

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

**Qualidade luteal e marcadores séricos da eficiência reprodutiva em vacas
lactantes receptoras de embrião**

Marcela Macedo de Martin
Magister Scientiae

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2026**

MARCELA MACEDO DE MARTIN

Qualidade luteal e marcadores séricos da eficiência reprodutiva em vacas lactantes receptoras de embrião

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

Orientador: Jose Domingos Guimaraes

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2026**

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

T

M379
2026
Martin, Marcela Macedo de, 1979-
Qualidade luteal e marcadores séricos da eficiência reprodutiva em vacas lactantes receptoras de embrião / Marcela Macedo de Martin. – Viçosa, MG, 2026.
1 dissertação eletrônica (37 f.): il. (algumas color.).

Orientador: José Domingos Guimarães.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Veterinária, 2026.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2026.181>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Vacas - Transferência de embriões. 2. Manutenção do corpo lúteo. I. Guimarães, José Domingos, 1963-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Veterinária. Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. III. Título.

CDD 22. ed. 636.2082

MARCELA MACEDO DE MARTIN

Qualidade luteal e marcadores séricos da eficiência reprodutiva em vacas lactantes receptoras de embrião

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

APROVADA: 23 de fevereiro de 2026.

Assentimento:

Marcela Macedo de Martin
Autora

Jose Domingos Guimaraes
Orientador

Essa dissertação foi assinada digitalmente pela autora em 08/05/2026 às 15:45:40 e pelo orientador em 11/05/2026 às 07:28:08. 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 **VYYC.PIFI.DXNE** e clique no botão 'Validar documento'.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais pelos seus esforços e apoio nessa longa jornada de estudos.

À minha irmã Fernanda pelas palavras de incentivo.

Ao meu marido pelo companheirismo e suporte na retomada aos estudos.

À minha filha pela compreensão nos momentos de ausência.

Ao Washington, gerente das Fazendas Reunidas HD, pela oportunidade de execução do experimento e ao colega veterinário Rodolfo, representante da Embryorio, pelo apoio técnico e paciência conosco nas coletas das amostras.

Aos funcionários Claudio, Janir, Manuel, Milton, Camila por sempre estarem dispostos a ajudar, sendo indispensáveis na realização desse projeto.

Aos colegas veterinários Carlos Sérgio e Rafael por estarem sempre dispostos em dividir seus conhecimentos.

Ao meu orientador, José Domingos, por me encorajar a enfrentar as minhas dificuldades mostrando que tenho capacidade para assumir desafios e me tornar uma estudante melhor.

Aos amigos feitos nessa jornada, agradeço pelo apoio e por estarem dispostos a ajudar.

Ao professor Leandro Abreu pelo apoio e disponibilidade em processar nossas amostras no Laboratório de Pesquisa em Patologia Clínica Veterinária (DVT/UFV).

A todos que de alguma forma contribuiu para a realização desse trabalho.

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).

RESUMO

MARTIN, Marcela Macedo de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2026. **Qualidade luteal e marcadores séricos da eficiência reprodutiva em vacas lactantes receptoras de embrião.** Orientador: Jose Domingos Guimaraes.

A transferência de embriões bovina (TE) é uma biotécnica utilizada mundialmente, cujo principal propósito é a produção de um número elevado de descendentes geneticamente superiores por fêmeas, o qual não seria possível fisiologicamente durante toda a sua vida reprodutiva. Não obstante, a seleção das receptoras é um dos fatores primordiais para o sucesso da TE, uma vez que as receptoras permitem o desenvolvimento do embrião desde a sua inovulação até o parto. Entretanto, a maior incidência das perdas embrionárias (PE) ocorre nas primeiras semanas após a transferência e, por ser o diagnóstico gestacional feito somente ao redor dos 30 dias, a maioria das PE não é detectada, o que impossibilita a identificação dos possíveis fatores causais e a busca por alternativas para que elas sejam mitigadas. Diante disso, o presente estudo avaliou a perfusão sanguínea e área do corpo lúteo (C.L.) de 41 receptoras de embrião no dia da inovulação (D0), e a concentração sérica de progesterona (P4), proteínas de fase aguda (PFA's) e glicoproteínas associadas à gestação (PAG's) nas receptoras prenhes e não prenhes. Os dados dos parâmetros obtidos foram analisados quanto aos grupos de fêmeas gestante ou não gestante e correlações entre si e com a gestação. As médias da área e perfusão sanguínea do C.L. não apresentaram diferença ($3,36 \pm 0,97$ vs. $2,96 \pm 1,26$ cm²) e ($2,71 \pm 0,67$ vs. $2,43 \pm 0,67$) respectivamente, entre a categoria gestante e não gestante ($p > 0,05$). Não diferiram ($p > 0,05$) quanto aos valores médios das concentrações de progesterona do grupo gestante e não gestante ($6,68 \pm 3,33$ vs. $4,60 \pm 2,99$; $16,83 \pm 10,24$ vs. $10,21 \pm 6,02$ e $13,85 \pm 9,49$ vs. $10,10 \pm 7,80$ ng/mL, nos dias D0, D7 e D30, respectivamente). As concentrações de SAA não diferiram entre os animais das categorias gestantes e não gestantes ($0,5 \pm 0,29$ vs. $0,42 \pm 0,77$; $0,56 \pm 0,41$ vs. $0,31 \pm 0,21$ e $0,31 \pm 0,41$ vs. $0,26 \pm 0,15$ µg/mL, nos dias D0, D7 e D30, respectivamente), o mesmo ocorrendo com as concentrações de Hp ($2,55 \pm 2,74$ vs. $2,26 \pm 2,51$; $4,78 \pm 5,48$ vs. $2,28 \pm 1,83$ e $1,75 \pm 2,35$ vs. $1,30 \pm 1,44$ mg/dL, nos dias D0, D7 e D30, respectivamente). As concentrações médias das PAG's foram maiores nos animais gestantes do que não gestantes ($p > 0,05$), nos dias 7 e 30 após a inovulação, sendo: $18,13 \pm 4,03$ vs. $13,64 \pm 6,03$ e $19,69 \pm 4,15$ vs. $12,02 \pm 6,61$ ng/mL, embora no dia da inovulação não foi detectada diferença ($14,26 \pm 6,19$ vs. $12,12 \pm 6,19$ ng/mL; $p > 0,05$).

Palavras-chave: receptoras bovinas; progesterona; proteínas de fase aguda; glicoproteínas associadas à gestação; perfusão sanguínea C.L.; perda embrionária

ABSTRACT

MARTIN, Marcela Macedo de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2026. **Luteal quality and serum markers of reproductive efficiency in lactating embryo recipient cows.** Adviser: Jose Domingos Guimaraes.

Bovine embryo transfer (ET) is a biotechnical procedure used worldwide, whose main purpose is the production of a high number of genetically superior offspring from females, which would not be physiologically possible throughout their reproductive life. Nevertheless, the selection of recipients is one of the key factors for the success of ET, since recipients allow the development of the embryo from its implantation until birth. However, the highest incidence of embryonic losses (EL) occurs in the first few weeks after transfer and, because pregnancy diagnosis is only done around 30 days, most EL are not detected, making it impossible to identify potential causal factors and to seek alternatives for their mitigation. In view of this, the present study evaluated blood perfusion and corpus luteum (C.L.) area in 41 embryo recipients on the day of ovulation (D0), as well as serum concentrations of progesterone (P4), acute phase proteins (APP's), and pregnancy associated glycoproteins (PAG's) in pregnancy and non – pregnancy recipients. The data obtained for these parameters were analyzed according to the groups of pregnancy or non – pregnancy females, and correlations among them and with pregnancy. The averages of the area and blood perfusion of the C.L. did not show differences (3.36 ± 0.97 vs. 2.96 ± 1.26 cm²) and (2.71 ± 0.67 vs. 2.43 ± 0.67), respectively, between the pregnancy and non – pregnancy categories ($p > 0.05$). The averages of progesterone in the pregnancy and non – pregnancy groups also did not differ (6.68 ± 3.33 vs. 4.60 ± 2.99 ; 16.83 ± 10.24 vs. 10.21 ± 6.02 and 13.85 ± 9.49 vs. 10.10 ± 7.80 ng/mL, on days D0, D7 and D30, respectively). SAA did not differ between pregnancy and non – pregnancy categories (0.5 ± 0.29 vs. 0.42 ± 0.77 ; 0.56 ± 0.41 vs. 0.31 ± 0.21 and 0.31 ± 0.41 vs. 0.26 ± 0.15 µg/mL, on days D0, D7 and D30, respectively), and the same occurred with Hp (2.55 ± 2.74 vs. 2.26 ± 2.51 ; 4.78 ± 5.48 vs. 2.28 ± 1.83 and 1.75 ± 2.35 vs. 1.30 ± 1.44 mg/dL, on days D0, D7 and D30, respectively). The mean concentrations of PAG's were higher in pregnant than non – pregnant animals ($p > 0.05$) on days 7 and 30 after embryo transfer (18.13 ± 4.03 vs. 13.64 ± 6.03 ; 19.69 ± 4.15 vs. 12.02 ± 6.19 ng/mL), although no difference was detected on the day of embryo transfer (14.26 ± 6.19 vs. 12.12 ± 6.19 ng/mL; $p > 0.05$).

Keywords: bovine recipients; progesterone; acute phase proteins;

pregnancy associated glycoproteins; blood perfusion C.L.; embryonic loss

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	09
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	11
2.1. Transferência de Embriões (produzidos <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i>) no Brasil.....	11
2.2. Produção de embriões <i>in vitro</i> (PIVE).....	13
2.3. Fatores relacionados às receptoras para o sucesso na TETF	13
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	18
CAPÍTULO 1: Qualidade luteal e marcadores séricos da eficiência reprodutiva em vacas lactantes receptoras de embrião	22

1. INTRODUÇÃO

A produção *in vitro* de embriões (PIVE) constitui uma biotecnologia reprodutiva de elevada relevância, por possibilitar a obtenção de embriões viáveis oriundo de fêmeas com elevado valor genético. Tal técnica pode ser aplicada em diferentes categorias animais, incluindo bezerras pré – púberes, vacas em distintas fases fisiológicas e, inclusive, fêmeas no início da gestação (MELLO et al., 2016).

A utilização da PIVE na reprodução bovina tem promovido significativa redução no intervalo de gerações, antecipando o progresso genético em aproximadamente três gerações, o que corresponde a cerca de dez anos de seleção, resultando em avanços expressivos na produtividade tanto leiteira quanto cárnea (MARTINS, 2016). Além da amplificação de genótipos superiores, a técnica também contribui para a otimização de recursos, uma vez que possibilita a utilização de uma única dose de sêmen sexado na fertilização de até 200 oócitos (MARTINS, 2016).

Não obstante, apesar dos seus benefícios, a PIVE apresenta limitações operacionais e biológicas. Entre as principais, destacam – se a necessidade de rigoroso controle sanitário das fêmeas doadoras e receptoras, a exigência de mão de obra tecnicamente qualificada (MACHADO et al., 2023) e as variações nas taxas de prenhez, que oscilam entre 36 e 57% em relação às inovulações (NONATO JR et al., 2004; SCANAVEZ et al., 2013; NETO et al., 2014; TAMBULENI et al., 2019; POHLER et al., 2020).

No contexto de programas de transferência de embriões (TE), a seleção criteriosa das fêmeas receptoras representa um fator determinante para o êxito da biotécnica, uma vez que o sucesso do procedimento é mensurado pelo número de produtos vivos obtidos (BÓ et al., 2002; DANTAS et al., 2018). Entre os eventos fisiológicos fundamentais para o estabelecimento e a manutenção da prenhez destacam – se a preservação funcional do corpo lúteo (CL) e o adequado desenvolvimento placentário (SARTORI e DODE, 2008).

A manutenção do CL depende do reconhecimento materno da gestação (RMG), processo no qual o embrião sinaliza ao organismo materno sua presença por meio da secreção de interferon τ , que inibe a luteólise e assegura a produção contínua de

progesterona (P4), hormônio essencial para o preparo do ambiente uterino à nutrição e implantação embrionária (SARTORI, 2004).

Durante o período de implantação embrionária, glicoproteínas associadas à gestação (PAG) são sintetizadas por células mono e binucleadas do trofoblasto de ruminantes (WOODING et al., 2005). Essas moléculas migram em direção ao epitélio uterino ao longo de toda a prenhez, sendo armazenadas em grânulos densos no citoplasma e liberadas na circulação materna por exocitose (WOODING et al., 2005). Dessa forma, a detecção de PAG's no sangue materno constitui um indicativo de funcionalidade placentária e viabilidade embrionária (KAREN et al., 2007).

Nos últimos anos, as proteínas de fase aguda (PFA's) têm sido amplamente investigadas como biomarcadores de prognósticos, por sua capacidade de detectar precocemente alterações fisiológicas e enfermidades subclínicas (CERÓN et al., 2005). Essas proteínas têm demonstrado aplicabilidade no diagnóstico de condições como mastite subclínica (WOLLOWSKI et al., 2021), doença respiratória bovina (JOSHI et al., 2018), cetose, hipocalcemia e distúrbios reprodutivos (SACO e BASSOLS, 2022). Dentre as PFA's, a haptoglobina (Hp) e amilóide A sérica (SAA) destacam – se como as principais em bovinos, sendo amplamente estudadas em diferentes contextos patológicos de vacas leiteiras (CERÓN et al., 2005).

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo mensurar e avaliar a área e a perfusão sanguínea do corpo lúteo (CL), bem como as concentrações séricas de P4, PAG's e PFA's, visando identificar possíveis correlações entre esses parâmetros com o estabelecimento da gestação e a ocorrência de perdas embrionárias.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Transferência de Embriões (produzidos *in vivo* e *in vitro*) no Brasil

A transferência de embriões bovina no Brasil iniciou-se nos anos setenta com embriões importados e, na década seguinte, tivemos os primeiros registros de transferência de embriões produzidos *in vivo* (RUBIN, 2005).

Ao final da década de noventa, o país possuía um mercado sólido na produção e transferência de embriões bovinos, embora fosse ainda uma referência regional na atividade, representando 68,3 % dos embriões transferidos na América Latina e apenas 6,6 % do total mundial das transferências de embriões *in vivo* (GONÇALVES e VIANA, 2019). Nesse mesmo período, a produção de embriões *in vitro* (PIVE) era incipiente, limitada às instituições de cunho científico, sendo os primeiros nascimentos de bezerros oriundos de grupos de pesquisa da UNESP e EMBRAPA (RUBIN, 2005).

Em 2007, o Brasil consolidou – se como o maior produtor de embriões bovinos *in vitro*, respondendo por 48 % do total da produção mundial e os Estados Unidos representavam o maior produtor de embriões *in vivo* (VIANA, 2012). O grande diferencial brasileiro na PIVE se deve ao tamanho e às características do rebanho nacional, principalmente, em raças zebuínas que proporcionam maior número de oócitos por coleta (MELLO et al., 2016).

Após dez anos, no ano de 2017, a produção de embriões registrou um feito histórico, quando o total de embriões PIVE ultrapassou os gerados por produção *in vivo*, marcando o fim da polarização, com a ascensão no uso da PIVE em diferentes regiões e a transformação do mercado interno brasileiro (GONÇALVES e VIANA, 2019; figura 1). A PIVE tornou – se a técnica de escolha para a produção de embriões bovinos não apenas em raças zebuínas de corte, mas também nas demais categorias (taurinos e zebuínos, corte e leite), sendo a disponibilização de sêmen sexado, atrelado ao aperfeiçoamento na eficiência da PIVE, os responsáveis pela sua utilização em raças leiteiras. Diante disso, o mercado nacional, que em 2007 era marcado pela predominância de raças zebuínas e de corte, em 2017 registrou a

maior produção de embriões em raças taurinas ou seus cruzamentos e em raças leiteiras (GONÇALVES e VIANA, 2019).

O uso da PIVE pelo Brasil como técnica de eleição, utilizando a aspiração folicular guiada por ultrassonografia transvaginal (OPU) como principal forma de obtenção de oócitos, também foi adotada em diversos países da América do Sul, EUA e Europa (GONÇALVES e VIANA, 2019). O crescimento mundial da PIVE, associado a uma estagnação do mercado brasileiro nos anos 2014 a 2016, culminou com o fim da hegemonia nacional nesse segmento (GONÇALVES e VIANA, 2019).

Atualmente, o Brasil segue como segundo país em número de embriões produzidos na espécie bovina, terceiro na caprina e primeiro na equina e no quesito transferência de embriões, encontra – se na primeira posição (VIANA, 2025), demonstrando a importância dessas tecnologias no país.

A utilização da transferência de embriões tornou – se peça primordial para responder aos anseios da pecuária contemporânea, proporcionando maior eficiência reprodutiva, gerando maiores ganhos no melhoramento genético, com a propagação de animais com genótipo superior ou pela obtenção de cruzamentos e potencialização dos efeitos da heterose, em um curto período de tempo (VIANA, 2024).

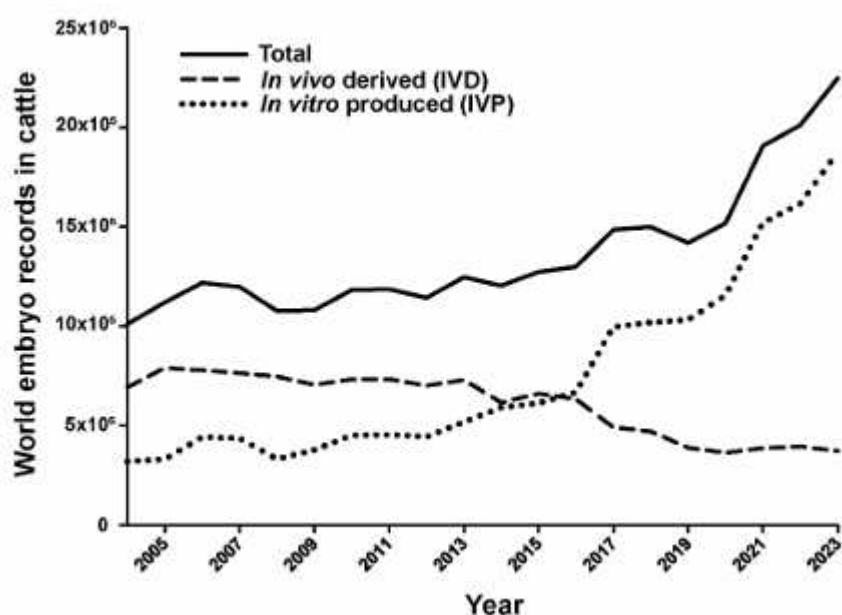


Figura 1- Número de embriões bovino (IVD, IVP e Total) registrados no período de 2005 a 2023, (VIANA, 2024).

2.2. Produção de embriões *in vitro* (PIVE)

Diferentemente da produção de embriões *in vivo*, a PIVE consiste na coleta de oócitos imaturos das doadoras por meio da técnica de punção folicular transvaginal conduzida pela ultrassonografia (OPU – de *ovum pick – up*), aspiração de ovários oriundos do abatedouro ou laparoscopia. Posteriormente, temos a fase da maturação (MIV), fertilização (FIV) e o cultivo (CIV) dos embriões (zigoto a blastocisto), sendo as duas últimas etapas realizadas em laboratório. Ao atingirem o estágio de blastocisto, são transferidos a fresco ou criopreservados, na dependência de sua qualidade, em receptoras sincronizadas (MELLO et al., 2016).

A produção *in vitro* promove a obtenção e a multiplicação de embriões viáveis a partir de fêmeas de elevado valor genético, podendo ser utilizada como doadoras bezerras pré – púberes, vacas de diferentes idades e estágios fisiológicos, inclusive as fêmeas no início da prenhez (MELLO et al., 2016). Utilizando a PIVE na reprodução bovina, o tempo da seleção e do melhoramento genético é encurtado em pelo menos três gerações ou aproximadamente 10 anos de seleção, permitindo rápidos saltos na produção, tanto leiteira quanto cárnea (MARTINS, 2016). Além de propagar os animais reconhecidamente superiores, a técnica possibilita diminuir os custos com a utilização de sêmen sexado, uma vez que uma única dose pode ser usada na fertilização de até 200 oócitos (MARTINS, 2016). Entretanto, a PIVE apresenta desvantagens, como seu rigoroso manejo sanitário tanto das doadoras quanto das receptoras, mão de obra capacitada (MACHADO et al., 2023) e taxas de prenhez oscilando entre 36 a 57 % (NONATO JR. et al., 2004; SCANAVEZ et al., 2013).

2.3. Fatores relacionados às receptoras para o sucesso na TETF

Dentro de um programa de transferência de embriões, a seleção das receptoras é um dos fatores primordiais para o seu êxito, pois além delas completarem o período gestacional, elas são responsáveis pelo sucesso da técnica, já que o mesmo pode ser medido pelos produtos vivos gerados (BÓ et al., 2002; DANTAS et al., 2018). Os eventos fulcrais para o estabelecimento da prenhez incluem a manutenção do corpo lúteo e o desenvolvimento adequado da placenta (SARTORI e DODE, 2008).

Por meio da liberação de uma glicoproteína denominada Interferon τ pelo embrião, no chamado “reconhecimento materno da gestação”, sinalizando a sua presença à unidade materna, o corpo lúteo se mantém e permanece secretando progesterona (P4), impedindo o retorno à ciclicidade da receptora, postergando a prenhez. Concentrações séricas de 1ng/ mL de progesterona são necessárias para a manutenção de um ambiente uterino receptivo ao conceito, promovendo a secreção endometrial imprescindível à nutrição do embrião e o seu adequado desenvolvimento (GEISERT e CONLEY, 1998).

Altas concentrações sanguíneas de P4, imediatamente após a concepção, têm sido relacionadas ao alongamento do conceito, aumento da produção de interferon τ e a maiores índices de prenhez em fêmeas bovinas, sendo esse melhor resultado atrelado à redução das mortes embrionárias na sua fase crucial (DISKIN e MORRIS, 2008).

A progesterona exerce papel fundamental na regulação da secreção de proteínas e de fatores de crescimento pelo útero, os quais são primordiais para o desenvolvimento inicial dos embriões (LIMA e SOUZA, 2009). A sincronia entre o embrião e o endométrio é estabelecida pela elevação da concentração plasmática de P4 após a ovulação e, embora esse momento seja indispensável para o desenvolvimento embrionário, sua presença também se faz necessária para impedir a luteólise, garantindo a manutenção da gestação (LIMA e SOUZA, 2009).

Durante o ciclo estral, os índices de P4 refletem o crescimento, a maturação e a luteólise (SPANNO et al., 1992) e sua análise permite a associação das características morfológicas do CL ao ultrassom com o seu estado funcional. A sua concentração está diretamente relacionada à sua produção e liberação (VIANA et al., 1999).

A progesterona é secretada pelo corpo lúteo (CL), glândula transitória, formada a partir da proliferação e luteinização das células da granulosa e da teca de um folículo ovulado, altamente vascularizada (SMITH et al., 1994) e a avaliação da sua vascularização tecidual pode representar de forma mais precisa a sua capacidade em secretar P4 e a maior probabilidade de gestação, uma vez que, segundo (PUGLIESI et al., 2017), a sua perfusão está altamente correlacionada com a sua capacidade em produzi-la.

Estudos recentes, em vacas de leite e corte, apontaram maior precisão e sensibilidade quando da utilização da ultrassonografia Doppler para avaliar a funcionalidade do CL e diagnosticar gestações precocemente, além de possibilitar a seleção de receptoras com maior receptividade, melhorando com isso a fertilidade em programas de TETF (PUGLIESI et al., 2017). Através da diferença entre a frequência das ondas refletidas em estruturas em movimento com a frequência emitida pelo transdutor, teremos a frequência Doppler. Na circulação sanguínea, essa diferença ocorre devido à movimentação das células vermelhas que pode ser positiva, quando o seu movimento está favorável ao transdutor, e negativa, quando está ao contrário.

Ao avaliar a perfusão sanguínea luteal através da ultrassonografia Color – Doppler, as diferenças de frequência são codificadas na forma de sinais coloridos no monitor do equipamento sobre a imagem em modo B. Quando o fluxo sanguíneo se encontra no mesmo sentido do transdutor (frequência positiva) é emitido cores de tonalidade vermelha a amarelo, e quando o fluxo sanguíneo vai de encontro ao transdutor (frequência negativa), ocorre a emissão de tons de azul a verde. Através de uma mensuração subjetiva, utilizando de uma escala de 0 a 4, o Color – Doppler possibilita obter informações acerca da perfusão sanguínea do CL em tempo real, estimando seu status funcional. A maior vascularização luteal está intimamente relacionada às concentrações de P4 e, conseqüentemente, à maior chance de sucesso gestacional (PUGLIESI et al., 2017).

Além da necessidade da persistência do CL e a secreção de progesterona para a manutenção da prenhez em receptoras bovinas, há também a necessidade de uma adequada placentação (ANDRADE et al., 2025). As células binucleadas, que se diferenciaram a partir das células unicelulares do trofotoderma externo do córion, migram e se fundem ao epitélio luminal do endométrio uterino (DAVENPORT et al., 2023), produzem glicoproteínas associadas à gestação (PAG's) a partir do período de implantação embrionária e se deslocam em direção ao epitélio uterino ao longo de toda a prenhez, sendo que essa migração pode gerar a formação de células trinucleadas (BRAGANÇA, 2012; figura 2).

As PAG's são armazenadas em grânulos densos no interior do citoplasma e liberadas no organismo materno após a exocitose (BRAGANÇA, 2012) e as suas

concentrações são detectadas no sangue materno entre os dias 15 a 22 (SASSER et al., 1986) ou dia 22 (GIORDANO et al., 2012) após à fertilização.

Pela detecção e determinação das concentrações das PAG's na circulação materna, podemos julgar que há um bem estar do conceito, uma vez que essas glicoproteínas são provenientes das células mono e binucleadas do trofocotoderma, que migram do tecido embrionário para o uterino e posteriormente são liberadas na corrente sanguínea materna, ou seja, oriundas de um processo ativo que pressupõe a presença de um tecido trofoblástico saudável e, portanto, de um embrião sadio (BARBATO et al., 2022).

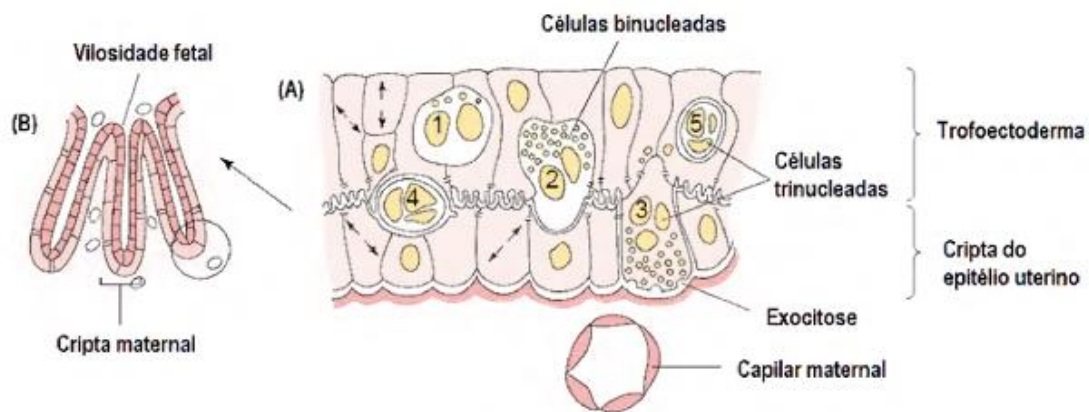


Figura 2- Ilustração esquemática da placenta bovina. (A) Placenta mostrando migração das células binucleadas em direção ao trofocotoderma para unir ao epitélio caruncular (1 e 2) e formar células trinucleadas (3, 4, 5) com posterior (3) exocitose. (B) Parte de um placentônio mostrando a penetração das vilosidades cotiledonares fetais nas criptas carunculares maternas (BRAGANÇA, 2012).

Adicionalmente aos fatores mencionados anteriormente, para garantir a manutenção da gestação, temos as proteínas de fase aguda (PFA's), as quais vêm sendo utilizadas atualmente como indicadores de prognóstico, já que podem revelar precocemente doenças subclínicas ou alterações fisiológicas do organismo (CERÓN et al., 2005).

As PFA's estão presentes no soro, as quais são sintetizadas por muitas categorias de células, especialmente os hepatócitos. Suas principais atribuições são a defesa do organismo, pelo bloqueio de agentes inflamatórios, minimizando o dano tecidual, bem como participando no reparo e regeneração teciduais (CECILIANI et al., 2012). Assim que uma injúria tecidual é estabelecida, o organismo responde na

forma de um processo inflamatório agudo, de início rápido, com características específicas, dentre as quais se destaca a produção de PFA's.

As PFA's são divididas em PFA positivas (haptoglobina, proteína C reativa, amiloide A sérica, α 1 glicoproteína e ceruloplasmina) quando sua concentração aumenta no soro ou no plasma e as PFA negativas (albumina e transferrina) quando a concentração delas diminui, ambas ocorrendo em face de um desequilíbrio homeostático (GRUYS et al., 1994; KANECO, 1997).

Existe um consenso que a haptoglobina (Hp) e a amiloide A sérica (SAA) são as PFA's mais importantes em bovinos. Recentemente, as PFA's têm sido estudadas em relação a muitas doenças em bovinos e vacas leiteiras. O período de transição, caracterizado por três semanas antes e após o parto, está associado à alta incidência de patologias, como cetose, mastite, hipocalcemia, problemas reprodutivos, os quais poderiam ser minimizados pela determinação das PFA's (SACO e BASSOLS, 2022).

As PFAs' possuem alta sensibilidade na detecção de diversas condições que alteram a saúde do animal e no fornecimento de evidências de que o animal tem inflamação ou infecção subclínica (CERÓN et al., 2005). PETERSON et al. (2004) verificaram que as PFA's podem detectar a presença de doença subclínica, que é responsável pela redução na produtividade leiteira e carne, culminando com perdas na produção animal.

Diante do exposto, a eficiência reprodutiva em receptoras de embrião bovinas é influenciada pela interação entre fatores luteais, endócrinos, placentários e imunológicos. A boa vascularização do CL e concentrações adequadas de progesterona são fundamentais para criar um ambiente uterino propício ao estabelecimento da gestação e as PAG's fornecem informações valiosas sobre a viabilidade embrionária, enquanto o monitoramento das proteínas de fase aguda auxilia na identificação de distúrbios inflamatórios que podem comprometer a prenhez. Assim, a abordagem integrada desses marcadores contribui para a detecção precoce de falhas e para mitigar as perdas embrionárias em programas de TETF.

3. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ANDRADE, J.P.N. et al. Delayed embryonic attachment, circulating pregnancy associated glycoproteins, and pregnancy loss in heifer embryo recipients. **Theriogenology**, v. 247, p. 1 – 7. 2025.

BARBATO, O. et al. Using pregnancy associated glycoproteins (PAGs) to improve reproductive management: from dairy cows to other dairy livestock. **Animals**, v.12, p. 1 – 16. 2022.

BÓ, G.A. et al. The control of follicular wave development for self – pointed embryo transfer programs in cattle. **Theriogenology**, v. 57, p. 53 – 72. 2002.

BRAGANÇA, G.M. **Diagnóstico precoce de gestação em vacas zebuínas utilizando a detecção de glicoproteínas associadas à prenhez**. Dissertação Mestrado, UFRAM, 2012.

CERÓN, L.L. et al. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 34, n. 2, p. 85 – 99. 2005.

CECILIANI, F. et al. Acute phase proteins in ruminants. **Journal of Proteomics**, v. 75, p.4207 – 4231. 2012.

DANTAS, K.S.A. et al. Seleção de receptoras em um programa de transferência de embriões (PIVE) em bovinos no nordeste do Brasil. **Ciência Animal**. v.9, p.7, 2018.

DAVENPORT, K.M. et al. Review: Implantation and placentation in ruminants. **Animal**, v. 17, p. 1 – 12. 2023.

DISKIN, M.G. & MORRIS, D.G. Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 43, p. 260-267. 2008.

GIORDANO, J.O. et al. Changes in serum pregnancy-associated glycoprotein, pregnancy-specific protein B, and progesterone concentrations before and after induction of pregnancy loss in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 683–697. 2012.

GONÇALVES, R.L.R. & VIANA, J.H.M. Situação atual da produção de embriões bovinos no Brasil e no mundo. **Anais do XXIII Congresso Brasileiro de Reprodução Animal**, 2019.

GRUYS, E.; OBWOLO, M.J.; TOUSAIN, M.J.M. Diagnostic significance of the major acute phase proteins in veterinary clinical chemistry: a review. **Veterinary Bulletin**, v. 64, p. 1009 – 1018. 1994.

JOSHI, V. et al. Haptoglobin and sérum amyloid A as putative biomarker candidates of naturally occurring bovine respiratory disease in dairy calves. **Microbial Pathogenesis**, v. 116, p. 33 – 37. 2018.

KANECO, J.J. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**, p. 135 – 149. 1997.

KAREN, A. et al. Accuracy of ultrasonography and pregnancy- associated glycoprotein test for pregnancy diagnosis in buffaloes. **Theriogenology**, v.68, p. 1150-1155. 2007.

LIMA, I.M.T. e A.L. SOUZA. Desenvolvimento e sobrevivência de embriões no período de pré-implantação: enfoque em ruminantes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.33, p. 194 – 202. 2009.

MACHADO, J.P.F. et al. Transferência de embriões em bovinos: revisão de Literatura. **Centro Universitário Una Jataí**. 2023.

MARTINS, C.F. Fertilização *in vitro* pode acelerar melhoramento genético de rebanhos leiteiros. **Embrapa Cerrado**. 2016.

MELLO, R. et al. Produção *in vitro* (PIVE) de embriões bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 40, p. 58 – 64. 2016.

NETO, H.F. et al. Parâmetros que afetam a taxa de prenhez de receptoras bovinas de embriões produzidos *in vitro*. **Medicina Veterinária**, Recife, v. 8, n. 3, p. 31 – 35. 2014.

NONATO Jr., I. et al. Produção de embriões em vacas nelore com a utilização associada de FIV e TE. **Anais SBTE 18**, v. 32, p.95. 2004.

- PETERSEN, H.H. et al. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. **Veterinary Research**, v. 53, p. 163 – 187. 2004.
- POHLER, K. G. et al. New approaches to diagnose and target reproductive failure in cattle. **Animal Reproduction**, v. 17, p. 1 – 19. 2020.
- PUGLIESI, G. et al. Uso da ultrassonografia Doppler em programas de IATF e TETF em bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.41, p. 140 – 150. 2017.
- RUBIN, M.I.B. Histórico dos 20 anos da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, p. 35 – 54. 2005.
- SACO, Y.; BASSOLS, A. Acute phase proteins in cattle and swine: a review. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 52, p. 50 – 63. 2023.
- SASSER, R.G. et al. Detection of pregnancy by radioimmunoassay of a novel pregnancy-specific protein in serum of cows and a profile of serum concentrations during gestation. **Biology Reproduction**, v. 35, p. 936–942. 1986.
- SARTORI, R. Fertilização e morte embrionária em bovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32 (suplemento), p. 35 – 50. 2004.
- SARTORI, R. & DODE, M.A.N. Mortalidade embrionária na IA, TE, FIVE e clonagem. Biotecnologia da Reprodução em Bovinos (3º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada). **Embrapa Recursos Genéticos** (CENARGEN). 2008.
- SARTORI et al. Perda gestacional em bovinos. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, v. 32 (Supl. 1), p. 45 – 61. 2024.
- SCANAVEZ, A.L.; CAMPOS, C.C.; SANTOS, R.M. Taxa de prenhez e de perda de gestação em receptoras de embriões bovinos produzidos in vitro. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 3, p. 722 - 728. 2013.
- SMITH, M.F.; MCINTUSH, E.W.; SMITH, G.W. Mechanisms associated with corpus luteum development. **Journal of Animal Science**, v.72, p. 1857 – 1872. 1994.
- SPANO, A.A. & SILVA, A. A. M. R. Níveis plasmáticos de progesterona durante o ciclo estral e na fase inicial da gestação em bovinos da raça Holandesa (*Bos taurus taurus*). **Revista Brasileira de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 51. 1992

TAMBULENI, A.H.P. et al. Avaliação de receptoras de embriões bovinos usando ultrassonografia modo-B e Doppler colorido. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 43, p. 25 – 30. 2019.

VIANA, J.H.M. et al. Características morfológicas e funcionais do corpo lúteo durante o ciclo estral em vacas da raça Gir. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 51, p. 251 – 256. 1999.

VIANA, J.H.M. et al. Features and perspectives of the Brazilian *in vitro* embryo industry. **Animal Reproduction**, v. 9, p. 12 – 18. 2012.

VIANA, J.H.M. 2021 Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals. A new milestone has been reached: transfers of IVP embryos were over one million worldwide. **Embryo Technology Newsletter**, V. 40, P. 1 – 17. 2022.

VIANA, J.H.M. 2023 Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals: The number of in vitro-produced cattle embryos worldwide is now fivefold greater than that of in vivo-derived embryos. **Embryo Technology Newsletter**, v. 42, p. 1 – 15. 2024.

VIANA, J.H.M. 2024 Statistic of embryo and transfer in domestic farm animals. **Embryo Technology Newsletter**, v. 43, p. 1 – 15. 2025.

VIANA, J.H.M. Development of the world farm animal embryo industry over the past 30 years. **Theriogenology**, v. 230, p. 151 – 156. 2024.

WOODING, F.B. et al. Light and electron microscope immunocytochemical studies of the distribution of pregnancy associated glycoproteins (PAGs) throughout pregnancy in the cow: possible functional implications. **Placenta**, v. 26, p. 807 - 827. 2005.

WOLLOWSKY, L. et al. The value of the biomarkers cathelicidin, milk amyloid A, and haptoglobin to diagnose and classify clinical and subclinical mastites. **Journal of Dairy Science**, v. 2, p. 2106 – 2122. 2021.

CAPÍTULO 1

Qualidade luteal e marcadores séricos da eficiência reprodutiva em vacas lactantes receptoras de embrião.

INTRODUÇÃO

A produção *in vitro* (PIVE) promove a obtenção e a multiplicação de embriões viáveis a partir de fêmeas de elevado valor genético, podendo ser utilizada como doadoras bezerras pré-púberes, vacas de diferentes idades e estágios fisiológicos, inclusive as fêmeas no início da prenhez (MELLO et al., 2016). Utilizando a PIVE na reprodução bovina, o tempo de seleção e do melhoramento genético é encurtado em pelo menos três gerações ou aproximadamente 10 anos de seleção, permitindo rápidos saltos na produção, tanto leiteira quanto carne (MARTINS, 2016). Além de propagar os animais reconhecidamente superiores, a técnica possibilita diminuir os custos com a utilização de sêmen sexado, uma vez que uma única dose pode ser usada na fertilização de até 200 oócitos (MARTINS, 2016). Entretanto, a PIVE apresenta desvantagens, como o seu rigoroso manejo sanitário tanto das doadoras quanto das receptoras, mão de obra capacitada (MARTINEZ e SOUZA, 2007) e taxas de prenhez oscilando entre 36 a 57 % em relação às inovulações (NONATO JR et al., 2004; SCANAVEZ et al., 2013; NETO et al., 2014; TAMBULENI et al., 2019; POHLER et al., 2020).

Dentro de um programa de transferência de embriões, a seleção das receptoras é um dos fatores primordiais para o seu êxito, uma vez que são responsáveis pelo sucesso da técnica, já que o mesmo pode ser medido pelos produtos vivos gerados (BÓ et al., 2002; DANTAS et al., 2018). Os eventos fulcrais para o estabelecimento da prenhez incluem a manutenção do corpo lúteo (C.L.) e o desenvolvimento adequado da placenta (SARTORI e DODE, 2008).

A manutenção do C.L., a partir da sinalização embrionária para a mãe, conhecido como reconhecimento materno da gestação (RMG), pela liberação de interferon τ , impede a luteólise e garante a produção continuada de progesterona (P4), necessária para o preparo do ambiente uterino à implantação e nutrição do embrião (SARTORI, 2004).

Durante o período de implantação embrionária, glicoproteínas associadas à gestação (PAG's) são sintetizadas a partir de células mono e binucleadas do trofoblasto de ruminantes (WOODING et al., 2005) e migram em direção ao epitélio uterino durante toda a prenhez. As PAG's são armazenadas em grânulos densos no citoplasma e liberadas no organismo materno após a exocitose (WOODING et al., 2005). Sua presença, portanto, indica a existência de uma placenta funcional e viabilidade embrionária (KAREN et al., 2007).

Atualmente, proteínas de fase aguda (PFA's) veem sendo utilizadas como indicadores de prognósticos, já que podem revelar precocemente doenças subclínicas ou alterações fisiológicas do organismo (CERÓN et al., 2005), como mastite subclínica (WOLLOWSKI et al., 2021), doença respiratória bovina (JOSHI et al., 2018), cetose, hipocalcemia e problemas reprodutivos (SACO e BASSOLS, 2022). Há um consenso que a haptoglobina (Hp) e a amilóide A sérica (SAA) são as PFA's mais importantes em bovinos e têm sido estudadas em relação a muitas doenças em vacas leiteiras (CERÓN et al., 2005).

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo mensurar e avaliar a área do CL e sua perfusão sanguínea, bem como as concentrações de P4, PAG's e PFA's, buscando identificar possíveis relações com gestação e as perdas embrionárias.

MATERIAIS E MÉTODOS

Local e Comissão de Ética

O estudo foi conduzido nas Fazendas Reunidas HD, situada no município de Goianá - MG (Latitude 21°32'14"S; Longitude 43°12'06"W). Esse experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais de Produção da Universidade Federal de Viçosa (CEUAP – UFV), sob o protocolo nº 109/2024, em 14 de fevereiro de 2025.

Animais e manejo

Utilizou-se 41 fêmeas receptoras de embrião ao longo do período experimental. As avaliações dos animais foram efetuadas em dois momentos distintos, sendo o primeiro período experimental composto por 29 e o segundo momento por 12 receptoras bovinas. As fêmeas eram lactantes, primíparas e pluríparas, da raça Girolando (1/2, 3/4 e 5/8), com seus escores de condição corporal avaliados na escala de 1 a 5 (EDMONSON et al., 1989) e suas produções leiteira em kg/dia, mantidas em sistema intensivo de “Free Stall”, recebendo alimentação de silagem de milho e ração balanceada, ofertada três vezes ao dia, com água e sal mineral servidos de maneira *ad libitum*.

Todos os animais da fazenda foram submetidos a um manejo sanitário, sendo livres de Brucelose e Tuberculose e imunizados para IBR, BVD e Leptospirose. A biotécnica reprodutiva adotada pela propriedade é a transferência de embriões em tempo fixo (TETF), sendo os embriões produzidos *in vitro* e adquiridos em uma empresa comercial.

Protocolo de TETF

Após a avaliação ginecológica das receptoras, foi iniciado um protocolo hormonal (D-17, em relação ao dia da transferência de embrião – D0), com a colocação de implante intravaginal de progesterona (Primer[®], AGENER UNIÃO), aplicação intramuscular de 2 mg de benzoato de estradiol (Gonadiol[®], ZOETIS) e 25µg de lecirelina (TEC- Relin[®], AGENER UNIÃO). Após oito dias (D-9), procedeu a retirada do implante e aplicações intramusculares de 400 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG) (Folligon[®], MSD), 0,526 mg de cloprostenol sódico (PGF2α) (Ciosin[®], MSD) e 1 mg de cipionato de estradiol (E.C.P.[®], ZOETIS) (Figura 1).

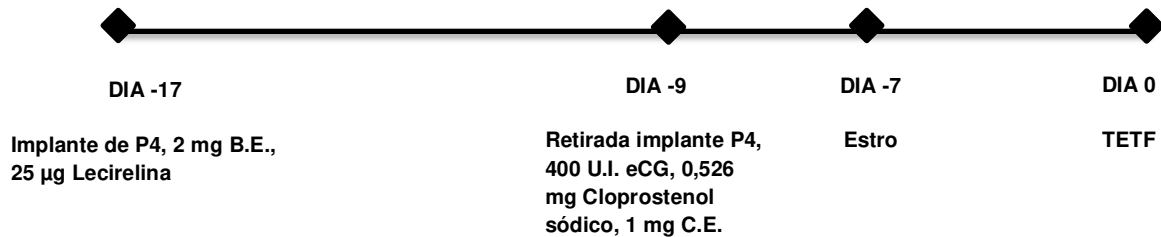


Figura 1- Representação esquemática do protocolo hormonal (TETF).

Avaliação ultrassonográfica

No (D0), as receptoras foram contidas em brete de contenção convencional e submetidas ao exame ultrassonográfico. As fêmeas que apresentaram corpo lúteo (C.L.) tiveram as suas áreas calculadas segundo (GUINTER et al., 1989), utilizando a equação $(\frac{1}{2}H \times \frac{1}{2}L \times \pi)$, onde: (H: altura do C.L.; L: largura do C.L. e π : 3,14), e sua perfusão sanguínea mensurada pelo uso do Color Doppler (DP 50, Mindray®), sendo classificado em escore de 0 a 4 (0 a 1- baixa perfusão, 2 a 3- média perfusão, 4- alta perfusão sanguínea; PUGLIESI et al., 2017). O total de 41 receptoras tiveram seus corpos lúteos avaliados.

Avaliações laboratoriais

Amostras de sangue foram obtidas através da veia coccígea, após a assepsia, para posterior determinação das concentrações séricas de progesterona (P4), glicoproteínas associadas à gestação (PAG's), proteínas de fase aguda (haptoglobina (Hp) e amilóide A sérica (SAA)). As coletas das amostras foram feitas em tubos a vacuoteaner contendo heparina sódica (VACUPLAST®) e em seguida centrifugadas (CENTRIBIO®) a 1.100 x g por 10 minutos e a alíquota de plasma acondicionado em tubos plásticos de 1,5 mL (Eppendorf®), acondicionados em caixa isotérmica com gelo, para o seu transporte até o laboratório, e em seguida armazenados a -18 °C para posterior análise.

As mensurações da P4, PAG's, Hp e SAA foram realizados no Laboratório de Pesquisa em Patologia Clínica Veterinária (DVT/UFV). Para essas análises, utilizamos amostras de sangue de 22 animais (5 gestantes e 17 não gestantes, por razão econômica) do total de 41, sendo que, cada animal possuía três tempos diferentes de coleta (D0: dia da transferência; D7: 7 dias após a transferência; DG:

decorridos 30 dias da deposição do embrião e dia do diagnóstico de gestação) (Figura 2).

As concentrações séricas de progesterona foram determinadas pelo método de imunoquimioluminescência (chemiluminescence assay – CLIA) utilizando kit comercial para a CLIA (kit Access Progesterone, BECKMAN COULTER – USA) de acordo com as recomendações do fabricante.

As mensurações das proteínas de fase aguda – PFA's (SAA e Hp) e glicoproteínas associadas à gestação (PAG's) foram realizadas pelo método ELISA, utilizando os kits comerciais SAA BOVINE, HP BOVINE e PAG 2 BOVINE, respectivamente, de acordo com as normas do fabricante (Fine Test[®]).

Preparação das receptoras e transferência do embrião

Logo após a punção sanguínea, as receptoras receberam 4 mL de lidocaína a 2% por via epidural, com o objetivo de minimizar as contrações do reto e proporcionar maior conforto na transposição dos anéis cervicais para a deposição do embrião no corno uterino. Após a montagem do inovulador e higienização da vulva, o mesmo foi introduzido até o fórnice vaginal e ao transpor os anéis cervicais, o aplicador foi direcionado ao corno uterino ipsilateral ao ovário que possuía o C.L. e o embrião foi depositado em seu terço final. As transferências foram efetuadas pelo técnico responsável, onde foram utilizados embriões F1 (1/2 H x 1/2 G) em estágio de desenvolvimento de BL e BX, qualidade de grau 1 e 2, a fresco ou não criopreservado.

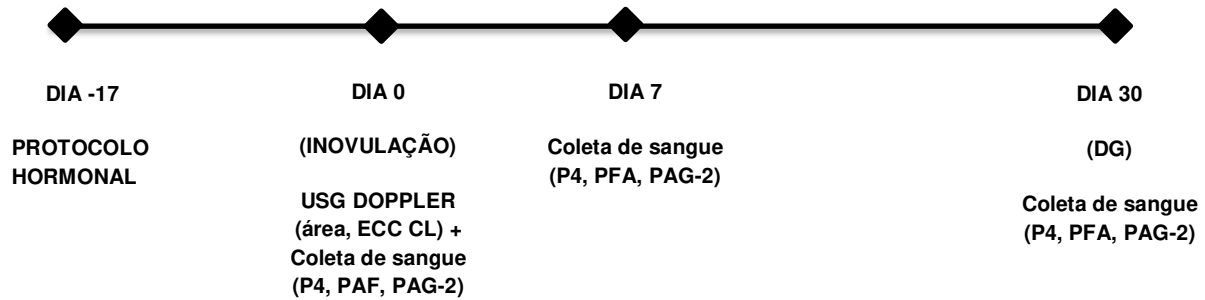


Figura 2- Representação esquemática das avaliações realizadas no experimento.

Análises Estatísticas

Nas análises dos dados obtidos para os parâmetros mensurados, as receptoras foram divididas em dois grupos experimentais: grupo de fêmeas gestantes e de não gestantes. Para as análises empregou-se o programa estatístico do Excel do Windows Office, versão 10. Utilizou - se estatística descritiva para a obtenção das médias, desvios padrões e coeficiente de variação. Em relação aos dados quantitativos (P4, PAG's, PFA's, área e perfusão do C.L.) foi empregado ANOVA e quando significativo, fez - se uso da comparação das médias pelo Teste T. Adotou - se o coeficiente de significância de 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 41 transferências realizadas, 24 receptoras continham, cada uma delas, em seu corno uterino embrião de 37 dias de idade e 30 dias de transferência (58,53%), resultado semelhante ao descrito por SCANAVEZ et al. (2013) os quais relataram 57,8 % dos animais gestantes aos 35 dias após a deposição do embrião. Em ambos os casos, os valores são considerados satisfatórios.

Segundo WILTBANK et al. (2016) as maiores incidências de perdas gestacionais (PG) em rebanho leiteiro ocorrem durante o período embrionário. Corroborando, MUNHOZ et al. (2024) registraram PG de 50,4 % em receptoras leiteiras entre o momento da TETF e os 32 dias após a inovulação. Tais observações apoiam o presente estudo, onde 41,47 % dos embriões, classificados na ocasião da transferência como de qualidade 1 ou 2, não se desenvolveram e não foram detectados aos 30 dias após as transferências, sendo portanto, perdas embrionárias.

SARTORI et al. (2024) apontaram fatores relacionados às perdas embrionárias, entre eles o escore da condição corporal (ECC) e, de acordo com BRUINJÉ et al., (2023), fêmeas com ECC $\leq 2,75$ aos 63 dias pós-parto apresentaram maior probabilidade de mortalidade embrionária entre 29 e 33 dias de gestação. Não obstante, as receptoras utilizadas nesse estudo apresentaram médias de condição corporal $3,38 \pm 0,51$ para o grupo gestante e $3,5 \pm 0,42$ para o não gestante, demonstrando que o manejo nutricional submetido ao rebanho se mostra adequado, resultando em boa condição corporal e que o ECC não teve relação com as perdas embrionárias detectadas aos 30 dias após a deposição do embrião, visto que não houve diferença dos valores médios do ECC entre os dois grupos avaliados (tabela 1).

Os animais diagnosticados gestantes ao final do período experimental apresentaram valores médios de produção leiteira superiores ao grupo não gestante ($p < 0,05$; tabela 1), embora os dias de lactação (DEL) desses animais sejam menores em relação ao outro grupo, contrastando com relatos de literatura, os quais reportam a reduzida capacidade das vacas leiteiras em lactação no desenvolvimento embrionário inicial, reforçando as perdas embrionárias (SARTORI et al., 2004), entretanto SILKE et al. (2002) não verificaram associação entre a produção de leite e as perdas embrionárias.

As médias de partições dos grupos analisados (gestantes e não gestantes) foram próximas ($2,32 \pm 1,56$ vs. $2,35 \pm 1,23$) e não diferiram ($p > 0,05$; tabela 1). No presente estudo, o grupo gestante possuía 10 primíparas e 14 pluríparas e o não gestante dispunha de 5 fêmeas de primeira partição e 12 pluríparas. SARTORI et al. (2025) obtiveram em seu estudo uma correlação negativa entre o número de partições e a taxa de prenhez em receptoras bovinas de embrião. GRILLO et al. (2015) avaliando a relação entre a categoria (nulíparas, primíparas e pluríparas) e a taxa de prenhez, detectaram maiores perdas embrionárias nas primíparas (54,7 %), não apresentando diferença entre as pluríparas e nulíparas (23,2 vs. 14%) aos 30 dias após a inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Embora no presente estudo não tivesse novilhas e fosse um programa de TETF, pode - se inferir que as pluríparas possuem maior chance de sucesso na prenhez em relação às primíparas, pois o estresse do parto atrelado ao efeito combinado do crescimento e a primeira

lactação, culminam com a baixa resposta produtiva em fêmeas de primeira parição (GRILLO et al., 2015).

Apesar de MUNHOZ et al. (2024) relatarem maior incidência de perdas gestacionais em receptoras leiteiras com influência de $<3/8$ Gir, em nosso estudo tanto o grupo gestante quanto o não gestante apresentaram média de grau sanguíneo $5/8$ HO x $3/8$ GIR, que para os autores supracitados seriam os animais com maior incidência de perdas. No presente estudo, o grau de sangue do grupo analisado, bem como o ECC, número de partições ou produção leiteira não estão relacionados às perdas embrionárias verificadas aos 30 dias após a TETF ($p>0,05$; tabela 1), embora a produção de leite tenha sido maior nas fêmeas do grupo gestante.

Tabela 1. Escore de condição corporal de 1 a 5 (ECC), dias de lactação (DEL), produção de leite em litros/dia (PROD. LEITE), nº de partos e grau de sangue de vacas lactantes receptoras de embrião, no dia da TETF (D0).

CATEGORIA	Nº ANIMAIS	ECC (\bar{x} e s)	DEL (\bar{x} e s)	PROD. LEITE (\bar{x} e s)	Nº PARTOS	GRAU SANGUE
Gestante	24	3,38 ± 0,51	264,16 ± 107,14	24,40 ± 6,46	2,32 ± 1,56	≈ 5/8
Não gestante	17	3,50 ± 0,42	294,40 ± 95,67	21,16 ± 6,23	2,35 ± 1,23	≈ 5/8
TESTE T ($p<0,05$)		0,27	0,172	0,0475	0,47	

\bar{x} : média; s: desvio padrão.

Os valores médios obtidos nas avaliações da perfusão sanguínea e área do corpo lúteo (C.L.) no momento da TETF (D0), entre o grupo de fêmeas diagnosticadas gestantes e não gestantes, aos 30 dias após a transferência, não diferiram entre si ($p>0,05$; tabela 2), embora PUGLIESI et al. (2023) indicaram a perfusão sanguínea do C.L., por meio da ultrassonografia Color Doppler, como parâmetro eficaz na predição das taxas de gestação em receptoras, hipótese que uma alta perfusão luteal estaria atrelada aos impactos embriotróficos da progesterona (P4) durante o período embrionário. Em relação à área do CL, DONADEU et al. (2020) estudando as relações entre a expressão de miRNAs lúteos e o tamanho e função lúteal *in vivo* de doadoras e receptoras de embrião bovina demonstraram que as concentrações de miRNAs no C.L. estão relacionados à expressão de enzimas esteroideogênicas, independentes do tamanho do corpo lúteo e das concentrações séricas de P4. Estudos semelhantes *in vitro* indicaram que

miRNAs promovem a sobrevivência luteal e a secreção de P4 em diferentes espécies (CARLETTI et al., 2010; MOHAMED et al., 2017).

Tabela 2. Área e perfusão sanguínea (PS) do corpo lúteo (C.L.) no dia da TETF (D0) em vacas lactantes receptoras de embrião.

CATEGORIA	Nº ANIMAIS	ÁREA DO C.L. (cm ²) (\bar{x} e s)	PS do C.L. (1 a 4) (\bar{x} e s)
Gestante	24	3,36 ± 0,97	2,71 ± 0,67
Não gestante	17	2,96 ± 1,26	2,43 ± 0,67
TESTE T ($p < 0,05$)		0,21	0,08

\bar{x} : média; s: desvio padrão. PS do CL: 0 a 1: baixa; 2 a 3: média; 4: alta perfusão.

Os valores da concentração plasmática da progesterona nos dias D0 (TETF), D7 e DG, no presente estudo, não influenciaram na taxa de prenhez entre a categoria de fêmeas gestantes e não gestantes ($p > 0,05$; tabela 3). Nos dias D0 e D7, os animais se encontravam no diestro, período em que o C.L. está funcionalmente ativo produzindo progesterona (FERREIRA, 2010), com suas concentrações médias no D0 ($6,68 \pm 3,33$ vs. $4,60 \pm 2,99$ ng/mL) e D7 ($16,83 \pm 10,24$ vs. $10,21 \pm 6,02$ ng/mL) entre as fêmeas gestantes e não gestantes, no presente estudo. Segundo VALCHUK et al. (2023), concentrações de P4 abaixo de 2,5 ng/mL no momento da deposição do embrião (D0) levaram a uma queda nas taxas de prenhez em receptoras bovinas de embrião, embora seja considerada normal a variação plasmática de P4 de 1 a 6 ng/mL sete dias após a ovulação (NIEMAN et al., 1985). De acordo com LONERGAN e SANCHEZ (2020), a progesterona promove as alterações transcriptômicas endometriais garantindo o adequado desenvolvimento embrionário, assim como fatores intrínsecos ao embrião e à programação luminal independente de esteróides sexuais (BINELLI et al., 2022). No presente estudo e no dia do DG, as médias das concentrações de P4 das gestantes ($13,85 \pm 9,49$ ng/mL) e não gestantes ($10,10 \pm 7,80$ ng/mL) mostram que as fêmeas não gestantes apresentaram concentrações altas, sugerindo que essas receptoras sofreram luteólise referente ao C.L. do dia da transferência e reiniciaram um novo ciclo estral, apresentando C.L. ativo no DG (30 dias após a deposição do embrião).

Tabela 3. Concentração sérica da progesterona (P4: ng/mL) em vacas lactantes receptoras de embrião, nos dias da inovulação (D0), 7 (D7) e 30 (DG) dias após a inovulação.

CATEGORIA	Nº ANIMAIS	D0 (INOVULAÇÃO) (\bar{x} e s)	D7 (7 DIAS APÓS D0) (\bar{x} e s)	DG (30 DIAS APÓS D0) (\bar{x} e s)
Gestante	05	6,68 ± 3,33	16,83 ± 10,24	13,85 ± 9,49
Não gestante	17	4,60 ± 2,99	10,21 ± 6,02	10,10 ± 7,80
TESTE T ($p < 0,05$)		0,13	0,11	0,23

\bar{x} : média; s: desvio padrão.

Os resultados da glicoproteína 2 associada à gestação (PAG – 2) diferiram nas duas últimas coletas (D7 e DG) entre o grupo gestante e não gestante ($p < 0,05$; tabela 4), porém o mesmo não ocorreu no dia da transferência (D0) ($p > 0,05$). Segundo BARBATO et al. (2022), nem todas as PAG's estão presentes no mesmo estágio da prenhez e, conforme GREEN et al. (2000), as PAG - 2, - 8, - 10, - 11 estão presentes em todo o período gestacional, porém apresentam concentrações variáveis no primeiro mês após o serviço e todos os tipos de PAG's podem ser detectados até 80 a 100 dias após o parto. Diante disso, poderíamos inferir que os valores alcançados das PAG – 2 no D0 seriam provenientes de gestações ou perdas embrionárias ocorridas nos últimos 80 a 100 dias, porém, nos grupos experimentais do presente estudo, havia somente 8 dos 22 animais nessa situação. Em face desse acontecimento, provavelmente pode ter ocorrido interferência imunológica (SAFAK et al., 2025). BARBATO et al. (2023) utilizaram como referência para fêmeas não gestantes concentrações de PAG próximos a 0 ng/mL durante toda a amostragem e, para as gestantes, concentrações superiores a 1 ng/mL nos dias 28 e 40 após a fertilização e POHLER et al. (2016) relataram perdas gestacionais com concentrações sanguíneas de $< 0,72$ ng/mL com 28 dias de prenhez. À vista disso, podemos observar que os valores obtidos no presente estudo estão divergindo dos supracitados. O kit utilizado foi ineficaz na predição da viabilidade embrionária desses animais aos 30 dias após a deposição do embrião, sendo necessária a avaliação ultrassonográfica para a confirmação da prenhez.

Tabela 4. Concentração sérica da glicoproteína 2 associada à gestação (PAG – 2: ng/mL) em vacas lactantes, receptoras de embrião, nos dias da inovulação ou TETF (D0), 7 (D7) e 30 (DG) dias após a inovulação.

CATEGORIA	Nº ANIMAIS	D0 (\bar{x} e s)	D7 (\bar{x} e s)	DG (\bar{x} e s)
Gestante	05	14,26 ± 6,19	18,3 ± 4,03	19,69 ± 4,15
Não gestante	17	12,12 ± 7,72	13,64 ± 6,03	12,02 ± 6,61
TESTE T ($p < 0,05$)		0,27	0,04	0,004

\bar{x} : média; s: desvio padrão.

Nas análises das concentrações das proteínas de fase aguda (PFA's), amilóide A sérica (SAA) e haptoglobina (Hp), não se verificou diferença entre os valores médios nos grupos de fêmeas gestantes e não gestantes, referentes aos dias de coletas (D0, D7 e DG; $p > 0,05$; tabela 5). Segundo CECILIANI et al. (2012), vacas saudáveis apresentam SAA com valores médios inferiores a 1,3 $\mu\text{g/mL}$ e para a Hp devem ser abaixo de 10 mg/dL. Um único animal, do grupo gestante, apresentou nos três momentos (D0, D7 e DG) valores de Hp superior ao supracitado (18,2; 26,44 e 28,07 mg/dL), sendo retirada da análise estatística desse parâmetro. Embora apresentasse valores acima dos limites de referência, acreditamos que o processo de fase aguda não estivesse ocorrendo nos órgãos reprodutivos, uma vez que o animal encontrava – se gestante aos 30 dias após a deposição do embrião. Pode – se inferir que a manutenção de valores séricos de SAA e Hp dentro dos limites de referência é indicativo de um estado fisiológico estável, onde não há ativação significativa da resposta inflamatória sistêmica.

Tabela 5. Concentração sérica das proteínas de fase aguda Amilóide sérica (SAA: $\mu\text{g/mL}$) e Haptoglobina (Hp: mg/dL) em vacas lactantes receptoras de embrião, nos dias da inovulação ou TETF (D0), 7 (D7) e 30 (DG) dias após a inovulação.

PFA's	CATEGORIA	Nº ANIMAIS	D0 (\bar{x} e s)	D7 (\bar{x} e s)	DG (\bar{x} e s)
SAA ($\mu\text{g/mL}$)	Gestante	05	0,50 ± 0,29	0,56 ± 0,41	0,31 ± 0,41
	Não gestante	17	0,42 ± 0,77	0,31 ± 0,21	0,26 ± 0,15
	TESTE T ($p < 0,05$)		0,37	0,13	0,41
Hp (mg/dL)	Gestante	05	2,55 ± 2,74	4,78 ± 5,48	1,75 ± 2,35
	Não gestante	17	2,26 ± 2,51	2,28 ± 1,83	1,30 ± 1,44
	TESTE T ($p < 0,05$)		0,42	0,21	0,36

\bar{x} : média; s: desvio padrão.

CONCLUSÃO

As receptoras avaliadas no presente estudo apresentaram valores dos parâmetros analisados dentro das faixas de referência, indicando condições fisiológicas adequadas para a manutenção da gestação;

O teste PAG 2 BOVINE, no presente estudo, não foi eficaz na detecção da gestação dos animais. Entretanto, os testes SAA BOVINE e HP BOVINE foram eficientes na predição da saúde das receptoras;

Apesar da taxa de prenhez obtida aos trinta dias após a transferência seja classificada como excelente (58,53%), outros fatores não estudados, provavelmente influenciaram nas perdas embrionárias detectadas no presente trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBATO, O. et al. Using pregnancy associated glycoproteins (PAGs) to improve reproductive management: from dairy cows to other dairy livestock. **Animals**, v.12, p. 1 – 16. 2022.

BARBATO, O. et al. Gene expression of pregnancy-associated glycoproteins-1 (PAG-1), interferon-tau (IFNt) and interferon stimulated genes (ISGs) as diagnostic and prognostic markers of maternal-fetal cellular interaction in buffalo cows. **Theriogenology**, v. 209, p. 89 – 97. 2023.

BINELLI, M. et al. Endometrial receptivity in cattle: the mutual reprogramming paradigm. **Animal Reproduction**, v.19, p. 1 – 11. 2022.

BÓ, G.A. et al. The control of follicular wave development for self – pointed embryo transfer programs in cattle. **Theriogenology**, v. 57, p. 53 – 72. 2002.

BRUINJÉ, T.C. et al. Associations of inflammatory and reproductive tract disorders postpartum with pregnancy and early pregnancy loss in dairy cows. **Journal Dairy Science**, v. 107, p. 1630 – 1644. 2023.

CARLETTI, M.Z. et al. Micro RNA 21 blocks apoptosis in mouse periovulatory granulosa cells. **Biology Reproduction**, v. 83, p. 2188 – 2198. 2010.

CECILIANI, F. et al. Acute phase proteins in ruminants. **Journal of Proteomics**, v. 75, p. 4207 – 4231. 2012.

CERÓN, L.L. et al. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 34, n. 2, p. 85 – 99. 2005.

DANTAS, K.S.A. et al. Seleção de receptoras em um programa de transferência de embriões (PIVE) em bovinos no nordeste do Brasil. **Ciência Animal**. v.9, p.7, 2018.

DONADEU, F.X. et al. Relationships between size, steroidogenesis, and miRNA expression of the bovine corpus luteum. **Theriogenology**, v. 145, p. 226 – 230. 2020.

EDMONSON, A.J. et al. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 72, p. 68–78, 1989.

FERREIRA, A.M. **Reprodução da fêmea bovina. Fisiologia aplicada e problemas mais comuns (causas e)**, 1ª edição, p. 27 – 64. 2010.

GREEN, J.A. et al. Pregnancy associated bovine and ovine glycoproteins exhibit spatially and temporally distinct expression patterns during pregnancy. **Biology of Reproduction**, v. 62, p. 1624 – 1631. 2000.

GRILLO, G.F. et al. Comparação da taxa de prenhez entre novilhas, primíparas e multiparas da raça Nelore submetidas à IATF. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 37, p. 193 – 197. 2015.

GINTHER, O.J. et al. Ovarian follicular dynamics in heifers during early pregnancy. **Biology of Reproduction**, v. 41, p. 247 – 254. 1989.

JOSHI, V. et al. Haptoglobin and sérum amyloid A as putative biomarker candidates of naturally occurring bovine respiratory disease in dairy calves. **Microbial Pathogenesis**, v. 116, p. 33 – 37. 2018.

KAREN, A. et al. Accuracy of ultrasonography and pregnancy- associated glycoprotein test for pregnancy diagnosis in buffaloes. **Theriogenology**, v.68, p. 1150-1155. 2007.

LONERGAN, P.; SANCHEZ, J.M. Symposium review: progesterone effects on early embryo development in cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 103, p. 8698.- 8707. 2020.

MARTINS, C.F. Fertilização *in vitro* pode acelerar melhoramento genético de rebanhos leiteiros. **Embrapa Cerrado**. 2016.

MELLO, R. et al. Produção *in vitro* (PIVE) de embriões bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 40, p. 58 – 64. 2016.

MOHAMMED, B.T. et al. The adequate corpus luteum: miR – 96 promotes luteal cell survival and progesterone production. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 102, p. 2188 – 2198. 2017.

MUNHOZ, S.K. et al. Pregnancy losses in *Bos indicus* influenced beef and dairy recipients assigned to a fixed – time embryo transfer protocol. **Animal Reproduction Science**, v. 264, p. 1 – 36. 2024.

NETO, H.F. et al. Parâmetros que afetam a taxa de prenhez de receptoras bovinas de embriões produzidos *in vitro*. **Medicina Veterinária**, Recife, v. 8, n. 3, p. 31 – 35. 2014.

NIEMANN, H. et al. Pregnancy rates relative to recipient plasma progesterone levels on the day of nonsurgical transfer of frozen/ thawed bovine embryos. **Theriogenology**, v. 23, p. 631 – 639. 1985.

NONATO Jr., I et al. Produção de embriões em vacas nelore com a utilização associada de FIV e TE. **Anais SBTE 18**, v.32, p.95. 2004.

POHLER, K.G. et al. Use of bovine pregnancy associated glycoproteins to predict late embryonic mortality in postpartum Nelore beef cows. **Theriogenology**, v. 85, p. 1652 – 1659. 2016.

POHLER, K.G. et al. New approaches to diagnose and target reproductive failure in cattle. **Animal Reproduction**, v. 17, p. 1 – 19. 2020.

PUGLIESI, G. et al. Review: Current status of corpus luteum assessment by Doppler ultrasonography to diagnose non pregnancy and select embryo recipients in cattle. **Animal**, v. 17, p. 1 - 12. 2023.

SACO, Y.; BASSOLS, A. Acute phase proteins in cattle and swine: a review. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 52, p. 50 – 63. 2023.

SARTORI, R. Fertilização e morte embrionária em bovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32 (suplemento), p. 35 – 50. 2004.

SARTORI, R.; DODE, M.A.N.; Mortalidade embrionária na IA, TE, FIV e clonagem. **In: Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**, 3, 2008, Londrina. Anais... Londrina: SIRAA, p. 175 – 194. 2008.

SARTORI et al. Perda gestacional em bovinos. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, v. 32 (Supl. 1), p. 45 – 61. 2024.

SARTORI et al. Pregnancy loss in cattle with emphasis on embryo transfer programs. **Animal Reproduction**, v. 22, p. 1 – 14. 2025.

SCANAVEZ, A.L.; CAMPOS, C.C.; SANTOS, R.M. Taxa de prenhez e de perda de gestação em receptoras de embriões bovinos produzidos in vitro. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 3, p. 722 - 728. 2013.

SAFAK, T. et al. Evaluation of the accuracy and performancy of two comercial pregnancy – associated glycoprotein tests for early pregnancy detection in cows. **Veterinary Medicine and Science**, v. 11, p.1 – 7. 2025.

SILKE, V. et al. Extent, pattern and factors associated with late embryonic loss in dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 71, p. 1 – 12. 2002.

TAMBULENI, A.H.P. et al. Avaliação de receptoras de embriões bovinos usando ultrassonografia modo-B e Doppler colorido. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.43, p. 25 – 30. 2019.

VALCHUK, O.A. et al. Concentration of progesterone in the blood sérum and size of the corpus luteum as criteria for selection of recipiente cow for embryo transfer. **Regulatory Mechanisms in Biosystems**, v. 14, p. 564 – 569. 2023.

WILTBANK, M.C. et al. Pivotal periods for pregnancy loss during the first trimester of gestation in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v. 86, p. 239 – 253. 2016.

WOODING, F.B. et al. Light and electron microscope immunocytochemical studies of the distribution of pregnancy associated glycoproteins (PAGs) throughout pregnancy in the cow: possible functional implications. **Placenta**, v. 26, p. 807 - 827. 2005.

WOLLOWSKY, L. et al. The value of the biomarkers cathelicidin, milk amyloid A, and haptoglobin to diagnose and classify clinical and subclinical mastites. **Journal od Dairy Science**, v. 2, p. 2106 – 2122. 2021.