	Taxa de prenhez 22d	Diâmetro CL	0,87	<0,01
D22	Concentração de P4	Escore de vascularização CL	0,71	<0,01
D22	Taxa de prenhez 22 dias	Escore de vascularização CL	0,95	<0,01
D22	Diâmetro CL	Escore de vascularização CL	0,86	<0,01
D22	Escore de vascularização CL	% vascularização CL	0,98	<0,01

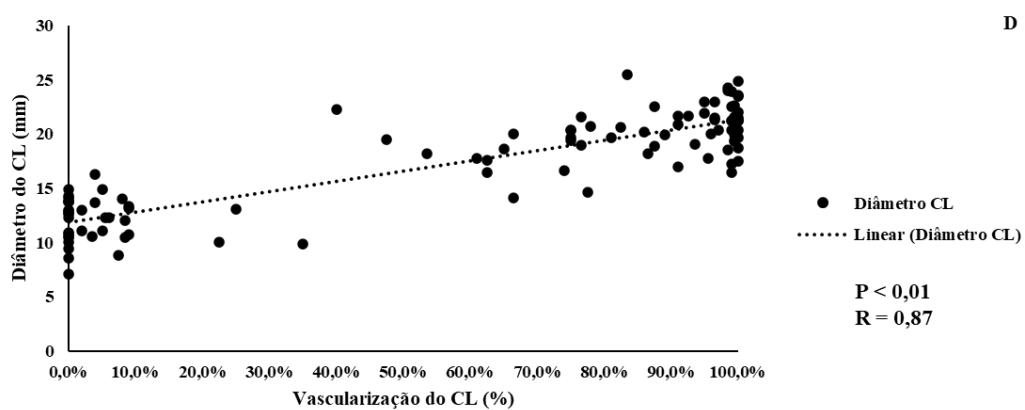
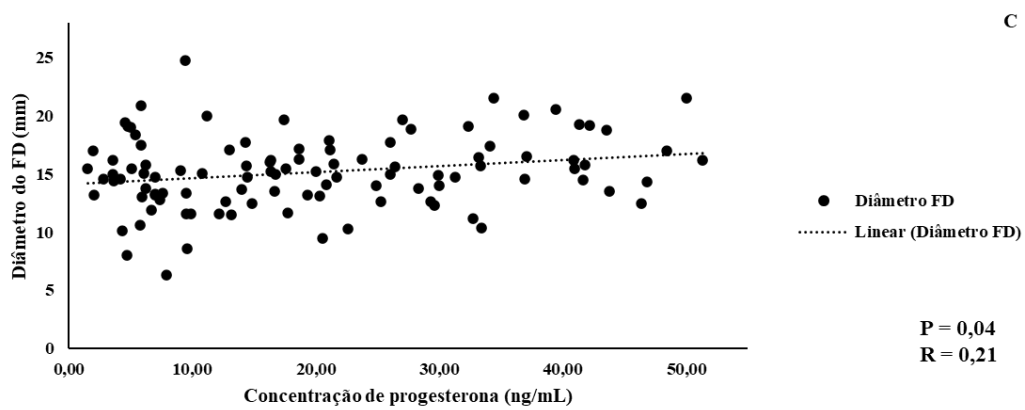
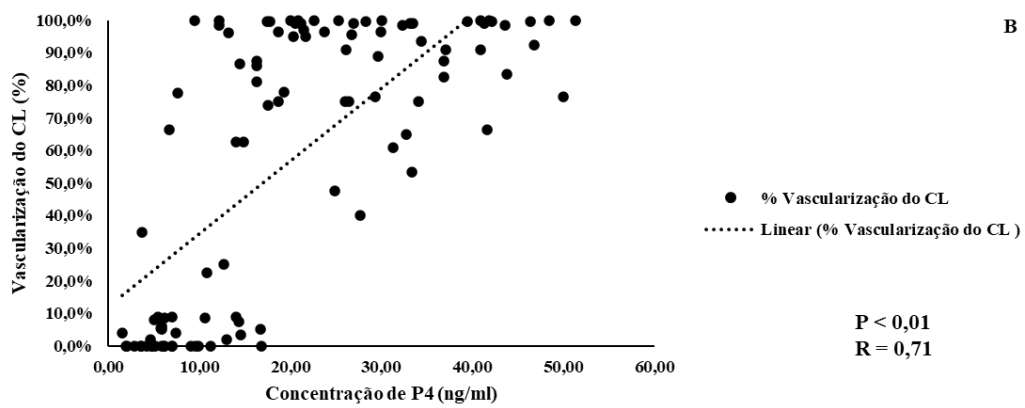
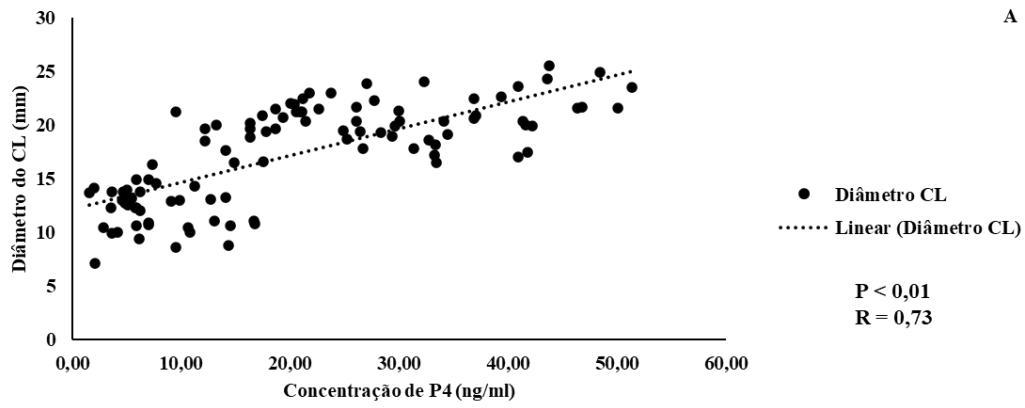


Figura 9. Gráficos de dispersão ilustrando a Correlação de Pearson entre variáveis coletadas no D22. (A) Correlação entre a concentração de progesterona (ng/mL) e o diâmetro do CL (mm), com $p < 0,01$ e $r = 0,73$. (B) Correlação entre a concentração de progesterona (ng/mL) e a área vascularizada do CL (%), com $p < 0,01$ e $r = 0,71$. (C) Correlação entre a concentração de progesterona no D22 (ng/mL) e o diâmetro do FD no D0 (mm), com $p = 0,04$ e $r = 0,21$. (D) Correlação entre a área vascularizada do CL (%) e o diâmetro do CL (mm), com $p < 0,01$ e $r = 0,87$. Nos gráficos, as esferas representam o diâmetro do CL (mm) em (A) e (D), e a área vascularizada do CL (%) em (B) e (C), enquanto a linha tracejada indica a tendência da relação entre as variáveis.

4. DISCUSSÃO

O presente estudo demonstrou que as estruturas ovarianas, especificamente o folículo dominante e o corpo lúteo, estão inter-relacionadas e exercem influência direta na produção de progesterona, desempenhando um papel fundamental na manutenção da gestação em vacas de corte.

As concentrações de progesterona mantiveram-se acima dos níveis fisiológicos em todos os momentos avaliados, porém a variação da concentração se comportou como o esperado, apresentando $5,1 \pm 0,5$ ng/mL no grupo DG + e $5,8 \pm 0,6$ ng/mL no grupo DG-, logo após a retirada do dispositivo intravaginal de progesterona, e uma redução para $1,4 \pm 0,2$ ng/mL e $1,3 \pm 0,2$ ng/mL, respectivamente, no dia 0, correspondente ao dia da IATF [48][49][50]. A concentração acima dos níveis basais encontrada no dia -2 deve-se principalmente à liberação de progesterona pelo dispositivo intravaginal, uma vez que a aplicação de PGF2 α no dia -10 do protocolo hormonal, promoveu a lise funcional e morfológica do CL da maioria dos animais [51], [52], [53], entretanto animais no início de diestro, até cinco dias após a ovulação, ainda não apresentavam receptores de PGF2 α nas células luteínicas, nesses animais o CL ainda estava ativo no dia -2. A manutenção dos níveis elevados de progesterona nesse período é essencial para mimetizar o diestro, uma vez que a P₄ é responsável por regular a maturação nuclear e citoplasmática do oócito [54], além de inibir a secreção de gonadotrofinas, possibilitando que um folículo mais competente se torne o dominante [55]. Além do controle da receptividade sexual, inibindo o pico de estrógeno, impedindo a manifestação de cio em fêmeas cujo FD ainda não esteja apto para ovulação [56]. O decréscimo na concentração hormonal no dia 0 ocorreu pela retirada do implante de progesterona e lise do CL das vacas que não responderam a primeira dose de PGF2 α no dia -10 do protocolo reprodutivo, caracterizando a transição

para o proestro do ciclo estral, fase em que ocorre redução de progesterona e aumento do estrógeno produzido pelo FD [57]. Essa inversão hormonal é importante para que haja um aumento na secreção das gonadotrofinas (FSH e LH), favorecendo o desenvolvimento final do FD [58], a maturação do oócito com reinício da meiose [59] e a proliferação das glândulas endometriais, preparando o ambiente uterino para a gestação [60]

Entre o D0 e o D14, observou-se um grande aumento na concentração de progesterona, atingindo $34 \pm 3,1$ ng/mL no grupo DG + e $28,3 \pm 3,7$ ng/mL no grupo DG-, resultado exclusivamente da produção endógena pelo CL, já que o dispositivo intravaginal de progesterona foi introduzido após a coleta de sangue. Os altos níveis de progesterona nesse período desempenham um papel importante no desenvolvimento embrionário inicial, já que ela reduz a contratilidade e tonicidade uterina [61], facilitando a permanência e implantação do conceito no útero. Além disso, a progesterona induz a secreção de proteínas pelas glândulas endometriais, especialmente a proteína do leite uterino (UTMP)[62] e a osteopontina (OPN)[63], essenciais para a nutrição e fixação do conceito no endométrio, respectivamente. Ela também modula o sistema imunológico, reduzindo a quimiotaxia de leucócitos para o útero [64].

No dia 22, foi observada a única diferença estatística entre os grupos, considerando o mesmo dia experimental. Houve uma redução na concentração de progesterona para $27,5 \pm 1,1$ ng/mL no grupo DG +, mesmo com a suplementação hormonal proveniente do dispositivo intravaginal. Isso ocorreu, possivelmente, devido a menor produção de progesterona pelo CL, uma vez que a alta concentração de progesterona subsequente reduziu os pulsos de LH [65], hormônio responsável por estimular a esteroidogênese [66], através do aumento da síntese de RNAm que codifica as enzimas 3β -hidroxiesteroide desidrogenase (3β -HSD), proteína reguladora aguda da esteroidogênese (StAR) e a enzima desmolase (Citocromo P450_{sc}) [67]. Apesar dessa redução, a progesterona manteve sua concentração muito acima dos níveis basais, atuando nos mecanismos de desenvolvimento embrionário e reconhecimento materno da gestação [68]. Quanto ao grupo DG-, houve uma redução acentuada na concentração de progesterona, caindo para $7,5 \pm 1,3$ ng/mL. Essa redução era esperado, uma vez que esses animais foram diagnosticados como não gestantes com base na avaliação da vascularização do CL [47]. A baixa irrigação sanguínea da glândula transitória está associada ao processo de luteólise, mediado pela produção de PGF₂ α pelo endométrio materno [10]. Esse hormônio induz vasoconstrição na artéria ovariana, resultando na lise do CL devido à redução do suprimento nutricional [12]. Apesar da regressão luteal, a

concentração de progesterona permaneceu acima dos níveis basais devido à liberação contínua do hormônio pelo dispositivo intravaginal, com uma contribuição menor da produção residual do CL em regressão [13].

Foi observada uma alta correlação entre a área vascularizada do CL e a probabilidade de prenhez aos 22 dias. Isso está associado ao aumento da perfusão sanguínea para o ovário, resultando em maior aporte metabólico para o CL, o que intensifica a produção de progesterona [69], [70] que estimula a síntese de fatores como a proteína trofoblástica bovina 1 (interferon-tau) pelo embrião [71]. A associação entre essas substâncias é responsável por melhorar o ambiente uterino, o reconhecimento materno da gestação e desenvolvimento embrionário [72], [73]. Os resultados do presente estudo indicam a existência de um ponto crítico para a taxa de prenhez, observado em animais cuja vascularização do CL se encontra entre 25 e 50% da área total. Nesses indivíduos, a suplementação endógena de progesterona pode ser uma estratégia benéfica para aumentar a taxa de prenhez do rebanho através da redução das perdas gestacionais [74]. O método de diagnóstico de gestação superprecoce, através da área vascularizada do CL, apresentou 100% de acurácia, uma vez que todos os animais possivelmente prenhes no dia 22, confirmaram a gestação no dia 30.

A correlação positiva entre diâmetro do FD e a expressão de cio, observada no D-2 e D0, possivelmente está relacionada à produção de estradiol. Isso ocorre pelo fato que folículos maiores possuem um maior número de células esteroidogênicas (teca interna e granulosa) [75], [76]. O estrógeno possui papel importante na regulação do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal pelo estímulo a secreção hipotalâmica de GnRH, que por sua vez, induz a síntese das gonadotrofinas pela adenohipófise [77], [78], [79]. O LH atua nas células da teca interna, estimulando diversas enzimas (P450_{scc}, 3 β -HSD, 17 α hidroxilase, 17, 20 liase) que convertem o colesterol em androstenediona [80], [81], [82]. O FSH, por sua vez, atua estimulando o desenvolvimento das células da granulosa, que apresentam uma grande expressão da enzima aromatase, que converte androstenediona em estrógeno [83], [84]. Os níveis elevados de estradiol são responsáveis pelas manifestações comportamentais do cio, incluindo a receptividade sexual [85], [86], [87]. Isso também explica a correlação positiva encontrada entre a vascularização do FD e a expressão de cio, já que a maior perfusão sanguínea para o folículo, gera maior aporte metabólico para a produção de estradiol [88].

A correlação positiva entre a porcentagem de vascularização do FD e a intensidade da vascularização é justificada pelo processo de ovulação. Como esses dados foram

coletados no momento da IATF, a ovulação está próxima e sabe-se que nesse momento, existe uma intensificação no aporte sanguíneo para o FD [89], sendo causado pela liberação de mensageiros químicos (PGE_2 , bradicinina e histamina), que causam vasodilatação ovariana e aumento da permeabilidade vascular no órgão [90]. Já relação positiva entre intensidade de vascularização do FD e a taxa de prenhez aos 22 dias, também está relacionado com o aporte sanguíneo para o FD, potencializando o processo de ovulação e formação do corpo [91], [92]. A grande disponibilidade de nutrientes e metabolitos melhora a metaformose das células esteroidogênicas ovarianas, gerando um CL mais ativo [93], mesmo não encontrando correlação entre o diâmetro do CL e o diâmetro do FD.

Existe uma forte correlação entre o escore de vascularização e a porcentagem de vascularização do CL, demonstrando alta acurácia na técnica [47]. No D22, todos os parâmetros avaliados se correlacionaram. O diâmetro do CL está diretamente relacionado com o diâmetro do FD que o originou [94]. Durante o processo de ovulação ocorre um aumento na síntese de fatores angiogênicos, como a lipoxina, que intensificam a vascularização do futuro CL [95]. Corpos lúteos maiores são mais vascularizados, tendo um maior aporte sanguíneo para a produção de progesterona [96], [97]. Isso corrobora com os resultados obtidos, que demonstram que correlação positiva entre o diâmetro do FD e a concentração sérica de progesterona. Durante a luteogênese, destacam-se fatores vasculares como o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e o fator de crescimento fibroblástico 2 (FGF_2), potentes estimuladores da proliferação de células endoteliais [98]. A progesterona exerce um papel importante no estabelecimento de um ambiente uterino adequado para a implantação e manutenção da gestação. Ela atua estimulando a secreção de leite uterino pelas glândulas endometriais, responsável por nutrir o embrião até a placentação [99]. Além disso, ela estimula a produção da proteína MUC – 1, presente no glicocálix do endometrial, impedindo a implantação precoce [100]. A P_4 reduz a motilidade uterina ao reduzir a expressão dos receptores de ocitocina no endométrio, promovendo um estado de quiescência uterina, favorecendo o desenvolvimento embrionário e fetal [101]. Por fim, ela modula o sistema imunológico, diminuindo a quimiotaxia de leucócitos para o útero, evitando a rejeição do embrião, que é geneticamente distinto da mãe [102]. Por esses fatores, a progesterona atua reduzindo as perdas gestacionais, e conseqüentemente aumentando a taxa de prenhez.

5. CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo demonstraram que as concentrações de progesterona até os 22 dias pós IATF sofrem influência tanto do diâmetro quanto da vascularização do CL e que ambos os parâmetros afetam diretamente a taxa de prenhez. Além disso, os parâmetros do FD apresentam tendência de correlação com a taxa de prenhez, embora de forma limitada, podendo ser utilizados como indicativo dessa taxa. No entanto, sua aplicação requer complementação com outros fatores, como a vascularização do CL aos 22 dias após a IATF, para uma avaliação mais precisa do diagnóstico gestacional. Em resumo, os parâmetros relacionados ao FD, CL e progesterona sérica, estão interligados, evidenciando uma correlação positiva com a taxa de prenhez.

REFERENCIAS

- [1] Dadarwal D, Mapletoft RJ, Adams GP, Pfeifer LFM, Creelman C, Singh J. Effect of progesterone concentration and duration of proestrus on fertility in beef cattle after fixed-time artificial insemination. *Theriogenology* 2013;79:859–66. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2013.01.003>.
- [2] Lamb GC, Mercadante VRG. Synchronization and Artificial Insemination Strategies in Beef Cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 2016;32:335–47. <https://doi.org/10.1016/J.CVFA.2016.01.006>.
- [3] Pegorer MF, Ereno RL, Satrapa RA, Pinheiro VG, Trinca LA, Barros CM. Neither plasma progesterone concentrations nor exogenous eCG affects rates of ovulation or pregnancy in fixed-time artificial insemination (FTAI) protocols for puberal Nellore heifers. *Theriogenology* 2011;75:17–23. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2010.07.005>.
- [4] Fernandes P, Teixeira AB, Crocci AJ, Barros CM. Timed artificial insemination in beef cattle using Gn RH agonist, PGF2alpha and estradiol benzoate (EB). *Theriogenology* 2001;55:1521–32. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00499-X](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00499-X).
- [5] Twagiramungu H, Guilbault LA, Proulx J, Dufour JJ. Synchronization of estrus and fertility in beef cattle with two injections of buserelin and prostaglandin. *Theriogenology* 1992;38:1131–44. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(92\)90126-C](https://doi.org/10.1016/0093-691X(92)90126-C).
- [6] Bó GA, Baruselli PS, Martínez MF. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. *Anim Reprod Sci* 2003;78:307–26. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(03\)00097-6](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(03)00097-6).

- [7] Núñez-Olivera R, Cuadro F, Menchaca A. Is prostaglandin F2 α administration at the beginning of a progesterone and estradiol-based treatment for FTAI an effective strategy in *Bos taurus* heifers? *Anim Reprod Sci* 2019;210:106201. <https://doi.org/10.1016/J.ANIREPROSCI.2019.106201>.
- [8] Adams GP, Jaiswal R, Singh J, Malhi P. Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. *Theriogenology* 2008;69:72–80. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2007.09.026>.
- [9] Bó GA, de la Mata JJ, Baruselli PS, Menchaca A. Alternative programs for synchronizing and resynchronizing ovulation in beef cattle. *Theriogenology* 2016;86:388–96. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2016.04.053>.
- [10] Zwiefelhofer EM, Lillico W, Adams GP. Development of a letrozole-based synchronization protocol for fixed-time artificial insemination in beef cattle. *Anim Reprod Sci* 2022;240:106975. <https://doi.org/10.1016/J.ANIREPROSCI.2022.106975>.
- [11] Chenault JR, Meeuwse DM, LaGrow C, Tena JKS, Wood-Follis SL, Hallberg JW. Evaluation of gonadotropin-releasing hormone hydrogen chloride at 3 doses with prostaglandin F2 α for fixed-time artificial insemination in dairy cows. *J Dairy Sci* 2014;97:2816–21. <https://doi.org/10.3168/JDS.2013-7453>.
- [12] Shrestha HK. Loss of luteal sensitivity to luteinizing hormone underlies luteolysis in cattle: A hypothesis. *Reprod Biol* 2021;21:100570. <https://doi.org/10.1016/J.REPBIO.2021.100570>.
- [13] Meuwissen D, Gote MJ, Meyermans R, Janssens S, Adriaens I, Aernouts B. Adjusting the timing of inseminations to the time lag on luteolysis alerts results in higher conception in dairy cattle. *J Dairy Sci* 2024;107:11087–103. <https://doi.org/10.3168/JDS.2024-24981>.
- [14] Sá Filho MF, Ayres H, Ferreira RM, Marques MO, Reis EL, Silva RCP, et al. Equine chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone enhance fertility in a norgestomet-based, timed artificial insemination protocol in suckled Nelore (*Bos indicus*) cows. *Theriogenology* 2010;73:651–8. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2009.11.004>.
- [15] Cattaneo L, Prieto C, Ojeda D, Pereira A, Frutos J, Bó GA. The use of a recombinant equine chorionic gonadotropin (reCG) in fixed-time AI programs in beef cattle. *Theriogenology* 2024;227:77–83. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2024.07.011>.

- [16] Bó GA, Baruselli PS. Synchronization of ovulation and fixed-time artificial insemination in beef cattle. *Animal* 2014;8:144–50. <https://doi.org/10.1017/S1751731114000822>.
- [17] Cedeño A V., Cuervo R, Tríbulo A, Tríbulo R, Andrada S, Mapletoft R, et al. Effect of expression of estrus and treatment with GnRH on pregnancies per AI in beef cattle synchronized with an estradiol/progesterone-based protocol. *Theriogenology* 2021;161:294–300. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2020.12.014>.
- [18] Martins T, Talamoni JP, Sponchiado M, Maio JRG, Nogueira GP, Pugliesi G, et al. Impact of estradiol cypionate prior to TAI and progesterone supplementation at initial diestrus on ovarian and fertility responses in beef cows. *Theriogenology* 2017;104:156–63. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2017.08.017>.
- [19] Tschopp JC, Macagno AJ, Mapletoft RJ, Menchaca A, Bó GA. Effect of the addition of GnRH and a second prostaglandin F2 α treatment on pregnancy per artificial insemination in lactating dairy cows submitted to an estradiol/progesterone-based timed-AI protocol. *Theriogenology* 2022;188:63–70. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2022.05.019>.
- [20] Wiltbank MC, Pursley JR. The cow as an induced ovulator: Timed AI after synchronization of ovulation. *Theriogenology* 2014;81:170–85. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2013.09.017>.
- [21] Colazo MG, Kastelic JP, Mainar-Jaime RC, Gavaga QA, Whittaker PR, Small JA, et al. Resynchronization of previously timed-inseminated beef heifers with progestins. *Theriogenology* 2006;65:557–72. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2005.06.001>.
- [22] Ataíde Junior GA, Kloster A, de Moraes ÉG, Motta IG, Claro Junior I, Vasconcelos JLM, et al. Early resynchronization of follicular wave emergence among Nelore cattle using injectable and intravaginal progesterone for three timed artificial inseminations. *Anim Reprod Sci* 2021;229:106759. <https://doi.org/10.1016/J.ANIREPROSCI.2021.106759>.
- [23] Pessoa GA, Martini AP, Sá Filho MF, Batistella Rubin MI. Resynchronization improves reproductive efficiency of suckled *Bos taurus* beef cows subjected to spring-summer or autumn-winter breeding season in South Brazil. *Theriogenology* 2018;122:14–22. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2018.08.021>.
- [24] Brauner CC, Izquierdo VS, Vendramini JMB, Moriel P. A 12-year summary of the effects of estrous synchronization and body weight at breeding on reproductive success of *Bos indicus*-influenced beef heifers grazing warm-season grasses. *Applied Animal Science* 2024;40:847–54. <https://doi.org/10.15232/AAS.2024-02630>.

- [25] Sinedino LDP, Lima FS, Bisinotto RS, Cerri RLA, Santos JEP. Effect of early or late resynchronization based on different methods of pregnancy diagnosis on reproductive performance of dairy cows. *J Dairy Sci* 2014;97:4932–41. <https://doi.org/10.3168/JDS.2013-7887>.
- [26] Motavalli T, Dirandeh E, Deldar H, Colazo MG. Evaluation of shortened timed-AI protocols for resynchronization of ovulation in multiparous Holstein dairy cows. *Theriogenology* 2017;95:187–92. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2017.03.003>.
- [27] Guimarães da Silva A, Nishimura TK, Rocha CC, Motta IG, Laurindo Neto A, Ferraz PA, et al. Comparison of estradiol benzoate doses for resynchronization of ovulation at 14 days after timed-AI in suckled beef cows. *Theriogenology* 2022;184:41–50. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2022.02.025>.
- [28] Pugliesi G, Dalmaso de Melo G, Silva JB, Carvalhêdo AS, Lopes E, de Siqueira Filho E, et al. Use of color-Doppler ultrasonography for selection of recipients in timed-embryo transfer programs in beef cattle. *Theriogenology* 2019;135:73–9. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2019.06.006>.
- [29] Liles Pollock AG, Greiner SP, Whittier WD, Hall JB. The effects of resynchronization of estrus using a progestin-based system. *Prof Anim Sci* 2016;32:627–35. <https://doi.org/10.15232/PAS.2016-01509>.
- [30] Green JC, Okamura CS, Mathew DJ, Newsom EM, Lucy MC. Hot topic: Successful fixed-time insemination within 21 d after first insemination by combining chemical pregnancy diagnosis on d 18 with a rapid resynchronization program. *J Dairy Sci* 2010;93:5668–72. <https://doi.org/10.3168/JDS.2010-3395>.
- [31] Kirch BH, Aiken GE, Spiers DE. Temperature influences upon vascular dynamics in cattle measured by Doppler ultrasonography. *J Therm Biol* 2008;33:375–9. <https://doi.org/10.1016/J.JTHERBIO.2008.06.003>.
- [32] Díaz PU, Belotti EM, Notaro US, Salvetti NR, Leiva CJM, Durante LI, et al. Hemodynamic changes detected by Doppler ultrasonography in the ovaries of cattle during early development of cystic ovarian disease. *Anim Reprod Sci* 2019;209:106164. <https://doi.org/10.1016/J.ANIREPROSCI.2019.106164>.
- [33] Vieira CC, Pinto HF, Buss V, Gonzalez de Freitas B, Guerreiro BM, Leivas FG, et al. Resynchronization of follicular wave using long-acting injectable progesterone or estradiol benzoate at 14 days post-timed AI in *Bos taurus* x *Bos indicus* beef heifers.

Theriogenology 2021;176:194–9.

<https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2021.09.017>.

- [34] Palhão MP, Ribeiro AC, Martins AB, Guimarães CRB, Alvarez RD, Seber MF, et al. Early resynchronization of non-pregnant beef cows based in corpus luteum blood flow evaluation 21 days after Timed-AI. *Theriogenology* 2020;146:26–30. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2020.01.064>.
- [35] Palhão MP, Ribeiro AC, Martins AB, Guimarães CRB, Alvarez RD, Seber MF, et al. Early resynchronization of non-pregnant beef cows based in corpus luteum blood flow evaluation 21 days after Timed-AI. *Theriogenology* 2020;146:26–30. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2020.01.064>.
- [36] Motta IG, Rocha CC, Bisinotto DZ, Melo GD, Ataíde Júnior GA, Silva AG, et al. Increased pregnancy rate in beef heifers resynchronized with estradiol at 14 days after TAI. *Theriogenology* 2020;147:62–70. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2020.02.009>.
- [37] Pierson RA, Ginther OJ. Ultrasonography for detection of pregnancy and study of embryonic development in heifers. *Theriogenology* 1984;22:225–33. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(84\)90435-7](https://doi.org/10.1016/0093-691X(84)90435-7).
- [38] Siqueira LGB, Areas VS, Ghetti AM, Fonseca JF, Palhao MP, Fernandes CAC, et al. Color Doppler flow imaging for the early detection of nonpregnant cattle at 20 days after timed artificial insemination. *J Dairy Sci* 2013;96:6461–72. <https://doi.org/10.3168/JDS.2013-6814>.
- [39] Ginther OJ. Intraovarian spatial and vascular harmony between follicles and corpus luteum in monovulatory heifers, mares, and women. *Theriogenology* 2019;128:31–9. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2019.01.019>.
- [40] Varughese EE, Brar PS, Ghuman SS. Vascularization to preovulatory follicle and corpus luteum—a valuable predictor of fertility in dairy cows. *Theriogenology* 2017;103:59–68. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2017.07.042>.
- [41] Siddiqui MAR, Almamun M, Ginther OJ. Blood flow in the wall of the preovulatory follicle and its relationship to pregnancy establishment in heifers. *Anim Reprod Sci* 2009;113:287–92.
- [42] Nicholson MJ, Butterworth MH. A guide to zebu cattle body condition scoring. Addis Ababa (Ethiopia): International Livestock Centre for Africa; 1986.
- [43] Maturana Filho M, Mello BP, Lemes KM, Gonçalves RL, Lollato JPM, Pugliesi G, et al. Effects of mineral and vitamin supplementation on pregnancy rates in Nelore cattle

- submitted to FTAI programs with different reactivity scores. *Livest Sci* 2024;279:105378. <https://doi.org/10.1016/J.LIVSCI.2023.105378>.
- [44] Smith EG, Ricardo KR, VanWye GM, Palcheff LJ, Bonacker RC, Andersen CM, et al. Classification of postpartum beef cows as estrous cycling or anestrus through the use of estrus detection patches prior to the start of the breeding season. *Applied Animal Science* 2024;40:142–9. <https://doi.org/10.15232/AAS.2023-02474>.
- [45] Sá Filho MF, Marques MO, Girotto R, Santos FA, Sala R V., Barbuio JP, et al. Resynchronization with unknown pregnancy status using progestin-based timed artificial insemination protocol in beef cattle. *Theriogenology* 2014;81:284–90. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2013.09.027>.
- [46] Tarso SGS, Ishak GM, Gastal GDA, Bashir ST, Gastal MO, Gastal EL. Novel prospects for evaluation of follicle wall blood flow using color-Doppler ultrasonography. *Anim Reprod* 2016; 13:762-71. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR806>
- [47] Pugliesi G, Rezende RG, Da Silva JCB, Lopes E, Nishimura TK, Baruselli PS, et al. Uso da ultrassonografia Doppler em programas de IATF e TETF em bovinos. *Rev. Bras. Reprod. Anim* 2017; 41:140-50.
- [48] Dadarwal D, Mapletoft RJ, Adams GP, Pfeifer LFM, Creelman C, Singh J. Effect of progesterone concentration and duration of proestrus on fertility in beef cattle after fixed-time artificial insemination. *Theriogenology* 2013;79:859–66. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2013.01.003>.
- [49] Hill SL, Perry GA, Mercadante VRG, Lamb GC, Jaeger JR, Olson KC, et al. Altered progesterone concentrations by hormonal manipulations before a fixed-time artificial insemination CO-Synch + CIDR program in suckled beef cows. *Theriogenology* 2014;82:104–13. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2014.03.008>.
- [50] Sales JNS, Carvalho JBP, Crepaldi GA, Soares JG, Girotto RW, Maio JRG, et al. Effect of circulating progesterone concentration during synchronization for fixed-time artificial insemination on ovulation and fertility in *Bos indicus* (Nelore) beef cows. *Theriogenology* 2015;83:1093–100. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2014.12.009>.
- [51] Pfeifer LFM, Leonardi CEP, Castro NA, Viana JHM, Siqueira LGB, Castilho EM, et al. The use of PGF2 α as ovulatory stimulus for timed artificial insemination in cattle. *Theriogenology* 2014;81:689–95. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2013.11.016>.

- [52] Pfeifer LFM, Rodrigues WB, Casanova da Silva K, Anache NA, Castro NÁ, Castilho EM, et al. Different protocols using PGF2 α as ovulation inducer in Nelore cows subjected to estradiol-progesterone timed AI based protocols. *Theriogenology* 2018;120:56–60. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2018.06.030>.
- [53] Ratzburg K, Jorgensen-Muga K, Murugesan J, Kastelic J, Kasimanickam V, Kasimanickam R. Presynchronization with CIDR, with or without GnRH, prior to CO-Synch in beef heifers. *Theriogenology* 2020;146:80–7. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2020.02.005>.
- [54] Bao B, Wang J, Li Y, Feng F, Ji Z, Luoreng Z, et al. Molecular regulation mechanism of oocyte maturation in beef cattle. *Biocell* 2023;47:1509–18. <https://doi.org/10.32604/BIOCELL.2023.028646>.
- [55] Kindahl H, Lindell JO, Edqvist LE. On the control of prostaglandin release during the bovine estrous cycle. Effects of progesterone implants. *Prostaglandins* 1979;18:813–20. [https://doi.org/10.1016/0090-6980\(79\)90100-X](https://doi.org/10.1016/0090-6980(79)90100-X).
- [56] Madureira G, Motta JCL, Drum JN, Consentini CEC, Prata AB, Monteiro PLJ, et al. Progesterone-based timed AI protocols for *Bos indicus* cattle I: Evaluation of ovarian function. *Theriogenology* 2020;145:126–37. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2020.01.030>.
- [57] Bridges GA, Mussard ML, Burke CR, Day ML. Influence of the length of proestrus on fertility and endocrine function in female cattle. *Anim Reprod Sci* 2010;117:208–15. <https://doi.org/10.1016/J.ANIREPROSCI.2009.05.002>.
- [58] Martínez MF, Kastelic JP, Bó GA, Caccia M, Mapletoft RJ. Effects of oestradiol and some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. *Anim Reprod Sci* 2005;86:37–52. <https://doi.org/10.1016/J.ANIREPROSCI.2004.06.005>.
- [59] Ferreira AM. Reprodução da fêmea bovina. 1st ed. Valença – RJ: Editora Editar; 2010. Capítulo 9, Gestação em bovinos; p. 349.
- [60] Tschopp JC, Macagno AJ, Mapletoft RJ, Menchaca A, Bó GA. Effect of the addition of GnRH and a second prostaglandin F2 α treatment on pregnancy per artificial insemination in lactating dairy cows submitted to an estradiol/progesterone-based timed-AI protocol. *Theriogenology* 2022;188:63–70. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2022.05.019>.
- [61] Madoz L V., Rabaglino MB, Migliorisi AL, Jaureguiberry M, Perez Wallace S, Lorenti N, et al. Association between progesterone concentration and endometrial gene

- expression in dairy cows. *Domest Anim Endocrinol* 2021;74:106481. <https://doi.org/10.1016/J.DOMANIEND.2020.106481>.
- [62] Khatib H, Schutzkus V, Chang YM, Rosa GJM. Pattern of Expression of the Uterine Milk Protein Gene and its Association with Productive Life in Dairy Cattle. *J Dairy Sci* 2007;90:2427–33. <https://doi.org/10.3168/JDS.2006-722>.
- [63] Pandey S, Lakshmi Devi H, Bhat IA, Indu B, Bharti MK, Shabir U, et al. Expression profile of adhesion molecules in blastocyst vis-a-vis uterine epithelial cells. *Theriogenology* 2021;170:36–45. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2021.04.018>.
- [64] Lonergan P, Sánchez JM. Symposium review: Progesterone effects on early embryo development in cattle. *J Dairy Sci* 2020;103:8698–707. <https://doi.org/10.3168/JDS.2020-18583>.
- [65] Ginther OJ, Bashir ST, Hoffman MM, Beg MA. Endocrinology of number of follicular waves per estrous cycle and contralateral or ipsilateral relationship between corpus luteum and preovulatory follicle in heifers. *Domest Anim Endocrinol* 2013;45:64–71. <https://doi.org/10.1016/J.DOMANIEND.2013.05.002>.
- [66] Abreu FM, Coutinho da Silva MA, Cruppe LH, Mussard ML, Bridges GA, Harstine BR, et al. Role of progesterone concentrations during early follicular development in beef cattle: I. Characteristics of LH secretion and oocyte quality. *Anim Reprod Sci* 2018;196:59–68. <https://doi.org/10.1016/J.ANIREPROSCI.2018.06.020>.
- [67] Batista EOS, Cardoso BO, Oliveira ML, Cuadros FDC, Mello BP, Sponchiado M, et al. Supplemental progesterone induces temporal changes in luteal development and endometrial transcription in beef cattle. *Domest Anim Endocrinol* 2019;68:126–34. <https://doi.org/10.1016/J.DOMANIEND.2019.02.001>.
- [68] Lonergan P, Sánchez JM. Symposium review: Progesterone effects on early embryo development in cattle. *J Dairy Sci* 2020;103:8698–707. <https://doi.org/10.3168/JDS.2020-18583>.
- [69] Siqueira LG, Arashiro EK, Ghetti AM, Souza ED, Feres LF, Pfeifer LF, et al. Vascular and morphological features of the corpus luteum 12 to 20 days after timed artificial insemination in dairy cattle. *J Dairy Sci* 2019;102:5612–22. <https://doi.org/10.3168/JDS.2018-15853>.
- [70] Fraser HM, Wulff C. Angiogenesis in the corpus luteum. *Reprod Biol Endocrinol* 2003; 1: 1-8. doi.org/10.1186/1477-7827-1-88.

- [71] Madureira G, Mion B, Van Winters B, Peñagaricano F, Li J, Ribeiro ES. Endometrial responsiveness to interferon-tau and its association with subsequent reproductive performance in dairy heifers. *J Dairy Sci* 2024;107:7371–91. <https://doi.org/10.3168/JDS.2023-24627>.
- [72] Talukder AK, McDonald M, Browne JA, Charpigny G, Rizos D, Lonergan P. Response of bovine endometrium to interferon tau in the presence of lipopolysaccharide. *Theriogenology* 2024;229:169–77. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2024.08.026>.
- [73] Meidan R, Basavaraja R. Interferon-Tau regulates a plethora of functions in the corpus luteum. *Domest Anim Endocrinol* 2022;78:106671. <https://doi.org/10.1016/J.DOMANIEND.2021.106671>.
- [74] López-Gatius F, Santolaria P, Yániz JL, Hunter RHF. Progesterone supplementation during the early fetal period reduces pregnancy loss in high-yielding dairy cattle. *Theriogenology* 2004;62:1529–35. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2004.02.005>.
- [75] Bigelow KL, Evans ACO, Fortune IE. Effects of prolonged dominance on follicular steroidogenesis in cattle. *Theriogenology* 1997;47:142. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(97\)82269-8](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(97)82269-8).
- [76] Dentis JL, Schreiber NB, Burrell AM, Spicer LJ. Effects of angiogenin on granulosa and theca cell function in cattle. *Animal* 2017;11:811–9. <https://doi.org/10.1017/S1751731116002044>.
- [77] Yapura MJ, Zwiefelhofer EM, Pierson RA, Adams GP. Aromatase inhibitors: A new approach for controlling ovarian function in cattle. *Theriogenology* 2018;112:18–25. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2017.08.025>.
- [78] Kadokawa H, Pandey K, Nahar A, Nakamura U, Rudolf FO. Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) receptors of cattle aggregate on the surface of gonadotrophs and are increased by elevated GnRH concentrations. *Anim Reprod Sci* 2014;150:84–95. <https://doi.org/10.1016/J.ANIREPROSCI.2014.09.008>.
- [79] D'Occhio MJ, Fordyce G, Whyte TR, Aspden WJ, Trigg TE. Reproductive responses of cattle to GnRH agonists. *Anim Reprod Sci* 2000;60–61:433–42. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(00\)00078-6](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00078-6).
- [80] McIlmoil S, Call GB, Barney M, Strickland J, Judd AM. Interleukin-6 inhibits adrenal androgen release from bovine adrenal zona reticularis cells by inhibiting the expression

- of steroidogenic proteins. *Domest Anim Endocrinol* 2015;53:108–23. <https://doi.org/10.1016/J.DOMANIEND.2015.05.006>.
- [81] Miller WL. Structure of genes encoding steroidogenic enzymes. *J Steroid Biochem* 1987;27:759–66. [https://doi.org/10.1016/0022-4731\(87\)90147-6](https://doi.org/10.1016/0022-4731(87)90147-6).
- [82] McIlmoil S, Strickland J, Judd AM. Interleukin 6 increases the in vitro expression of key proteins associated with steroidogenesis in the bovine adrenal zona fasciculata. *Domest Anim Endocrinol* 2016;55:11–24. <https://doi.org/10.1016/J.DOMANIEND.2015.10.003>.
- [83] Ashry M, Folger JK, Rajput SK, Baroni J, Smith GW. FSH stimulated bovine granulosa cell steroidogenesis involves both canonical and noncanonical WNT signaling. *Domest Anim Endocrinol* 2022;78:106678. <https://doi.org/10.1016/J.DOMANIEND.2021.106678>.
- [84] Stocco C. Aromatase expression in the ovary: Hormonal and molecular regulation. *Steroids* 2008;73:473–87. <https://doi.org/10.1016/J.STEROIDS.2008.01.017>.
- [85] Martínez MF, Kastelic JP, Colazo MG, Mapletoft RJ. Effects of estradiol on gonadotrophin release, estrus and ovulation in CIDR-treated beef cattle. *Domest Anim Endocrinol* 2007;33:77–90. <https://doi.org/10.1016/J.DOMANIEND.2006.04.009>.
- [86] Martínez MF, Kastelic JP, Colazo MG, Mapletoft RJ. Effects of estradiol on gonadotrophin release, estrus and ovulation in CIDR-treated beef cattle. *Domest Anim Endocrinol* 2007;33:77–90. <https://doi.org/10.1016/J.DOMANIEND.2006.04.009>.
- [87] Reith S, Hoy S. Review: Behavioral signs of estrus and the potential of fully automated systems for detection of estrus in dairy cattle. *Animal* 2018;12:398–407. <https://doi.org/10.1017/S1751731117001975>.
- [88] Guerson YB, Couto SRB, Morais R de CL, Grillo GF, Jacob JCF, Barbero RP, et al. Vascular perfusion and the volume of the preovulatory follicle are affected by the temperament of Nellore cows. *Livest Sci* 2021;254:104744. <https://doi.org/10.1016/J.LIVSCI.2021.104744>.
- [89] COOPER MJ. OVULATION CONTROL IN THE COW. *Control of Ovulation* 1978:413–20. <https://doi.org/10.1016/B978-0-408-70924-8.50029-3>.
- [90] Ferreira AM. Reprodução da fêmea bovina. 1st ed. Valença – RJ: Editora Editar; 2010. Capítulo 6, Ovulação; p. 294.
- [91] Conti M, Chang RJ. Folliculogenesis, Ovulation, and Luteogenesis. *Endocrinology: Adult and Pediatric* 2016;2–2:2179-2191.e3. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-18907-1.00125-6>.

- [92] Bonato D V., Ferreira EB, Gomes DN, Bonato FGC, Droher RG, Morotti F, et al. Follicular dynamics, luteal characteristics, and progesterone concentrations in synchronized lactating Holstein cows with high and low antral follicle counts. *Theriogenology* 2022;179:223–9. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2021.12.006>.
- [93] Pohler KG, Franco GA, Reese ST, Smith MF. Physiology and pregnancy of beef cattle. *Animal Agriculture: Sustainability, Challenges and Innovations* 2020:37–55. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817052-6.00003-3>.
- [94] Tarso SGS, Gastal GDA, Bashir ST, Gastal MO, Oliveira GA, Gastal EL. Follicular vascularization coordinates corpus luteum blood flow and progesterone production. *Reprod. Fertil. Dev* 2017; 29: 448–57. <https://doi.org/10.1071/RD15521>.
- [95] Murdoch WJ, Hansen TR, McPherson LA. A review — Role of eicosanoids in vertebrate ovulation. *Prostaglandins* 1993;46:85–115. [https://doi.org/10.1016/0090-6980\(93\)90037-8](https://doi.org/10.1016/0090-6980(93)90037-8).
- [96] Chouhan VS, Dangi SS, Gupta M, Babitha V, Khan FA, Panda RP, et al. Stimulatory effect of vascular endothelial growth factor on progesterone production and survivability of cultured bubaline luteal cells. *Anim Reprod Sci* 2014;148:251–9. <https://doi.org/10.1016/J.ANIREPROSCI.2014.06.009>.
- [97] Vrisman DP, Bastos NM, Rossi GF, Rodrigues NN, Borges LPB, Taira AR, et al. Corpus luteum dynamics after ovulation induction with or without previous exposure to progesterone in prepubertal Nellore heifers. *Theriogenology* 2018;106:60–8. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2017.10.018>.
- [98] Ferreira AM. Reprodução da fêmea bovina. 1st ed. Valença – RJ: Editora Editar; 2010. Capítulo 7, Luteogênese; p. 316.
- [99] Green MP, Hunter MG, Mann GE. Relationships between maternal hormone secretion and embryo development on day 5 of pregnancy in dairy cows. *Anim Reprod Sci* 2005;88:179–89. <https://doi.org/10.1016/J.ANIREPROSCI.2004.12.007>.
- [100] Hafez ESE, Hafez, B. *Reproduction in Farm Animals*. 7th ed. Philadelphia: Lea & Febiger; 2004. Capítulo 9, Implantation; p. 132.
- [101] Mann GE, Lamming GE. The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. *Reprod. Domest. Anim* 1999; 43:269-74. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.1999.tb01250.x>.
- [102] Hansen PJ. Interactions between the immune system and the bovine conceptus. *Theriogenology* 1997;47:121–30. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(96\)00346-9](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(96)00346-9).

ARTIGO 2

Artigo redigido segundo as normas da revista *Theriogenology*, ISSN 0093-691X, classificada como A1 pelo QUALIS – CAPES 2022.

Efeitos da suplementação de progesterona pós-IATF na manutenção da gestação e desenvolvimento embrionário em fêmeas bovinas de corte

RESUMO

As falhas reprodutivas geram grande impacto na bovinocultura, afetando 43% das fêmeas cobertas ou inseminadas e podem decorrer por falhas na fertilização, morte embrionária precoce, morte embrionária tardia e abortamento. Dentre as diversas possíveis causas, a deficiência de progesterona possui destaque e pode estar relacionada tanto às mortes embrionárias precoces quanto tardias. Nesse sentido, o presente estudo avaliou o efeito da suplementação de progesterona por dois períodos distintos – 8 dias (do 14º ao 22º) e 16 dias (do 14º ao 30º) dia pós-IATF – sobre a taxa de perdas gestacionais em vacas Nelore. Foram utilizadas 111 fêmeas, divididas em três categorias: novilhas superprecoces (n=14), novilhas precoces (n=48) e vacas (n=49), mantidas em sistema extensivo, submetidas ao mesmo protocolo de IATF e ressincronização. No 22º dia pós IATF, foi realizado o diagnóstico gestacional (DG), de maneira presuntiva, com o auxílio da ultrassonografia Doppler. Os animais foram distribuídos em três grupos: DG negativo (n=45), controle (n=30) e tratado (n=36). No grupo controle, o implante de P4 foi removido no D22, enquanto no grupo tratado foi mantido até o 30º dia pós-IATF. No 30º e 85º dia, foi realizada US modo B, para confirmação da gestação nos animais diagnosticados como positivos no D22. Foi realizada coleta de sangue para dosagem de P4 nos dias -2, 0, 14, 22 e 30. A progesterona variou significativamente ao longo do tempo para ambos os grupos ($p < 0,01$), mas não houve diferença estatística entre os grupos tratado e controle em relação à perda gestacional (5,88% vs. 13,33%, respectivamente; $p = 0,32$). Foi observada uma tendência ($p = 0,07$) para diâmetro da vesícula embrionária, sendo maior nas vacas que mantiveram a gestação em relação as vacas que sofreram perda gestacional detectada no D85 (10,24 mm vs. 8,49 mm). O modelo de regressão linear mostrou associação positiva entre o diâmetro do CL e o diâmetro do embrião ($p < 0,01$; $R^2 = 0,25$), sugerindo que um maior CL está associado a embriões maiores. Em conclusão, a suplementação de progesterona por 8 ou 16 dias não teve efeito significativo na

manutenção da gestação, porém possui potencial para impactar positivamente a rentabilidade da propriedade.

Palavras-chave: Perdas gestacionais; Progestágenos; Embrião; Vacas.

ABSTRACT

Reproductive losses generate a significant impact on cattle production, affecting 43% of the females that are bred by natural service or artificially inseminated, and may result from fertilization failures, early embryonic death, late embryonic death, and abortion. Among the various possible causes, progesterone deficiency is particularly notable and may be related to both early and late embryonic death. In this context, the present study evaluated the effect of progesterone supplementation for two distinct periods—8 days (from the 14th to the 22nd day) and 16 days (from the 14th to the 30th day) post-FTAI—on the rate of pregnancy losses in Nelore cattle. A total of 111 females were used, divided into three categories: precocious heifers (n = 14), heifers (n = 48), and cows (n = 49), maintained under an extensive management system and subjected to the same FTAI and resynchronization protocol. On the 22nd day post-FTAI, a presumptive pregnancy diagnosis (PD) was performed using Doppler ultrasonography. The animals were allocated into three groups: PD negative (n = 45), control (n = 30), and treatment (n = 36). In the control group, the progesterone implant was removed on day 22, whereas in the treatment group it was maintained until the 30th day post-FTAI. On the 30th and 85th days, B-mode ultrasonography was performed to confirm pregnancy in animals diagnosed as positive on day 22. Blood samples were collected for progesterone quantification on days -2, 0, 14, 22, and 30. Progesterone levels varied significantly over time for both groups ($p < 0.01$), but there was no difference between the treatment and control groups regarding pregnancy loss (5.88% vs. 13.33%, respectively; $p = 0.32$). A tendency ($p = 0.07$) was observed for embryo vesicle diameter (amnion), which was larger in cows that maintained pregnancy compared to those that experienced pregnancy loss detected on day 85 (10.24 mm vs. 8.49 mm). The linear regression model showed a positive association between corpus luteum (CL) diameter and embryonic diameter ($p < 0.01$; $R^2 = 0,25$), suggesting that a larger CL is associated with larger embryos. In conclusion, progesterone supplementation for 8 or 16 days did not have a significant effect on pregnancy maintenance, although it holds potential to positively impact the profitability of the operation.

Keywords: Pregnancy losses; Progestogens; Embryo; Cows.

1. INTRODUÇÃO

As perdas gestacionais em bovinos resultam em significativo prejuízo econômico para a pecuária, com estimativas de até US\$ 6,25 por vaca para cada redução de 1% na taxa de prenhez [1]. Essas perdas são classificadas em morte embrionária precoce, quando ocorrem até o 21º dia de gestação, correspondendo a 22% das perdas; morte embrionária tardia, quando ocorrem do 21º ao 42º dia, com incidência de 6%; e abortamento, ocorrendo do 42º dia em diante, totalizando 5% das perdas [2], [3], [4].

Apesar da taxa de fertilização em condições ideais ser elevada, cerca de 90% [5],[6], diversos fatores podem afetar o desenvolvimento embrionário e a manutenção da gestação. Entre os principais fatores associados à morte embrionária estão os distúrbios hormonais, a qualidade folicular e do corpo lúteo (CL), distúrbios nutricionais, estresse térmico e doenças infecciosas [7], [8]. Concentrações subluteais de progesterona (P_4) comprometem o ambiente uterino e favorecem a luteólise precoce, resultando na falha do reconhecimento materno da gestação [9], [10], [11]. Além disso, vacas em balanço energético negativo (BEN), comum no pós-parto, apresentam pior qualidade oocitária devido ao acúmulo de ácidos graxos não esterificados (AGNE) no fluido folicular, o que aumenta a probabilidade de perda embrionária [12], [13]. O estresse térmico também é um fator crítico, pois eleva os níveis de cortisol, prejudicando a função luteal e o desenvolvimento embrionário [14], [15], [16]. A exposição a temperaturas elevadas entre os dias 8 e 17 de gestação altera o ambiente uterino, reduzindo as taxas de concepção em aproximadamente 10% [17].

O reconhecimento materno da gestação é um processo crítico em bovinos, ocorrendo entre os dias 16 e 19 pós-ovulação em que o embrião sinaliza sua presença para evitar a luteólise e prolongar a vida útil do CL [18], [19]. O principal agente antiluteolítico é o interferon tau ($IFN-\tau$) [20], [21] sintetizado pelas células do trofoectoderma embrionário [22]. O $IFN-\tau$ inibe a expressão da enzima ciclooxigenase 2 (COX-2) no endométrio, reduzindo a produção de $PGF_{2\alpha}$ [23], além de estabilizar os receptores de P_4 [24] e estimular a síntese de prostaglandina E_2 (PGE_2), que aumenta o fluxo sanguíneo para o CL e intensifica a produção de progesterona [25]. Outros fatores embrionários, como o fator precoce de gestação (FPF) [26], [27] e o fator ativador de plaquetas (PAF) [28], [29] também desempenham funções importantes na modulação da

resposta imunológica materna e no suporte à manutenção do CL. A comunicação materno/fetal é vital para o sucesso reprodutivo, pois a falha em estabelecer esse reconhecimento resulta em luteólise, deficiência de progesterona e consequente perda gestacional.

Medidas para reduzir as perdas gestacionais em bovinos incluem o uso da somatotropina bovina (bST) [30], formação de CL acessório [31], supressão do desenvolvimento folicular [32], melhora no manejo nutricional [33] e suplementação de progesterona [34]. A progesterona, produzida pelo corpo lúteo após a ovulação, exerce um papel essencial na manutenção da gestação [35], [36]. Sua ação promove a modulação do ambiente uterino, favorecendo o desenvolvimento embrionária e a implantação do embrião [37], [38]. A insuficiência na produção de progesterona está diretamente associada ao aumento da taxa de perda gestacional, uma vez que níveis inadequados desse hormônio comprometem a sobrevivência embrionária [39], [40]. Estudos demonstram que a suplementação de progesterona em momentos críticos do ciclo reprodutivo reduz as perdas gestacionais, assegurando um ambiente uterino adequado para o desenvolvimento embrionário [41], [42], [43]. A suplementação exógena de progesterona é uma estratégia para reduzir falhas reprodutivas em bovinos, sobretudo em rebanhos de alta produtividade, onde a incidência de perdas gestacionais é elevada [44], [45], [46].

Dessa forma, os objetivos do presente estudo foram: (1) avaliar possíveis reduções de morte embrionária precoce e tardia, através da suplementação de progesterona durante dois períodos distintos – durante 8 dias (do 14º ao 22º dia pós-IATF) e por 16 dias (do 14º ao 30º dia pós-IATF) – sobre a taxa de perdas gestacionais em vacas Nelore; (2) comparar a concentração de progesterona entre os grupos com e sem suplementação de progesterona, bem como entre os animais que mantiveram a gestação e aqueles que apresentaram perdas gestacionais, ao longo do período de tratamento; (3) comparar o diâmetro do embrião em função da perda gestacional e da manutenção da gestação; (4) avaliar a influência do diâmetro do CL no diâmetro do embrião; (5) analisar o impacto econômico da suplementação de progesterona em propriedades de bovinos de corte.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Aspectos éticos do estudo

O experimento foi conduzido em conformidade com as diretrizes do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e aprovado pela Comissão

de Ética no Uso de Animais de Produção da Universidade Federal de Viçosa (CEUAP-UFV), sob protocolo #36/2023.

2.2 Animais e local de pesquisa

O estudo foi realizado na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão em Gado de Corte, vinculada ao Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, situada no campus de Viçosa - MG (Latitude 20° 76' 70" S e Longitude 42° 87' 08" O), durante a estação reprodutiva de 2023/2024. Foram avaliadas 111 fêmeas bovinas púberes da raça Nelore (*Bos taurus indicus*), distribuídas em três categorias: 14 novilhas superprecoces (13 a 14 meses), 48 novilhas precoces (24 a 26 meses) e 49 vacas (> 48 meses). Os animais foram mantidos em sistema extensivo, com pastagem de capim *Brachiaria decumbens*, recebendo suplementação proteico-energética, além de acesso livre a água e sal mineral.

2.3 Delineamento experimental

Os animais foram submetidos a um protocolo hormonal adaptado de Maturana Filho (2024) [47] e descrito na figura 10, onde o dia 0 foi definido como o dia da IATF. No dia -10, cada vaca recebeu um dispositivo intravaginal contendo 0,5 g de progesterona (Primer monodose®, Agener União Saúde Animal), juntamente com a administração intramuscular de 2 mg de benzoato de estradiol (Ric-Be®, Agener União Saúde Animal) e 0,526 mg de cloprostenol sódico (Estron®, Agener União Saúde Animal). No oitavo dia (D-2), os dispositivos foram removidos e foi administrada uma nova dose intramuscular de 0,526 mg de cloprostenol sódico (Estron®, Agener União Saúde Animal), seguida pela aplicação de gonadotrofina coriônica equina (eCG), na dosagem de 200 UI para novilhas e 300 UI para vacas (Novormon 5000®, Zoetis), e 1 mg de cipionato de estradiol (Cipiotec®, Agener União Saúde Animal). A IATF ocorreu no dia 0, cerca de 48 horas após a remoção do dispositivo intravaginal de progesterona. Para o procedimento, foi utilizado o sêmen de 6 touros da raça Nelore, previamente selecionados com base no planejamento genético da propriedade, focando na complementariedade de características. O sêmen foi adquirido de uma central certificada (ABS Global), que assegura a qualidade seminal e controle microbiológico, garantindo sua adequação para a IATF.

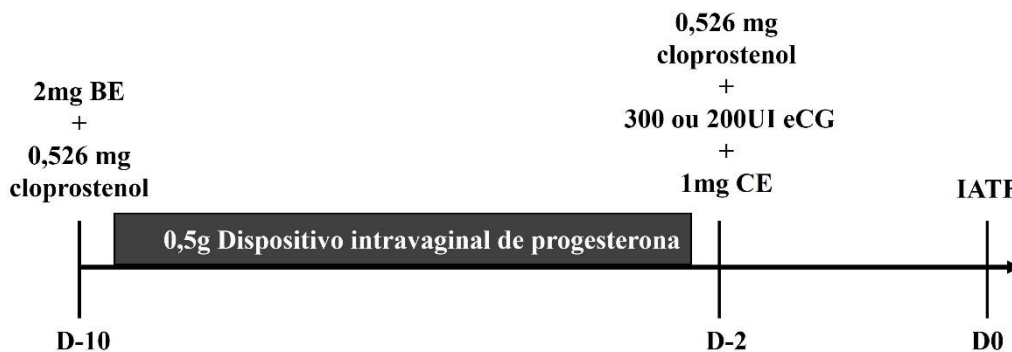


Figura 10. Representação esquemática do protocolo de Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) utilizado no experimento. No dia -10, os animais receberam um dispositivo intravaginal contendo 0,5 g de progesterona, em associação a 2 mg de benzoato de estradiol (BE). No dia -2, houve a remoção dos dispositivos e administração de 0,526 mg de cloprostenol sódico, Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG) (200 UI para novilhas e 300 UI para vacas) e 1 mg de cipionato de estradiol (CE). A IATF foi realizada no dia 0.

Quatorze dias após a IATF, todas as fêmeas passaram por um protocolo de ressincronização (Resynch), adaptado de Sá Filho (2014) [48] e descrito na figura 11. O protocolo consistiu na inserção de um dispositivo intravaginal, de três usos, contendo 1g de progesterona (Primer®, Agener União Saúde Animal) e na administração intramuscular de 1 mg de benzoato de estradiol (Ric-Be®, Agener União Saúde Animal).

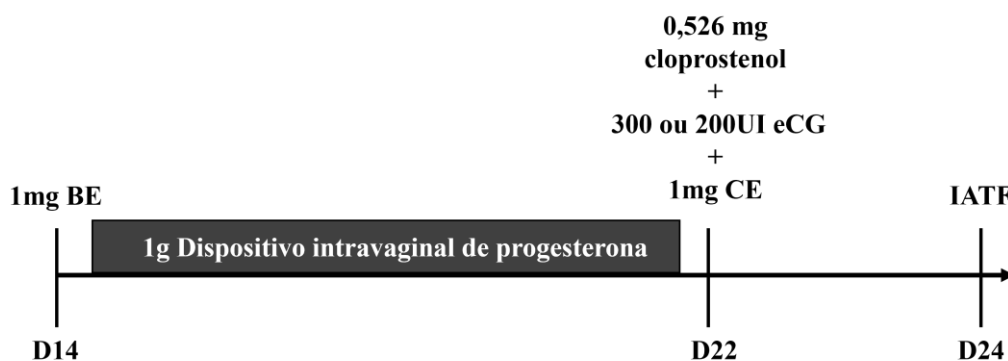


Figura 11. Representação do protocolo de ressincronização utilizado no experimento. No D14, os animais receberam um dispositivo intravaginal contendo 1g de progesterona associado a 1 mg de benzoato de estradiol (BE). No D22, as vacas com DG negativo tiveram os dispositivos intravaginais removidos e receberam 0,526 mg de cloprostenol sódico, Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG) (200 UI para novilhas e 300 UI para vacas) e 1 mg de cipionato de estradiol (CE). A segunda Inseminação Artificial em Tempo

Fixo (IATF) foi realizada no 24º dia, porém esses animais foram desconsiderados do experimento.

O diagnóstico gestacional (DG) superprecoce foi realizado no dia do protocolo de resincronização (D22), por meio da ultrassonografia doppler. Com base nos resultados, os animais foram divididos em três grupos: DG negativo (n=45), controle (n=30) e tratado (n=36). O grupo DG negativo foi excluído das etapas subsequentes, enquanto os demais foram distribuídos uniformemente de maneira randomizada, considerando a categoria e o peso. No grupo controle, o implante de progesterona foi removido, enquanto no grupo tratado foi mantido até o 30º dia após a IATF. O delineamento experimental está descrito na figura 12.

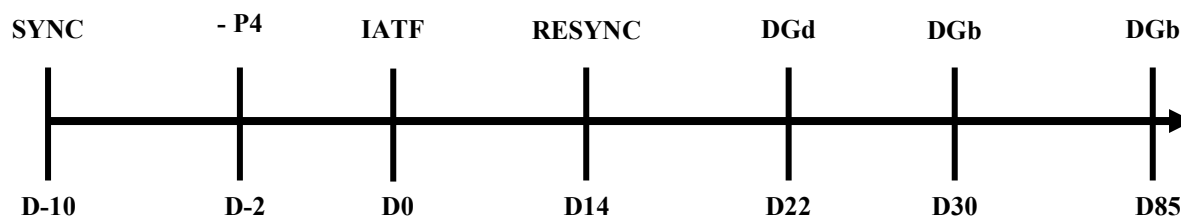


Figura 12. Delineamento experimental do estudo. O protocolo consistiu na sincronização inicial (Sync) no D-10, seguida da retirada do dispositivo intravaginal de progesterona no D-2, e inseminação artificial em tempo fixo (IATF) no D0. Após a IATF, foi realizada a resincronização (Resync) para novo manejo reprodutivo no D14. O DG foi realizado em dois momentos: utilizando ultrassonografia Doppler (DGd) através da avaliação da vascularização do CL no D22, e ultrassonografia modo brilho (DGb) para confirmação da gestação, através da visualização do embrião e da vesícula embrionária no D30 e D85.

2.4 Avaliação do escore de condição corporal e pesagem

No dia da sincronização, os animais foram pesados em balança analógica e submetidos à avaliação do escore de condição corporal (ECC). As análises foram realizadas por um único avaliador, utilizando a escala de 1 a 9 proposta por Nicholson et al. (1986) [49], na qual o valor 1 representa um animal em estado de extrema magreza e o valor 9 indica um animal extremamente gordo.

2.5 Avaliação ultrassonográfica

A avaliação ultrassonográfica transretal foi realizada utilizando o aparelho Z5VET® (Mindray Medical 201 International Limited, Nanshan, Shenzhen, China) equipado com um transdutor linear (6–8 MHz). No 22º dia após a IATF, foi realizado o diagnóstico gestacional (DG) superprecoce por ultrassonografia Doppler, com avaliação da vascularização do CL, de acordo com o método descrito por Pugliesi (2017) [50]. Fêmeas consideradas possivelmente prenhes apresentaram escores entre 2 e 4 (>25% da área do CL vascularizada), enquanto aquelas com escores entre 0 e 1 (\leq 25% da área do CL vascularizada) foram classificadas como vazias, conforme demonstrado na figura 13. Nessa mesma ocasião, também foram mensurados o diâmetro e o volume do CL.

No 30º e 85º dia após a IATF, o diagnóstico gestacional foi confirmado em todas as fêmeas previamente classificadas como possivelmente prenhes, por meio de ultrassonografia em modo brilho (B). A presença de vesícula embrionária e embrião viável foi utilizada como critério para a confirmação da gestação. No 30º dia, também foram realizadas a mensuração do diâmetro embrionário, da vesícula embrionária e do CL, bem como o escore e a % de vascularização do CL. O diâmetro da vesícula embrionária foi mensurado transversalmente, considerando a maior distância entre as bordas internas do conteúdo anecoico visível no útero, enquanto o diâmetro do embrião foi mensurado como a maior distância entre os extremos do embrião visível dentro da vesícula. No 85º dia, além das mesmas avaliações do CL, foi determinada a taxa de perdas gestacionais, calculada pela razão entre o número com diagnóstico gestacional positivo aos 85 dias e aqueles com diagnóstico gestacional positivo aos 22 dias.

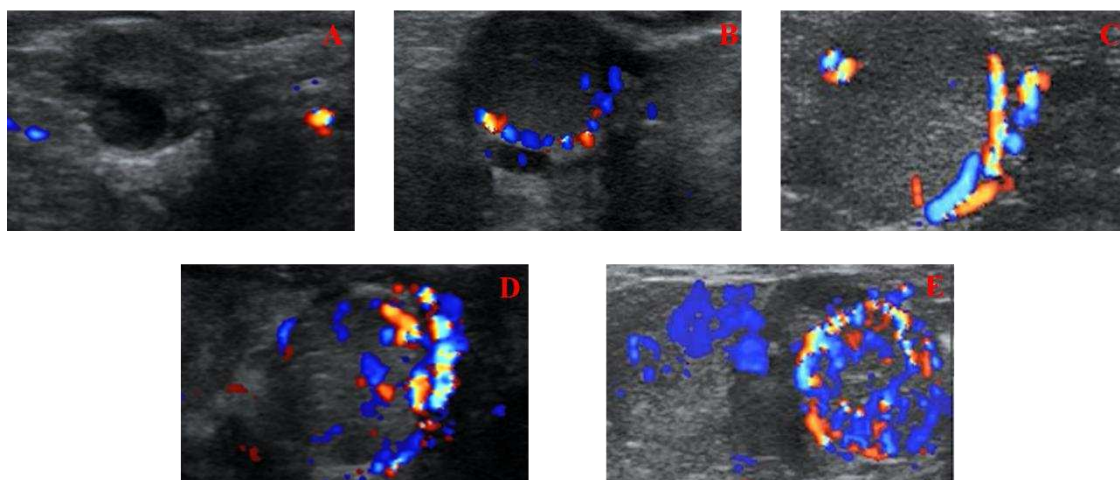


Figura 13. Avaliação da vascularização do CL por meio da ultrassonografia Doppler. (A) Escore 0 = ausência de vascularização detectável (0% da área). (B) Escore 1 =

vascularização leve e periférica, abrangendo 1 a 25% da área. (C) Escore 2 = Vascularização moderada, abrangendo a periferia e tendendo ao centro, correspondendo de 25 a 50% da área. (D) Escore 3 = vascularização acentuada, abrangendo periferia e centro, compreendendo 50 a 75% da área vascularizada. (E) Escore 4 = vascularização intensa da região periférica e central, correspondendo de 75 a 100% da área. A avaliação considerou tanto a área periférica quanto central do CL, com um limite de detecção de 0,05 m/s. Animais com escores 0 e 1 foram consideradas não gestantes, enquanto escores 2, 3 e 4 indicam possível gestação.

2.6 Coleta de sangue

A coleta de sangue para avaliação dos níveis séricos de progesterona foi realizada em todos os animais nos dias -2 e 0 do protocolo de IATF, no primeiro dia da Resynch, no diagnóstico gestacional por ultrassonografia Doppler e na confirmação da gestação pela ultrassonografia modo B (14, 22 e 30 dias pós-IATF, respectivamente). No 30º dia, a coleta foi restrita aos animais dos grupos controle e tratado; nos demais dias, todas as fêmeas foram amostradas. As amostras de sangue foram obtidas por punção da veia jugular externa, utilizando tubos de 10 mL sem anticoagulante (Vacutainer Systems®; Becton Dickinson, São Paulo, SP, Brasil). Após a coleta, permaneceram refrigeradas por 24 horas e, em seguida, foram centrifugadas a 2.200 x g por 10 minutos para separação do soro. O soro foi transferido para microtubos tipo Eppendorf de 1,5 mL com auxílio de pipetas de Pasteur, totalizando 510 amostras, que foram armazenadas a -20 °C até a análise. A concentração sérica de progesterona foi determinada por radioimunoensaio (RIA) utilizando um kit comercial (Immunotech®, Praga, República Tcheca) no Laboratório de Dosagem Hormonal da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense (UFF, Niterói, Rio de Janeiro, Brasil). Os coeficientes de variação intra e interensaio foram de 11% e 4,8%, respectivamente, com sensibilidade analítica de 0,04 ng/mL.

2.7 Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando o software SAS System, empregando o procedimento REG para ajustar o modelo de regressão linear, com o objetivo de avaliar os fatores que influenciam o diâmetro do embrião, tendo como variável independente o diâmetro do CL.

Para investigar a concentração de progesterona em função do dia do tratamento, considerando as perdas gestacionais e a suplementação de progesterona, foi utilizado o procedimento Mixed para medidas repetidas. O modelo de efeitos mistos foi ajustado por meio do método REML, adotando uma estrutura de covariância adequada para representar a variabilidade entre os indivíduos. Os efeitos fixos foram avaliados com base no erro padrão, e os graus de liberdade foram calculados pelo método Between-Within.

Para avaliar o diâmetro do embrião e da vesícula embrionária (âmnio) em função da perda gestacional também foi analisado pelo procedimento MIXED, com ajuste do modelo de efeitos mistos pelo método REML, considerando a estrutura de covariância entre os indivíduos, avaliação dos efeitos fixos pelo erro padrão e determinação dos graus de liberdade pelo método residual.

A análise de correlação foi conduzida utilizando o procedimento CORR para avaliar as relações entre o dia do tratamento e outras variáveis do estudo. Foram avaliadas as associações entre a concentração de progesterona, diâmetro do CL, do embrião e da vesícula embrionária, percentual e escore de vascularização do CL e taxa de perda gestacional. O método utilizado foi a correlação de Pearson, empregando o coeficiente de correlação (R) para determinar a força e a direção das associações entre as variáveis.

Adicionalmente, foram realizados testes de média para as variáveis diâmetro do embrião e da vesícula embrionária, concentração de progesterona e taxa de perda gestacional e manutenção da gestação, nos grupos tratado e controle, além disso o efeito touro foi utilizado como covariável na análise estatística.

Diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p \leq 0,05$, e tendências foram identificadas para valores de $0,05 < p \leq 0,10$.

3. RESULTADOS

A figura 14 ilustra a variação na concentração de progesterona (ng/mL) com relação aos tratamentos, perda embrionária, e dias, e a sua interação. Foi observada uma diferença estatística entre os dias avaliados ($P < 0,01$) em todos os animais avaliados, mas não diferiu entre os tratamentos. As concentrações nos dias -2 e 0 foram semelhantes, enquanto no dia 14 houve um aumento expressivo em relação aos dias -2 e 0, mas sem distinção estatística em comparação ao dia 22. No dia 22, os valores diferiram dos dias -2 e 0, porém permaneceram equivalentes aos do dia 14. Já no dia 30, os valores diferiram dos dias -2,0 e 14, porém foram semelhantes ao dia 22. Na primeira coleta de sangue (D-2), a concentração média de progesterona foi de $4,5 \pm 3,4$ ng/mL, reduzindo para $1,3 \pm$

3,2 ng/mL no D0. A partir do D14, observou-se um aumento significativo para $34,3 \pm 3,2$ ng/mL, seguido por uma leve redução no D22, atingindo $30,5 \pm 3,2$ ng/mL.

Não foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos controle (CT) e tratado (TRAT) ($p = 0,55$), nem entre os animais que mantiveram a gestação (-) e aqueles que apresentaram perdas gestacionais (+) ($p = 0,53$). No dia -2, as concentrações de progesterona foram de $5,5 \pm 2,5$ ng/mL para o grupo TRAT-, $4,9 \pm 2,8$ ng/mL para o grupo CT-, $3,9 \pm 10$ ng/mL para o grupo TRAT+ e $3,5 \pm 8,2$ ng/mL para o grupo CT+. No dia 0, os valores foram de $1,5 \pm 2,5$ ng/mL para TRAT-, $1,4 \pm 2,9$ ng/mL para CT-, $0,8 \pm 10$ ng/mL para TRAT+ e $1,4 \pm 7,1$ ng/mL para CT+. No dia 14, houve um aumento nas concentrações, registrando-se $40,6 \pm 2,5$ ng/mL para TRAT-, $25,2 \pm 2,8$ ng/mL para CT-, $29,5 \pm 10$ ng/mL para TRAT+ e $41,7 \pm 7,1$ ng/mL para CT+. No dia 22, as concentrações foram de $28 \pm 2,5$ ng/mL para TRAT-, $25,6 \pm 2,8$ ng/mL para CT-, $38,2 \pm 10$ ng/mL para TRAT+ e $30,3 \pm 7,1$ ng/mL para CT+. Por fim, no dia 30, os valores registrados foram de $25,4 \pm 2,5$ ng/mL para TRAT-, $21,3 \pm 2,8$ ng/mL para CT-, $23,8 \pm 10$ ng/mL para TRAT+ e $24,2 \pm 7,1$ ng/mL para CT+.

Além disso, não houve diferença estatística nas interações entre o dia do tratamento, o grupo experimental e a ocorrência de perdas gestacionais ($p \geq 0,35$). Todas as perdas gestacionais ocorrem entre os dias 30 e 85 após a IATF, não havendo registros entre os dias 22 e 30.

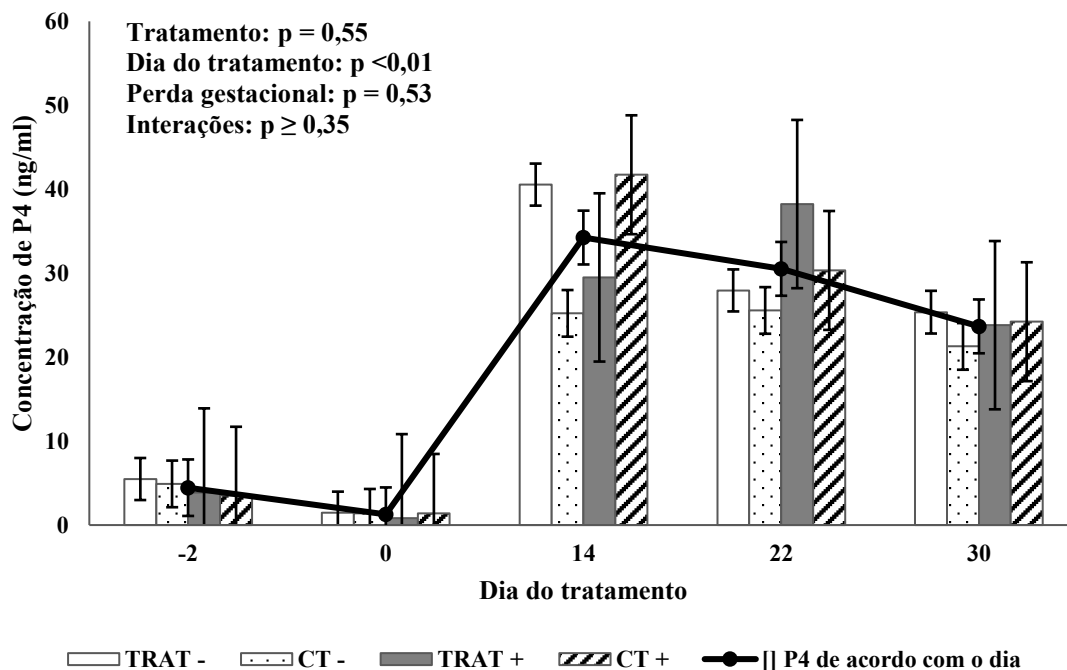


Figura 14. Concentração de progesterona (ng/mL) ao longo do tratamento dos dias -2, 0, 14, 22 e 30, considerando as perdas gestacionais e a suplementação de progesterona. As barras brancas representam a média dos animais que mantiveram a gestação. A barra pontilhada indica a média dos animais do grupo controle que mantiveram a gestação. As barras cinzas indicam a média dos animais do grupo tratado que apresentaram perdas gestacionais. As barras tracejadas indicam a média dos animais do grupo controle que tiveram perdas gestacionais. A linha sólida representa a média geral da concentração de progesterona nos diferentes dias de tratamento. As linhas de preenchimento indicam o erro padrão da média.

A figura 15 ilustra o diâmetro da vesícula do embrião (mm) em relação à ocorrência de perda gestacional (- ou +). Foi observada uma tendência ($p = 0,07$) para o diâmetro da vesícula dos embriões, sendo maior em vacas que mantiveram a gestação em comparação aos embriões das vacas que sofreram perda gestacional ($10,24 \pm 0,27$ mm vs. $8,49 \pm 0,89$ mm). Adicionalmente, a concentração de progesterona foi de $17,92 \pm 0,84$ ng/mL nos animais que mantiveram a gestação e $19,74 \pm 2,78$ ng/mL nos animais que apresentaram perda gestacional, sem diferença estatística entre os grupos ($p = 0,53$).

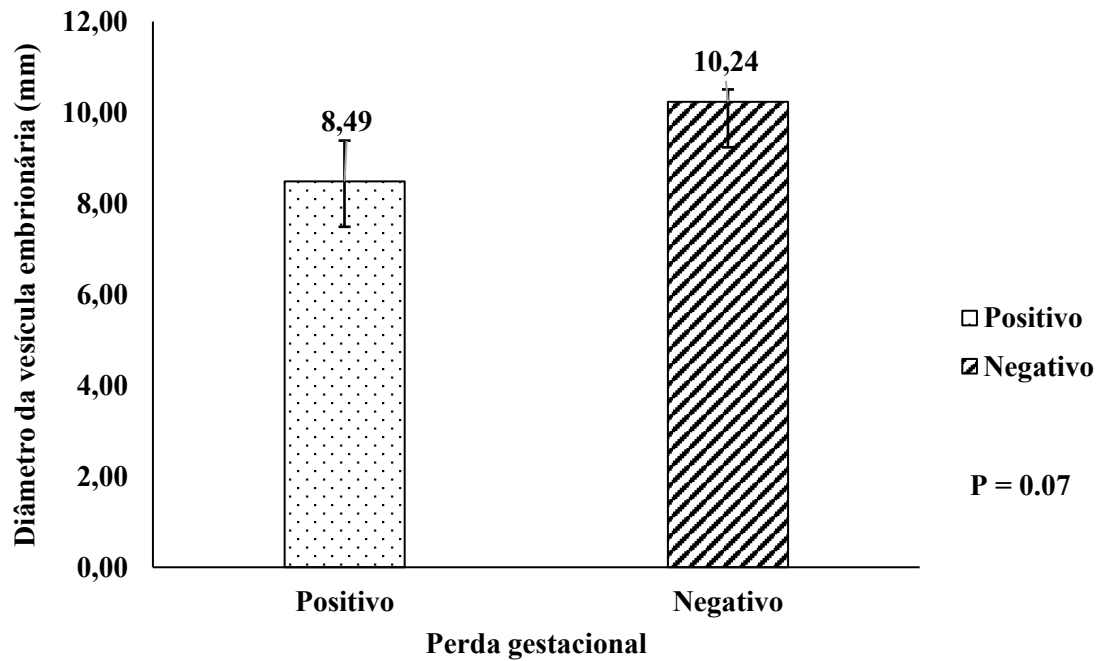


Figura 15. Diâmetro da vesícula embrionária (mm) em função da perda gestacional. A barra pontilhada representa a média dos animais que tiveram perdas gestacionais (n = 6), enquanto a barra tracejada indica a média dos animais que mantiveram a gestação (n = 60). As linhas de preenchimento indicam o erro padrão da média.

A figura 16 representa a relação entre o diâmetro do embrião (mm) e o diâmetro do CL (mm). Observou-se uma relação positiva entre essas variáveis ($p < 0,01$), indicando que o tamanho do CL pode influenciar o desenvolvimento embrionário. No entanto, a regressão linear apresentou uma associação fraca a moderada, sugerindo que outros fatores além do tamanho do CL influenciam o diâmetro embrionário ($R^2 = 0,25$).

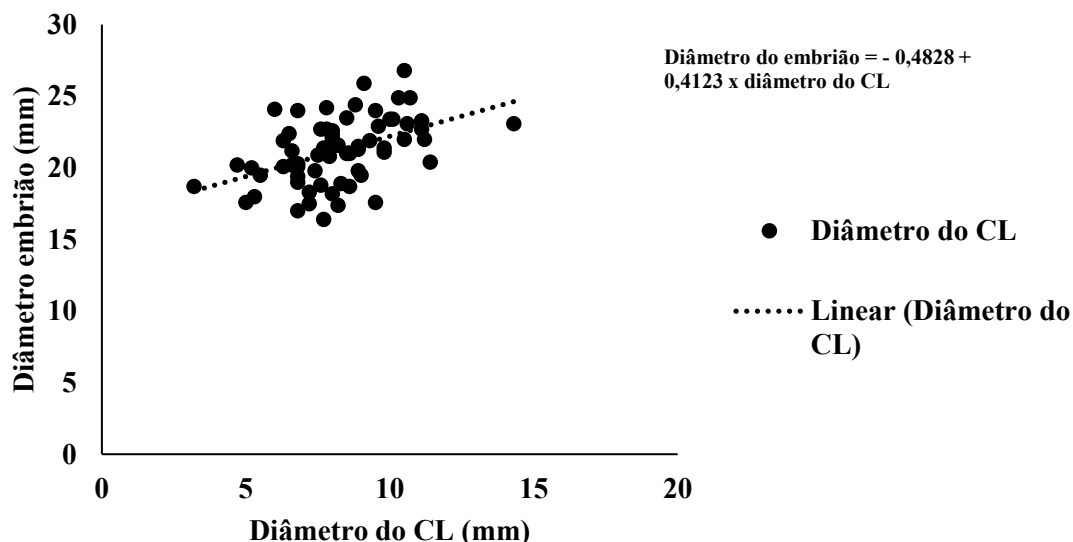


Figura 16. Relação entre a o diâmetro do CL (mm) e o diâmetro do embrião (mm). A análise demonstra que existe correlação entre as duas variáveis ($p < 0,05$), com um coeficiente de determinação (r^2) de 0,25, indicando moderada associação. A figura indica que quanto maior o diâmetro do CL, o diâmetro do embrião tende a ser maior, evidenciado pela linha de tendência (tracejada). As esferas representam o diâmetro do CL de cada animal.

Com base na tabela 2, não foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos tratado (TRAT) e controle (CT) para nenhuma das variáveis avaliadas. A taxa de manutenção da gestação foi de $94,12\% \pm 4$ no grupo TRAT e $86,67\% \pm 6,2$ no grupo CT ($p = 0,32$), enquanto a taxa de perda gestacional foi de $5,88\% \pm 4$ e $13,33\% \pm 6,2$, respectivamente ($p = 0,32$). A concentração de progesterona não diferiu entre os grupos, com valores médios de $19,71 \text{ ng/mL} \pm 2,32$ no grupo TRAT e $17,96 \text{ ng/mL} \pm 1,75$ no grupo CT ($p = 0,55$). O diâmetro do embrião foi de $8,44 \text{ mm} \pm 0,69$ no grupo TRAT e $7,53 \text{ mm} \pm 0,51$ no grupo CT ($p = 0,30$), enquanto o diâmetro da vesícula embrionária foi de $10 \text{ mm} \pm 0,75$ no grupo TRAT e $8,72 \text{ mm} \pm 0,56$ no grupo CT ($p = 0,17$), sem apresentar diferença estatística entre os grupos.

Tabela 2. Comparação entre os grupos tratado (TRAT) e controle (CT) para manutenção da gestação (%), perda gestacional (%), concentração de progesterona (ng/mL), diâmetro do embrião (mm) e diâmetro da vesícula embrionária (mm) (média \pm erro padrão da média). Valores de p inferiores a 0,05 indicam diferenças estatísticas.

	TRAT	CT	P valor
Manutenção da gestação (%)	94,12 ± 4	86,67 ± 6,2	0,32
Perda gestacional (%)	5,88 ± 4	13,33 ± 6,2	0,32
Progesterona (ng/ml)	19,71 ± 2,32	17,96 ± 1,75	0,55
Embrião (mm)	8,44 ± 0,69	7,53 ± 0,51	0,3
Vesícula embrionária (mm)	10 ± 0,75	8,72 ± 0,56	0,17

Os resultados das análises de correlação estão apresentados na tabela 3. O diâmetro embrião correlacionou-se positivamente tanto com o diâmetro do CL ($R = 0,50$; $p < 0,01$), quanto com o diâmetro da vesícula embrionária ($R = 0,89$; $p < 0,01$). Além disso, o diâmetro da vesícula embrionária demonstrou correlação positiva com o diâmetro do CL ($R = 0,43$; $p < 0,01$), e correlação negativa com a perda gestacional ($R = -0,30$; $p = 0,02$).

No dia 85, o diâmetro do CL apresentou correlação negativa com a perda gestacional ($R = -0,44$; $p < 0,01$). Além disso, o escore de vascularização do CL teve correlação negativa com a perda gestacional ($R = -0,49$; $p < 0,01$).

Tabela 3. Correlação de Pearson entre o dia do tratamento (D30 e D85) e as variáveis 1 e 2. A tabela apresenta os valores de correlação (R) e seus respectivos p-valores. Valores de p menores que 0,05 indicam correlação significativa, enquanto valores de p entre 0,05 e 0,1 sugerem tendência. Valores R próximos de 0 indicam fraca ou nenhuma correlação, enquanto valores próximos de 1 ou -1 indicam uma forte correlação positiva ou negativa, respectivamente.

Dia	Variável 1	Variável 2	R	P-valor
D30	Diâmetro do embrião	Diâmetro CL	0,50	<0,01
D30	Diâmetro vesícula embrionária	Perda gestacional	-0,30	0,02
D30	Diâmetro vesícula embrionária	Diâmetro CL	0,43	<0,01
D30	Diâmetro do embrião	Diâmetro vesícula embrionária	0,89	<0,01
D85	Diâmetro CL	Perda gestacional	-0,44	<0,01

D85	Escore de vascularização CL	Perda gestacional	-0,49	<0,01
-----	-----------------------------	-------------------	-------	-------

4. DISCUSSÃO

A concentração de progesterona se encontrou acima dos níveis fisiológicos durante todo o período experimental, apresentando diferença estatística apenas quanto ao dia do tratamento. No dia -2, logo após a retirada do dispositivo intravaginal de progesterona, apresentou-se em $4,5 \pm 3,4$ ng/mL, reduzindo para $1,3 \pm 3,2$ ng/mL no dia 0 (dia da IATF), sendo esperada essa redução [51][52][53]. A concentração elevada no dia -2 deve-se principalmente à liberação de progesterona pelo dispositivo, já que a aplicação de PGF2 α no dia -10 provocou a lise do CL, na maior parte dos animais [54], [55], [56]. Entretanto, em fêmeas no início do diestro, até cinco dias após a ovulação, ainda não há expressão de receptores de PGF2 α nas células luteínicas, nesses animais, o CL permaneceu funcional até o dia -2. A manutenção dos níveis elevados de progesterona é essencial para mimetizar o diestro, regulando a maturação do oócito [57], e inibindo a secreção de gonadotrofinas, o que permite que um folículo mais competente, se torne o dominante [58]. A queda na concentração hormonal no dia 0, causada pela retirada do implante e aplicação da segunda dose de prostaglandina, marca a transição para o proestro, com redução de progesterona e aumento do estrógeno. [59]. Essa inversão hormonal estimula a secreção de FSH e LH, promovendo o desenvolvimento final do folículo dominante [60], a maturação do oócito [61] preparação do útero para a gestação. [62].

Entre o D0 e o D14, a concentração de progesterona aumentou significativamente de $1,3 \pm 3,2$ ng/mL para $34,3 \pm 3,2$ ng/mL, devido à produção endógena pelo CL, já que o dispositivo intravaginal foi inserido após a coleta de sangue. Esses níveis elevados de progesterona são essenciais para o desenvolvimento embrionário inicial, pois reduzem a contratilidade uterina, facilitando a permanência e implantação do embrião [63]. Além disso, a progesterona estimula a secreção de proteínas pelas glândulas endometriais, como a proteína do leite uterino (UTMP) [64] e a osteopontina (OPN)[65], que são fundamentais para a nutrição e fixação do embrião. Ela também modula o sistema imunológico, diminuindo a migração de leucócitos para o útero[66].

No dia 22, a concentração de progesterona caiu para $30,5 \pm 3,2$ ng/mL, apesar da suplementação com o dispositivo intravaginal. Esse decréscimo provavelmente ocorreu devido à menor produção de progesterona pelo CL, já que os altos níveis hormonais reduzem os pulsos de LH, [67], hormônio essencial para estimular a esteroidogênese [68]. O LH aumenta a síntese de RNAm que codifica enzimas como 3 β -HSD, StAR e

Citocromo P450_{scc}, fundamentais para a produção de progesterona. [69]. Apesar da redução, os níveis de progesterona permaneceram acima dos basais, garantindo suporte ao desenvolvimento embrionário e ao reconhecimento materno da gestação [70].

A concentração de progesterona não diferiu entre os grupos controle e tratado, provavelmente devido ao leve aumento na concentração sérica de progesterona promovida pelo dispositivo intravaginal (1,75 ng/mL), o qual pode ter exercido um efeito local no trato reprodutivo, sem impactar significativamente a circulação sistêmica [71]. Além disso, não houve diferença estatística na concentração de progesterona entre os animais que mantiveram a gestação e aqueles que apresentaram perdas gestacionais, uma vez que todos os animais apresentaram um CL viável até o 30 dia de gestação, confirmado pela presença do embrião viável no útero e no fluxo sanguíneo luteal [72], [73]

O maior diâmetro da vesícula embrionária em animais que mantiveram a gestação é esperado, uma vez que o desenvolvimento da vesícula está associado com o desenvolvimento do embrião, por sua vez embriões maiores são mais eficientes na síntese de proteínas associadas à manutenção da gestação [74], especialmente o interferon tau, proteína fundamental para o reconhecimento materno da gestação [75], [76]. O interferon tau é estimulado pela progesterona e atua inibindo a enzima COX-2, reduzindo a conversão do ácido araquidônico em PGF_{2α} [77]. Além disso modula a expressão gênica de enzimas (COX - 2 e fosfolipase A₂) e receptores (estrógeno e ocitocina) envolvidos na síntese da PGF_{2α} [78]. Também estimula a síntese de prostaglandina E₂ (PGE₂), que aumenta o fluxo sanguíneo intraovariano, favorecendo a proliferação celular no CL, e o transporte de colesterol para a produção de progesterona [79]. Além do interferon tau, o embrião produz outros fatores essenciais para a manutenção da gestação, incluindo fatores imunossupressores e de crescimento, como o fator precoce de gestação (FPF), que suprime a ação de linfócitos B e T e atua como fator de crescimento [80]. Outro fator importante é o fator ativador de plaquetas (PAF), produzido logo após a ovulação, auxiliando no transporte do embrião pelo oviduto e estimulando a síntese de serotonina, que por sua vez promove a secreção de progesterona pelo CL [81]. As proteínas de choque térmico (HSP) também desempenham um papel fundamental, sendo produzidas pelo embrião a partir do terceiro dia de gestação, com maior expressão após o 16º dia. Essas proteínas protegem o embrião contra o estresse térmico [82], [83]. No entanto, a exposição a estímulos crônicos pode levar à produção excessiva dessas proteínas, causando danos embrionários [84].

Não houve diferença estatística entre na concentração de progesterona entre os animais que mantiveram a gestação e aqueles que apresentaram perdas gestacionais ($17,92 \pm 0,84$ ng/mL vs. $19,74 \pm 2,78$ ng/mL). Esses resultados sugerem que outros fatores, além da progesterona, como o estresse [85], podem estar associados às perdas gestacionais.

Foi observada uma correlação entre o diâmetro do CL e o diâmetro embrionário, sendo que a progesterona é um dos principais agentes relacionados ao desenvolvimento embrionário [86], [87]. No entanto, não houve associação significativa entre a concentração plasmática de progesterona e o diâmetro embrionário ($p = 0,59$). Duas hipóteses podem explicar esses resultados: a primeira é que existem outros fatores, produzidos pelo CL, além da progesterona, que influenciam o desenvolvimento embrionário. Dentre esses fatores temos o estradiol que atua na remodelação endometrial e na implantação embrionária [88]; a prostaglandina E2, que possui ação luteotrófica e contribui para a vascularização, favorecendo o aporte nutricional ao embrião e ao CL [89],[90]; o fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1), que estimula a proliferação celular, aumenta a taxa mitótica, regula a apoptose e modula o metabolismo celular [91]; o fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF), promove a angiogênese, garantindo o aporte adequado de nutrientes e oxigênio ao embrião e ao CL, além de estimular a síntese de hormônios esteroides [92]; o fator de crescimento transformador beta (TGF- β), que modula a resposta imunológica uterina, criando um ambiente mais tolerante ao embrião em desenvolvimento [93], [94]; e a relaxina, que contribui para a manutenção da quiescência miometrial [95]. A segunda hipótese é que a progesterona suplementada pelo dispositivo intravaginal pode ter exercido efeito local, possivelmente mediada pela rede vascular que conecta o trato reprodutivo [96], sem provocar alterações significativas nas concentrações sistêmicas de progesterona.

Em relação as perdas gestacionais, embora não tenha sido observada diferença estatística entre os grupos, numericamente os valores entre os grupos são relevantes do ponto de vista econômico. Os resultados dos estudos sobre a suplementação de progesterona são controversos e podem variar em função de diversos fatores, como a raça (*Bos taurus* ou *Bos indicus*), a categoria animal (novilhas ou vacas), o método de administração da progesterona (injetável, auricular ou intravaginal), o momento da suplementação em relação à IATF, o status reprodutivo (anestro ou ciclando) e o número de animais do estudo [97], [98]. Em um estudo com vacas leiteiras, a suplementação de progesterona por meio de um dispositivo intravaginal, entre os dias 62 e 90 pós-IATF,

resultou em uma taxa de perda gestacional de 8,7%, sendo 12% no grupo controle e 5,3% no grupo tratado [99]. Outro estudo, também em vacas leiteiras, demonstrou que a suplementação com progesterona por dispositivo intravaginal entre os dias 4,5 e 11,5 pós-IATF reduziu as perdas gestacionais, com taxas de 6,1% no grupo tratado e 11,4% no grupo controle, entre 32 e 60 dias de gestação [100]. Em novilhas submetidas à transferência de embriões, a suplementação com progesterona entre os dias 7 e 19 pós-ovulação não apresentou diferença estatística na taxa de prenhez entre os grupos, embora a concentração de progesterona tenha tendido a ser menor no grupo controle em comparação ao grupo tratado [101]. Já em um estudo com vacas de corte, a suplementação de progesterona através da aplicação injetável, administrada no 5º ou 11º dia pós-IATF, resultou em maiores taxas de prenhez nos grupos tratados em comparação ao grupo controle (47% e 39%, respectivamente), sem diferença significativa entre os dias de administração. Além disso, houve diferença nas perdas gestacionais entre 30 e 60 dias e nas perdas totais entre os grupos tratados em relação ao controle, mas não entre os grupos tratados em relação às perdas entre 60 e 90 dias [102].

A alta correlação positiva entre o diâmetro do embrião e da vesícula embrionária aos 30 dias de gestação era esperada, considerando a associação fisiológica entre essas estruturas. A vesícula embrionária está relacionada ao âmnio [103], estrutura essencial para a proteção e nutrição do embrião em desenvolvimento [104], [105]. O desenvolvimento sincronizado do embrião e da vesícula é fundamental para a manutenção da gestação. Além disso, foi observada uma correlação positiva entre o diâmetro do embrião e da vesícula embrionária com o diâmetro do CL, evidenciando a importância de fatores produzidos por essa glândula transitória, como progesterona, prostaglandina E₂, relaxina e estradiol, no desenvolvimento embrionário [106], [107], [108], [109], [110]. A taxa de perda gestacional apresentou correlação negativa com o diâmetro da vesícula embrionária, o que pode ser atribuído a falhas no mecanismo de reconhecimento materno da gestação [111]. Vesículas menores estão associadas a embriões menores, que, por sua vez, têm menor capacidade de produzir interferon-tau. Essa redução na sinalização anti-luteolítica aumenta o risco de luteólise e, conseqüentemente, de perda gestacional [112], [113]. Além disso, a vesícula embrionária é responsável pelo fornecimento de nutrientes ao embrião. Alterações em seu crescimento podem comprometer o aporte energético necessário ao desenvolvimento embrionário, elevando o risco de falhas gestacionais [114], [115]. Por fim, tanto o diâmetro do CL quanto sua vascularização apresentaram correlação negativa com as perdas gestacionais, uma vez que esses parâmetros estão

diretamente ligados à capacidade esteroidogênica da glândula, afetando positivamente o desenvolvimento embrionário e a manutenção da gestação[116], [117], [118], [119], [120].

5. CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo demonstram que a suplementação de progesterona durante 8 dias (do 14º ao 22º dia pós-IATF) e 16 dias (do 14º ao 30º dia pós-IATF) não possui efeito sobre a manutenção da gestação, porém pode impactar positivamente a rentabilidade da propriedade. A relação entre o diâmetro do CL e o desenvolvimento embrionário destaca a importância da funcionalidade luteal na reprodução bovina, enquanto a vascularização do CL se apresenta como um fator potencial na redução de perdas gestacionais. Estudos adicionais em rebanhos maiores e por maior período são desejáveis para uma melhor aferência quanto aos efeitos da suplementação de P4 em vacas de corte.

REFERÊNCIAS

- [1] Mercadante, V.R.G., Dias, N.W., Timlin, C.L., Pancini, S., 2020. Economic consequences of pregnancy loss in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 98 (Suppl. 4), 124. <https://doi.org/10.1093/jas/skaa278.226>
- [2] Beskow A, Gregory RM, Rocha DC. Mortalidade embrionária em bovinos de leite. Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Faculdade de Veterinária. 2009;1-32.
- [3] Abdalla H, Elghafghuf A, Elsohaby I, Nasr MAF. Maternal and non-maternal factors associated with late embryonic and early fetal losses in dairy cows. *Theriogenology* 2017;100:16–23. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2017.04.005>.
- [4] Silke V, Diskin MG, Kenny DA, Boland MP, Mee JF, Sreenan JM. Extent, pattern and factors associated with late embryonic loss in dairy cows. *Anim Reprod Sci* 2002;71:1–12. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(02\)00016-7](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(02)00016-7).
- [5] Robinson RS, Hammond AJ, Wathes DC, Hunter MG, Mann GE. Corpus luteum-endometrium-embryo interactions in the dairy cow: underlying mechanisms and clinical relevance. *Reprod Domest Anim.* 2008;43(Suppl 2):104-112. doi:10.1111/j.1439-0531.2008.01149.x.
- [6] Reese ST, Franco GA, Poole RK, Hood R, Fernandez Montero L, Oliveira Filho R V., et al. Pregnancy loss in beef cattle: A meta-analysis. *Anim Reprod Sci* 2020;212:106251. <https://doi.org/10.1016/J.ANIREPROSCI.2019.106251>.

- [7] Hafez ESE, Hafez, B. *Reproduction in Farm Animals*. 7th ed. Philadelphia: Lea & Febiger; 2004. Capítulo 9, Reproductive failure in female; p. 261.
- [8] Wiltbank MC, Baez GM, Garcia-Guerra A, Toledo MZ, Monteiro PLJ, Melo LF, et al. Pivotal periods for pregnancy loss during the first trimester of gestation in lactating dairy cows. *Theriogenology* 2016;86:239–53. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2016.04.037>.
- [9] Peters MW, Pursley JR. Timing of final GnRH of the Ovsynch protocol affects ovulatory follicle size, subsequent luteal function, and fertility in dairy cows. *Theriogenology* 2003;60:1197–204. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(03\)00120-1](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(03)00120-1).
- [10] Pfeifer LFM, Mapletoft RJ, Kastelic JP, Small JA, Adams GP, Dionello NJ, et al. Effects of low versus physiologic plasma progesterone concentrations on ovarian follicular development and fertility in beef cattle. *Theriogenology* 2009;72:1237–50. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2009.07.019>.
- [11] Lonergan P. Influence of progesterone on oocyte quality and embryo development in cows. *Theriogenology* 2011;76:1594–601. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2011.06.012>.
- [12] López-Gatius F, Santolaria P, Yániz J, Rutllant J, López-Béjar M. Factors affecting pregnancy loss from gestation day 38 to 90 in lactating dairy cows from a single herd. *Anim Reprod Sci*. 2002;57:125-131. doi:10.1016/S0378-4320(99)00012-9.
- [13] D’Occhio MJ, Baruselli PS, Campanile G. Influence of nutrition, body condition, and metabolic status on reproduction in female beef cattle: A review. *Theriogenology* 2019;125:277–84. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2018.11.010>.
- [14] Lucy MC, Garverick HA, Spiers DE. Management Induced Stress in Dairy Cattle: Effects on Reproduction. *Encyclopedia of Dairy Sciences: Third Edition* 2022;1:913–9. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818766-1.00221-X>.
- [15] Rhoads ML. Review: Reproductive consequences of whole-body adaptations of dairy cattle to heat stress. *Animal* 2023;17:100847. <https://doi.org/10.1016/J.ANIMAL.2023.100847>.
- [16] Nanas I, Chouzouris TM, Dovolou E, Dadouli K, Stamperna K, Kateri I, et al. Early embryo losses, progesterone and pregnancy associated glycoproteins levels during summer heat stress in dairy cows. *J Therm Biol* 2021;98:102951. <https://doi.org/10.1016/J.JTHERBIO.2021.102951>.
- [17] Ferreira AM. *Reprodução da fêmea bovina*. 1st ed. Valença – RJ: Editora Editar; 2010. Capítulo 9, Gestation; p. 376.

- [18] Thatcher WW, Bartol FF, Knickerbocker JJ, Curl JS, Wolfenson D, Bazer FW, et al. Maternal Recognition of Pregnancy in Cattle. *J Dairy Sci* 1984;67:2797–811. [https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302\(84\)81636-7](https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302(84)81636-7).
- [19] Lonergan P, Forde N. Maternal-embryo interaction leading up to the initiation of implantation of pregnancy in cattle. *Animal* 2014;8:64–9. <https://doi.org/10.1017/S1751731114000470>.
- [20] Dalmaso de Melo G, Mello BP, Ferreira CA, Souto Godoy Filho CA, Rocha CC, Silva AG, et al. Applied use of interferon-tau stimulated genes expression in polymorphonuclear cells to detect pregnancy compared to other early predictors in beef cattle. *Theriogenology* 2020;152:94–105. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2020.04.001>.
- [21] Kerbler TL, Buhr MM, Jordan LT, Leslie KE, Walton JS. Relationship between maternal plasma progesterone concentration and interferon-tau synthesis by the conceptus in cattle. *Theriogenology* 1997;47:703–14. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(97\)00028-9](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(97)00028-9).
- [22] Wiltbank MC, Monteiro PLJ, Domingues RR, Andrade JPN, Mezera MA. Review: Maintenance of the ruminant corpus luteum during pregnancy: interferon-tau and beyond. *Animal* 2023;17:100827. <https://doi.org/10.1016/J.ANIMAL.2023.100827>.
- [23] Thatcher WW, Guzeloglu A, Mattos R, Binelli M, Hansen TR, Pru JK. Uterine-conceptus interactions and reproductive failure in cattle. *Theriogenology* 2001;56:1435–50. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00645-8](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00645-8).
- [24] Zhang L, Zhao S, Yu G. Early pregnancy modulates the expression of interferon-stimulated genes, progesterone receptors, and progesterone-induced blocking factor in ovine duodenum. *Small Rumin Res.* 2024;237:107323. doi:10.2139/ssrn.4815338.
- [25] Boruszewska D, Grycmacher K, Kowalczyk-Zieba I, Sinderewicz E, Staszkiwicz-Chodor J, Woclawek-Potocka I. Expression of enzymes involved in the synthesis of prostaglandin E2 in early- and late-cleaved bovine embryos at different stages of preimplantation development. *Theriogenology* 2019;133:45–55. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2019.04.032>.
- [26] Koch E, Ellendorff F. Detection of early pregnancy factor activity in farm animals. In: Ellendorff F, Koch E, editors. *Early pregnancy factors*. Ithaca, NY: Perinatology Press; 1985. p. 237-257.
- [27] Morton H. EPF as a pregnancy protein. In: Ellendorff F, Koch E, editors. *Early pregnancy factors*. Ithaca, NY: Perinatology Press; 1985. p. 53-64.

- [28] Stock AE, Axtell R, Jones H, Jones G, Hansel W. Evaluation of human and bovine embryos by measurements of PAF in the culture medium. *Theriogenology* 1990;33:332. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(90\)90756-J](https://doi.org/10.1016/0093-691X(90)90756-J).
- [29] Hansel W, Hickey GJ. Early pregnancy signals in domestic animals. *Ann N Y Acad Sci*. 1988;541:472-484. doi:10.1111/j.1749-6632.1988.tb22267.x.
- [30] Costa NP, Gonella-Diaza A, Pugliesi G, Cordeiro Maldonado MB, Scollari SC, Mello BP, et al. Effects of recombinant bovine somatotropin on pregnancy per artificial insemination, corpus luteum cellular composition and endometrial gland morphometry in beef cattle. *Theriogenology* 2020;141:180–5. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2019.09.023>.
- [31] El Azzi MS, Martins JPN, de Souza JC. Strategies to increase circulating progesterone in late metestrus and early diestrus in recipient dairy heifers and cows: A focus on induction of accessory corpus luteum formation. *Anim Reprod Sci* 2025;272:107652. <https://doi.org/10.1016/J.ANIREPROSCI.2024.107652>.
- [32] Robinson RS, Mann GE, Lamming GE, Wathes DC. Expression of oxytocin, oestrogen and progesterone receptors in uterine biopsy samples throughout the oestrous cycle and early pregnancy in cows. *Reproduction*. 2001;122(6):965-979. doi:10.1530/rep.0.1220965.
- [33] Abdalla H, Elghafghuf A, Hussein MA, Elsohaby I. Factors influencing pregnancy loss between days 30 and 70 in a single cattle herd: A comprehensive analysis of sire, cow, and other contributing factors. *Theriogenology* 2024;229:138–46. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2024.08.022>.
- [34] Martins T, Pugliesi G, Sponchiado M, Cardoso BO, da Silva KR, Celeghini ECC, et al. Supplementation with long-acting progesterone in early diestrus in beef cattle: II. Relationships between follicle growth dynamics and luteolysis. *Domest Anim Endocrinol* 2019;68:1–10. <https://doi.org/10.1016/J.DOMANIEND.2018.12.004>.
- [35] Tinning H, Edge JC, DeBem THC, Deligianni F, Giovanardi G, Pensabene V, et al. Review: Endometrial function in pregnancy establishment in cattle. *Animal* 2023;17:100751. <https://doi.org/10.1016/J.ANIMAL.2023.100751>.
- [36] Lonergan P. Influence of progesterone on oocyte quality and embryo development in cows. *Theriogenology* 2011;76:1594–601. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2011.06.012>.
- [37] Hazano K, Miki T, Goto A, Kayano M, Haneda S, Van Bui D, et al. Effects of the formation and regression of accessory corpus lutea during pregnancy on plasma

- progesterone concentration and pregnancy status in cross-bred beef heifers. *Anim Reprod Sci* 2021;232:106825. <https://doi.org/10.1016/J.ANIREPROSCI.2021.106825>.
- [38] El Azzi MS, Martins JPN, de Souza JC. Strategies to increase circulating progesterone in late metestrus and early diestrus in recipient dairy heifers and cows: A focus on induction of accessory corpus luteum formation. *Anim Reprod Sci* 2025;272:107652. <https://doi.org/10.1016/J.ANIREPROSCI.2024.107652>.
- [39] Lonergan P, Sánchez JM. Symposium review: Progesterone effects on early embryo development in cattle. *J Dairy Sci* 2020;103:8698–707. <https://doi.org/10.3168/JDS.2020-18583>.
- [40] Tinning H, Edge JC, DeBem THC, Deligianni F, Giovanardi G, Pensabene V, et al. Review: Endometrial function in pregnancy establishment in cattle. *Animal* 2023;17:100751. <https://doi.org/10.1016/J.ANIMAL.2023.100751>.
- [41] Couto SRB, Guerson YB, Ferreira JE, Silva OR, Silenciato LN, Barbero RP, et al. Impact of supplementation with long-acting progesterone on gestational loss in Nelore females submitted to TAI. *Theriogenology* 2019;125:168–72. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2018.10.032>.
- [42] Larson SF, Butler WR, Currie WB. Pregnancy rates in lactating dairy cattle following supplementation of progesterone after artificial insemination. *Anim Reprod Sci* 2007;102:172–9. <https://doi.org/10.1016/J.ANIREPROSCI.2007.02.023>.
- [43] López-Gatius F, Santolaria P, Yániz JL, Hunter RHF. Progesterone supplementation during the early fetal period reduces pregnancy loss in high-yielding dairy cattle. *Theriogenology* 2004;62:1529–35. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2004.02.005>.
- [44] Larson SF, Butler WR, Currie WB. Pregnancy rates in lactating dairy cattle following supplementation of progesterone after artificial insemination. *Anim Reprod Sci* 2007;102:172–9. <https://doi.org/10.1016/J.ANIREPROSCI.2007.02.023>.
- [45] Batista EOS, Cardoso BO, Oliveira ML, Cuadros FDC, Mello BP, Sponchiado M, et al. Supplemental progesterone induces temporal changes in luteal development and endometrial transcription in beef cattle. *Domest Anim Endocrinol* 2019;68:126–34. <https://doi.org/10.1016/J.DOMANIEND.2019.02.001>.
- [46] López-Gatius F, Santolaria P, Yániz JL, Hunter RHF. Progesterone supplementation during the early fetal period reduces pregnancy loss in high-yielding dairy cattle. *Theriogenology* 2004;62:1529–35. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2004.02.005>.

- [47] Maturana Filho M, Mello BP, Lemes KM, Gonçalves RL, Lollato JPM, Pugliesi G, et al. Effects of mineral and vitamin supplementation on pregnancy rates in Nelore cattle submitted to FTAI programs with different reactivity scores. *Livest Sci* 2024;279:105378. <https://doi.org/10.1016/J.LIVSCI.2023.105378>.
- [48] Sá Filho MF, Marques MO, Giroto R, Santos FA, Sala R V., Barbuio JP, et al. Resynchronization with unknown pregnancy status using progestin-based timed artificial insemination protocol in beef cattle. *Theriogenology* 2014;81:284–90. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2013.09.027>.
- [49] Nicholson MJ, Butterworth MH. A guide to zebu cattle body condition scoring. Addis Ababa (Ethiopia): International Livestock Centre for Africa; 1986.
- [50] Pugliesi G, Rezende RG, Da Silva JCB, Lopes E, Nishimura TK, Baruselli PS, et al. Uso da ultrassonografia Doppler em programas de IATF e TETF em bovinos. *Rev. Bras. Reprod. Anim* 2017; 41:140-50.
- [51] Dadarwal D, Mapletoft RJ, Adams GP, Pfeifer LFM, Creelman C, Singh J. Effect of progesterone concentration and duration of proestrus on fertility in beef cattle after fixed-time artificial insemination. *Theriogenology* 2013;79:859–66. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2013.01.003>.
- [52] Hill SL, Perry GA, Mercadante VRG, Lamb GC, Jaeger JR, Olson KC, et al. Altered progesterone concentrations by hormonal manipulations before a fixed-time artificial insemination CO-Synch + CIDR program in suckled beef cows. *Theriogenology* 2014;82:104–13. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2014.03.008>.
- [53] Sales JNS, Carvalho JBP, Crepaldi GA, Soares JG, Giroto RW, Maio JRG, et al. Effect of circulating progesterone concentration during synchronization for fixed-time artificial insemination on ovulation and fertility in *Bos indicus* (Nelore) beef cows. *Theriogenology* 2015;83:1093–100. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2014.12.009>.
- [54] Pfeifer LFM, Leonardi CEP, Castro NA, Viana JHM, Siqueira LGB, Castilho EM, et al. The use of PGF 2α as ovulatory stimulus for timed artificial insemination in cattle. *Theriogenology* 2014;81:689–95. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2013.11.016>.
- [55] Pfeifer LFM, Rodrigues WB, Casanova da Silva K, Anache NA, Castro NA, Castilho EM, et al. Different protocols using PGF 2α as ovulation inducer in Nelore cows subjected to estradiol-progesterone timed AI based protocols. *Theriogenology* 2018;120:56–60. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2018.06.030>.

- [56] Ratzburg K, Jorgensen-Muga K, Murugesan J, Kastelic J, Kasimanickam V, Kasimanickam R. Presynchronization with CIDR, with or without GnRH, prior to CO-Synch in beef heifers. *Theriogenology* 2020;146:80–7. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2020.02.005>.
- [57] Bao B, Wang J, Li Y, Feng F, Ji Z, Luoreng Z, et al. Molecular regulation mechanism of oocyte maturation in beef cattle. *Biocell* 2023;47:1509–18. <https://doi.org/10.32604/BIOCELL.2023.028646>.
- [58] Kindahl H, Lindell JO, Edqvist LE. On the control of prostaglandin release during the bovine estrous cycle. Effects of progesterone implants. *Prostaglandins* 1979;18:813–20. [https://doi.org/10.1016/0090-6980\(79\)90100-X](https://doi.org/10.1016/0090-6980(79)90100-X).
- [59] Bridges GA, Mussard ML, Burke CR, Day ML. Influence of the length of proestrus on fertility and endocrine function in female cattle. *Anim Reprod Sci* 2010;117:208–15. <https://doi.org/10.1016/J.ANIREPROSCI.2009.05.002>.
- [60] Martínez MF, Kastelic JP, Bó GA, Caccia M, Mapletoft RJ. Effects of oestradiol and some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. *Anim Reprod Sci* 2005;86:37–52. <https://doi.org/10.1016/J.ANIREPROSCI.2004.06.005>.
- [61] Ferreira AM. Reprodução da fêmea bovina. 1st ed. Valença – RJ: Editora Editar; 2010. Capítulo 9, Gestação em bovinos; p. 349.
- [62] Tschopp JC, Macagno AJ, Mapletoft RJ, Menchaca A, Bó GA. Effect of the addition of GnRH and a second prostaglandin F2 α treatment on pregnancy per artificial insemination in lactating dairy cows submitted to an estradiol/progesterone-based timed-AI protocol. *Theriogenology* 2022;188:63–70. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2022.05.019>.
- [63] Madoz L V., Rabaglino MB, Migliorisi AL, Jaureguiberry M, Perez Wallace S, Lorenti N, et al. Association between progesterone concentration and endometrial gene expression in dairy cows. *Domest Anim Endocrinol* 2021;74:106481. <https://doi.org/10.1016/J.DOMANIEND.2020.106481>.
- [64] Khatib H, Schutzkus V, Chang YM, Rosa GJM. Pattern of Expression of the Uterine Milk Protein Gene and its Association with Productive Life in Dairy Cattle. *J Dairy Sci* 2007;90:2427–33. <https://doi.org/10.3168/JDS.2006-722>.
- [65] Pandey S, Lakshmi Devi H, Bhat IA, Indu B, Bharti MK, Shabir U, et al. Expression profile of adhesion molecules in blastocyst vis-a-vis uterine epithelial cells.

Theriogenology 2021;170:36–45.
<https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2021.04.018>.

- [66] Lonergan P, Sánchez JM. Symposium review: Progesterone effects on early embryo development in cattle. *J Dairy Sci* 2020;103:8698–707. <https://doi.org/10.3168/JDS.2020-18583>.
- [67] Ginther OJ, Bashir ST, Hoffman MM, Beg MA. Endocrinology of number of follicular waves per estrous cycle and contralateral or ipsilateral relationship between corpus luteum and preovulatory follicle in heifers. *Domest Anim Endocrinol* 2013;45:64–71. <https://doi.org/10.1016/J.DOMANIEND.2013.05.002>.
- [68] Abreu FM, Coutinho da Silva MA, Cruppe LH, Mussard ML, Bridges GA, Harstine BR, et al. Role of progesterone concentrations during early follicular development in beef cattle: I. Characteristics of LH secretion and oocyte quality. *Anim Reprod Sci* 2018;196:59–68. <https://doi.org/10.1016/J.ANIREPROSCI.2018.06.020>.
- [69] Batista EOS, Cardoso BO, Oliveira ML, Cuadros FDC, Mello BP, Sponchiado M, et al. Supplemental progesterone induces temporal changes in luteal development and endometrial transcription in beef cattle. *Domest Anim Endocrinol* 2019;68:126–34. <https://doi.org/10.1016/J.DOMANIEND.2019.02.001>.
- [70] Lonergan P, Sánchez JM. Symposium review: Progesterone effects on early embryo development in cattle. *J Dairy Sci* 2020;103:8698–707. <https://doi.org/10.3168/JDS.2020-18583>.
- [71] Wiltbank MC, Souza AH, Carvalho PD, Cunha AP, Giordano JO, Fricke PM, et al. Physiological and practical effects of progesterone on reproduction in dairy cattle. *Animal* 2014;8:70–81. <https://doi.org/10.1017/S1751731114000585>.
- [72] Guimarães CRB, Oliveira ME, Rossi JR, Fernandes CAC, Viana JHM, Palhao MP. Corpus luteum blood flow evaluation on Day 21 to improve the management of embryo recipient herds. *Theriogenology* 2015;84:237–41. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2015.03.005>.
- [73] Pugliesi G, Guimarães da Silva A, Viana JHM, Siqueira LGB. Review: Current status of corpus luteum assessment by Doppler ultrasonography to diagnose non-pregnancy and select embryo recipients in cattle. *Animal* 2023;17:100752. <https://doi.org/10.1016/J.ANIMAL.2023.100752>.
- [74] Ealy AD, Seekford ZK. Symposium review: Predicting pregnancy loss in dairy cattle. *J Dairy Sci* 2019;102:11798–804. <https://doi.org/10.3168/JDS.2019-17176>.

- [75] Goetten ALF, Barreta MH, Pinto da Silva Y, Bertolin K, Koch J, Rocha CC, et al. FGF18 impairs blastocyst viability, DNA double-strand breaks and maternal recognition of pregnancy genes. *Theriogenology* 2024;225:81–8. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2024.05.020>.
- [76] Kerbler TL, Buhr MM, Jordan LT, Leslie KE, Walton JS. Relationship between maternal plasma progesterone concentration and interferon-tau synthesis by the conceptus in cattle. *Theriogenology* 1997;47:703–14. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(97\)00028-9](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(97)00028-9).
- [77] Meidan R, Basavaraja R. Interferon-Tau regulates a plethora of functions in the corpus luteum. *Domest Anim Endocrinol* 2022;78:106671. <https://doi.org/10.1016/J.DOMANIEND.2021.106671>.
- [78] Wiltbank MC, Monteiro PLJ, Domingues RR, Andrade JPN, Mezera MA. Review: Maintenance of the ruminant corpus luteum during pregnancy: interferon-tau and beyond. *Animal* 2023;17:100827. <https://doi.org/10.1016/J.ANIMAL.2023.100827>.
- [79] Boruszewska D, Grycmacher K, Kowalczyk-Zieba I, Sinderewicz E, Staszkiwicz-Chodor J, Woclawek-Potocka I. Expression of enzymes involved in the synthesis of prostaglandin E2 in early- and late-cleaved bovine embryos at different stages of preimplantation development. *Theriogenology* 2019;133:45–55. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2019.04.032>.
- [80] Cordoba MC, Sartori R, Fricke PM. Assessment of a Commercially Available Early Conception Factor (ECF) Test for Determining Pregnancy Status of Dairy Cattle. *J Dairy Sci* 2001;84:1884–9. [https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302\(01\)74629-2](https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302(01)74629-2).
- [81] Hansel W, Hickey GJ. Early pregnancy signals in domestic animals. *Ann N Y Acad Sci*. 1988;541:472-484. doi:10.1111/j.1749-6632.1988.tb22284.x.
- [82] Hansen PJ. Prospects for gene introgression or gene editing as a strategy for reduction of the impact of heat stress on production and reproduction in cattle. *Theriogenology* 2020;154:190–202. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2020.05.010>.
- [83] Hansen PJ. To be or not to be—Determinants of embryonic survival following heat shock. *Theriogenology* 2007;68:S40–8. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2007.03.013>.
- [84] Chaouat G, Menu E, Delage G, Moreau JF, Khrishnan L, Hui L, Meliani AA, Martal J, Raghupathy R, Lelaidier C, et al. Immuno-endocrine interactions in early pregnancy. *Hum Reprod*. 1995;10(Suppl 2):55-59. doi:10.1093/humrep/10.suppl_2.55.
- [85] Sakai S, Yagi M, Fujime N, Kuse M, Sakumoto R, Yamamoto Y, et al. Heat stress influences the attenuation of prostaglandin synthesis by interferon tau in bovine

- endometrial cells. *Theriogenology* 2021;165:52–8. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2021.02.005>.
- [86] Morris D, Diskin M. Effect of progesterone on embryo survival. *Animal* 2008;2:1112–9. <https://doi.org/10.1017/S1751731108002474>.
- [87] Alkan H, Tekindal MA, Demirel MA, Soy Turk BI, Golbasi M, Deniz YE, et al. Effect of strategies to increase progesterone levels on fertility of bovine embryo transfer recipients - A meta-analysis. *Theriogenology* 2024;215:177–86. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2023.12.005>.
- [88] Taghizadeh E, Barati F, Fallah AA, Hemmatzadeh-Dastgerdi M, Nejabati MS. Estrogens improve the pregnancy rate in cattle: A review and meta-analysis. *Theriogenology* 2024;220:35–42. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2024.03.005>.
- [89] Persaud TVN. The effects of prostaglandin E2 on pregnancy and embryonic development in mice. *Toxicology* 1975;5:97–101. [https://doi.org/10.1016/0300-483X\(75\)90074-8](https://doi.org/10.1016/0300-483X(75)90074-8).
- [90] Pate JL, Hughes CHK. Review: Luteal prostaglandins: mechanisms regulating luteal survival and demise in ruminants. *Animal* 2023;17:100739. <https://doi.org/10.1016/J.ANIMAL.2023.100739>.
- [91] Annes K, de Lima CB, Ispada J, dos Santos ÉC, Fontes PK, Nichi M, et al. Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) selectively modulates the metabolic and lipid profile of bovine embryos according to their kinetics of development. *Theriogenology* 2023;204:1–7. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2023.03.020>.
- [92] Mess AM, Carreira ACO, Marinovic de Oliveira C, Fratini P, Favaron PO, Barreto R da SN, et al. Vascularization and VEGF expression altered in bovine yolk sacs from IVF and NT technologies. *Theriogenology* 2017;87:290–7. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2016.09.012>.
- [93] Johnston CJC, Smyth DJ, Dresser DW, Maizels RM. TGF- β in tolerance, development and regulation of immunity. *Cell Immunol* 2016;299:14–22. <https://doi.org/10.1016/J.CELLIMM.2015.10.006>.
- [94] Knight PG, Glister C. TGF- β superfamily members and ovarian follicle development. *Reproduction*. 2006;132(2):191-206. doi:10.1530/rep.1.01074.
- [95] Bergfelt DR, Peter AT, Beg MA. Relaxin: A hormonal aid to diagnose pregnancy status in wild mammalian species. *Theriogenology* 2014;82:1187–98. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2014.07.030>.
- [96] Shirasuna K, Nitta A, Sineenard J, Shimizu T, Bollwein H, Miyamoto A. Vascular and immune regulation of corpus luteum development, maintenance, and regression in the

- cow. *Domest Anim Endocrinol* 2012;43:198–211.
<https://doi.org/10.1016/J.DOMANIEND.2012.03.007>.
- [97] Pugliesi G, Santos FB, Lopes E, Nogueira, Maio JRG, Binelli M. Improved fertility in suckled beef cows ovulating large follicles or supplemented with long-acting progesterone after timed-AI. *Theriogenology* 2016;85:1239–48.
<https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2015.12.006>.
- [98] Pugliesi G, Santos FB, Lopes E, Nogueira, Maio JRG, Binelli M. Improved fertility in suckled beef cows ovulating large follicles or supplemented with long-acting progesterone after timed-AI. *Theriogenology* 2016;85:1239–48.
<https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2015.12.006>.
- [99] López-Gatius F, Santolaria P, Yániz JL, Hunter RHF. Progesterone supplementation during the early fetal period reduces pregnancy loss in high-yielding dairy cattle. *Theriogenology* 2004;62:1529–35.
<https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2004.02.005>.
- [100] Colazo MG, Dourey A, Rajamahendran R, Ambrose DJ. Progesterone supplementation before timed AI increased ovulation synchrony and pregnancy per AI, and supplementation after timed AI reduced pregnancy losses in lactating dairy cows. *Theriogenology* 2013;79:833–41.
<https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2012.12.011>.
- [101] Steichen MM, Larson JE. Effects of supplemental progesterone using a CIDR insert on pregnancy per embryo transfer of dairy heifer recipients of embryos produced in vitro. *Anim Reprod Sci* 2019;203:45–51.
<https://doi.org/10.1016/J.ANIREPROSCI.2019.02.006>.
- [102] Couto SRB, Guerson YB, Ferreira JE, Silva OR, Silenciato LN, Barbero RP, et al. Impact of supplementation with long-acting progesterone on gestational loss in Nelore females submitted to TAI. *Theriogenology* 2019;125:168–72.
<https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2018.10.032>.
- [103] Peter AT. Bovine placenta: A review on morphology, components, and defects from terminology and clinical perspectives. *Theriogenology* 2013;80:693–705.
<https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2013.06.004>.
- [104] Fan Y, Pavani KC, Broeckx BJB, Smits K, Van Soom A, Peelman L. Circular RNAs from bovine blastocysts can interact with miRNAs/tsRNAs from embryonic extracellular vesicles and regulate hatching. *Int J Biol Macromol* 2024;277:134018.
<https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2024.134018>.

- [105] Heyman Y, Chesné P, Chupin D, Ménézo Y. Improvement of survival rate of frozen cattle blastocysts after transfer with trophoblastic vesicles. *Theriogenology* 1987;27:477–84. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(87\)90235-4](https://doi.org/10.1016/0093-691X(87)90235-4).
- [106] Campanile G, Di Palo R, Neglia G, Vecchio D, Gasparri B, Prandi A, et al. Corpus luteum function and embryonic mortality in buffaloes treated with a GnRH agonist, hCG and progesterone. *Theriogenology* 2007;67:1393–8. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2007.03.001>.
- [107] López-Gatius F, Santolaria P, Yániz JL, Hunter RHF. Progesterone supplementation during the early fetal period reduces pregnancy loss in high-yielding dairy cattle. *Theriogenology* 2004;62:1529–35. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2004.02.005>.
- [108] Weems CW, Weems YS, Randel RD. Prostaglandins and reproduction in female farm animals. *The Veterinary Journal* 2006;171:206–28. <https://doi.org/10.1016/J.TVJL.2004.11.014>.
- [109] George AF, Bagnell CA. Relaxin. *Encyclopedia of Reproduction* 2018:591–6. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.64690-1>.
- [110] Dysart LM, Messman RD, Crouse AA, Lemley CO, Larson JE. Effects of administration of exogenous estradiol benzoate on follicular, luteal, and uterine hemodynamics in beef cows. *Anim Reprod Sci* 2021;232:106817. <https://doi.org/10.1016/J.ANIREPROSCI.2021.106817>.
- [111] Carter AM, Enders AC. Placentation in mammals: Definitive placenta, yolk sac, and paraplacenta. *Theriogenology* 2016;86:278–87. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2016.04.041>.
- [112] O’Neil E V., Burns GW, Spencer TE. Extracellular vesicles: Novel regulators of conceptus-uterine interactions? *Theriogenology* 2020;150:106–12. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2020.01.083>.
- [113] Stojković M, Willemsen D, Büttner M, Wolf E. Development and interferon production by frozen-thawed in vitro derived bovine trophoblastic vesicles. *Theriogenology* 1995;43:326. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(95\)92480-W](https://doi.org/10.1016/0093-691X(95)92480-W).
- [114] Lester TD, Miller GF, McNew RW, Rorie RW. Evaluation of permeating cryoprotectants for the cryopreservation of bovine trophoblastic vesicles. *Theriogenology* 1994;41:1533–43. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(94\)90819-5](https://doi.org/10.1016/0093-691X(94)90819-5).

- [115] Heyman Y, Ménézo Y, Chesné P, Camous S, Garnier V. In vitro cleavage of bovine and ovine early embryos: Improved development using coculture with trophoblastic vesicles. *Theriogenology* 1987;27:59–68. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(87\)90070-7](https://doi.org/10.1016/0093-691X(87)90070-7).
- [116] Varughese EE, Brar PS, Ghuman SS. Vascularization to preovulatory follicle and corpus luteum—a valuable predictor of fertility in dairy cows. *Theriogenology* 2017;103:59–68. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2017.07.042>.
- [117] Andrade JPN, Andrade FS, Guerson YB, Domingues RR, Gomez-León VE, Cunha TO, et al. Early pregnancy diagnosis at 21 days post artificial insemination using corpus luteum vascular perfusion compared to corpus luteum diameter and/or echogenicity in Nelore heifers. *Anim Reprod Sci* 2019;209:106144. <https://doi.org/10.1016/J.ANIREPROSCI.2019.106144>.
- [118] Pinaffi F, Jardim I, Sangalli J, Sampaio R, Meirelles F, Silva L. Morphological and vascular changes in the corpus luteum during early gestation of bovine SCNT-derived pregnancies. *Placenta* 2014;35:A23. <https://doi.org/10.1016/J.PLACENTA.2014.06.077>.
- [119] Reineri PS, Bernhard SDR, Principi SA, Gerlero GD, Aller JF. Effects of two protocols of ovulation synchronization on corpus luteum size and blood flow, progesterone concentration, and pregnancy rate in beef heifers. *Anim Reprod Sci* 2023;251:107223. <https://doi.org/10.1016/J.ANIREPROSCI.2023.107223>.
- [120] Wiltbank MC, Monteiro PLJ, Domingues RR, Andrade JPN, Mezera MA. Review: Maintenance of the ruminant corpus luteum during pregnancy: interferon-tau and beyond. *Animal* 2023;17:100827. <https://doi.org/10.1016/J.ANIMAL.2023.100827>.