

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE ZOOTECNIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA**  
**ANIMAL**

**TESE**

**Efeito da Suplementação com Progesterona de Longa Ação  
no Desenvolvimento Embrionário e Fetal na Perda  
Gestacional de Fêmeas Nelore**

**Lara Nogueira Silenciato**

**2022**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE ZOOTECNIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM PROGESTERONA DE LONGA  
AÇÃO NO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO, FETAL, PÓS-  
NATAL E NA PERDA GESTACIONAL DE FÊMEAS NELORE**

**LARA NOGUEIRA SILENCIATO**

*Sob a Orientação do Professor*  
**Marco Roberto Bourg de Mello**

*e Co-orientação do Professor*  
**Joaquim Esquerdo Ferreira**

Tese submetida como requisito parcial  
para obtenção do grau de **Doutora**, no  
Programa de Pós-Graduação em Ciência  
Animal, Área de Concentração  
Zootecnia.

Seropédica, RJ  
Janeiro de 2022

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S581e      SILENCIATO, LARA NOGUEIRA, 1992-  
             EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM PROGESTERONA DE LONGA  
             AÇÃO NO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO, FETAL, PÓS-NATAL  
             E NA PERDA GESTACIONAL DE FÊMEAS NELORE / LARA  
             NOGUEIRA SILENCIATO. - SEROPÉDICA, 2022.  
             81 f.: il.

             Orientador: MARCO ROBERTO BOURG DE MELLO.  
             Coorientador: JOAQUIM ESQUERDO FERREIRA.  
             Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do  
             Rio de Janeiro, PÓS GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA, 2022.

             1. REPRODUÇÃO. 2. GADO DE CORTE. 3. INSEMINAÇÃO  
             ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO-IATF. 4. PROGESTERONA. 5.  
             PRODUÇÃO. I. MELLO, MARCO ROBERTO BOURG DE, 1971-,  
             orient. II. FERREIRA, JOAQUIM ESQUERDO, 1987-,  
             coorient. III Universidade Federal Rural do Rio de  
             Janeiro. PÓS GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA. IV. Título.



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**



**TERMO Nº 188 / 2022 - PPGZ (12.28.01.00.00.00.61)**

**Nº do Protocolo: 23083.013021/2022-31**

**Seropédica-RJ, 28 de fevereiro de 2022.**

**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**Seropédica-RJ, 27 de janeiro de 2022.**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE  
JANEIRO  
  
INSTITUTO DE ZOOTECNIA  
  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA  
ANIMAL**

**LARA NOGUEIRA SILENCIATO**

Tese submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutora, no Programa de Pós Graduação em Ciência Animal, Área de Concentração em Ciência Animal.

**TESE APROVADA EM 27/01/2022.**

Conforme deliberação número 001/2020 da PROPPG, de 30/06/2020, tendo em vista a implementação de trabalho remoto e durante a vigência do período de suspensão das atividades acadêmicas presenciais, em virtude das medidas adotadas para reduzir a propagação da pandemia de Covid-19, nas versões finais das teses e dissertações as assinaturas originais dos membros da banca examinadora poderão ser substituídas por documento(s) com assinaturas eletrônicas. Estas devem ser feitas na própria folha de assinaturas, através do SIPAC, ou do Sistema Eletrônico de Informações (SEI) e neste caso a folha com a assinatura deve constar como anexo ao final da tese/ dissertação.

**Banca Examinadora:**

Marco Roberto Bourg de Mello, Dr. UFRRJ - (Presidente)

Rodrigo Vasconcelos de Oliveira, Dr. UFRRJ

Rondineli Pavezzi Barbero, Dr. UFRRJ

Sérgio Trabali Camargo Filho, Dr. PESAGRO-RIO

Ângelo José Burla Dias, Dr. UENF

*(Assinado digitalmente em 04/03/2022 16:44 )*

MARCO ROBERTO BOURG DE MELLO  
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR  
DeptRAA (12.28.01.00.00.00.64)  
Matrícula: 1548043

*(Assinado digitalmente em 03/03/2022 09:49 )*

RODRIGO VASCONCELOS DE OLIVEIRA  
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR  
PPGZ (12.28.01.00.00.00.61)  
Matrícula: 2142739

*(Assinado digitalmente em 01/03/2022 08:25 )*

RONDINELI PAVEZZI BARBERO  
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR  
CoordCGZ (12.28.01.00.00.00.60)  
Matrícula: 2316004

*(Assinado digitalmente em 07/03/2022 09:51 )*

ANGELO JOSÉ BURLA DIAS  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: 641.157.986-53

*(Assinado digitalmente em 04/03/2022 17:28 )*

SERGIO TRABALI CAMARGO FILHO  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: 806.909.987-91

Para verificar a autenticidade deste documento entre em  
<https://sipac.ufrj.br/public/documentos/index.jsp> informando seu número: **188**, ano:  
**2022**, tipo: **TERMO**, data de emissão: **28/02/2022** e o código de verificação: **0804355052**

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus por ter me guiado a conquistar todas essas vitórias na minha vida, por ter me dado forças para superar todos os obstáculos que apareceram ao longo do caminho e fé para nunca desistir.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro que me proporcionou realizar a graduação e Mestrado em Medicina Veterinária e agora o Doutorado em Zootecnia, me tornando uma pessoa e profissional melhor.

Aos meus pais, Jodair Silenciato e Ângela Aparecida Nogueira, e aos meus irmãos Diego Nogueira Silenciato e Lívia Nogueira Silenciato por me ajudarem a passar por todas as dificuldades mesmo com toda adistância.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Marco Roberto Bourg de Mello, por me ajudar durante a graduação e pós-graduação que me proporcionou um grande crescimento intelectual e pessoal, e pela amizade durante esses anos.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Joaquim Esquerdo Ferreira, por me ajudar de diversas formas durante a graduação e pós-graduação. Por tornar possível a realização do projeto e pelo companheirismo e amizade durante todos esses anos.

Aos funcionários do Setor de Reprodução Animal, Orozimbo (Sr. Zico) e José (Zézinho) por me ajudarem todo esse tempo e pela amizade.

A todos os funcionários da FAZENDA REUNIDAS INGUAIBA principalmente, Luiz, Sebastião (Tião) e Fabiano por me ajudarem e tornarem possível a execução deste trabalho.

Aos colegas Laura Ribeiro, Ricardo Dias e Otávia Reis e Silva pela ajuda e conversa para realização deste trabalho.

Aos alunos da UNIFAA Marcos Paiva e Mariana Okada por me ajudarem na execução do projeto e escrita da tese.

A todos os orientados, estagiários, amigos e colegas do Setor de Reprodução Animal que colaboraram na realização do trabalho.

**“O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001”**

## BIOGRAFIA

LARA NOGUEIRA SILENCIATO, filha de Jodair Silenciato e Ângela Aparecida Nogueira; nasceu em 24 de junho de 1992 na cidade de São Sebastião do Paraíso, Minas Gerais. Coursou a 5ª e 6ª series do ensino fundamental na Escola Núcleo Educacional São Francisco de Assis (NESFA) entre 2003 e 2004; e a 7ª e 8ª do ensino fundamental na Escola Estadual Paraisense, entre 2005 e 2006; o ensino médio foi cursado na Escola Estadual Benedito Ferreira Calafiore entre 2007 e 2009; ambas as escolas se situam em São Sebastião do Paraíso, Minas Gerais.

Ingressou no curso de graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro em agosto de 2010, concluindo-o em agosto de 2015. Durante a graduação, realizou estágio na área de Reprodução Bovina, no Setor de Reprodução Animal (SFRIA), do Instituto de Zootecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro sob a orientação do professor Doutor Marco Roberto Bourg de Mello no ano de 2010; realizou monitoria no Instituto de Biologia na UFRRJ, na disciplina de Química Fisiológica no ano de 2013. Realizou estágio na área de bovinocultura leiteira, no Setor de bovinocultura da UFRRJ sob a orientação do professor Doutor Helcimar Barbosa Palhano no ano de 2014 e ainda realizou Iniciação Científica sob a orientação da professora Doutora Andressa Ferreira da Silva no Departamento de Clínica e Cirurgia de Animais do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro no ano de 2015.

Realizou Pós-Graduação *Lato Sensu* em Produção Animal, no Instituto Federal do Sul de Minas, campus em Machado, Minas Gerais, entre 2014 e 2016.

Realizou Pós-Graduação *Stricto Sensu* no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, nível Mestrado, na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, sob a orientação do professor Doutor Marco Roberto Bourg de Mello, entre 2015 e 2017, recebendo bolsa CAPES.

Ingressou no Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Zootecnia, nível Doutorado, na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, sob a orientação do professor Doutor Marco Roberto Bourg de Mello, em agosto de 2017, recebendo bolsa CAPES.

## RESUMO GERAL

SILENCIATO, Lara Nogueira. **Efeito da suplementação com progesterona de longa ação no desenvolvimento embrionário, fetal, pós-natal e na perda gestacional de fêmeas Nelore**. 2022. 81p. Tese (Doutorado em Ciência Animal). Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2022.

O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da progesterona injetável de longa ação (P4LA), administrada no início do diestro (sete dias após a inseminação), sobre o desenvolvimento embrionário, fetal e pós-natal, assim como sobre a taxa de prenhez e perda gestacional de fêmeas Nelores. Para tanto, foram desenvolvidos dois experimentos, sendo que no primeiro, o objetivo foi determinar os efeitos da suplementação de P4LA sobre as taxas de prenhez e de perdas gestacionais. Assim, 403 fêmeas (novilhas e vacas) foram submetidas ao mesmo protocolo de sincronização da ovulação para realização de Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF). Após a realização da IATF, os animais foram divididos em dois grupos de acordo com o escore de condição corporal, ciclicidade e presença de bezerro ao pé, de maneira que em cada grupo, houvesse proporção semelhante de fêmeas levando em consideração estas três variáveis. O grupo P4 (GP4; n=208) foi constituído por fêmeas que receberam 150 mg de P4LA (Sincrogest® Injetável, Ourofino, Cravinhos/SP), via intramuscular, em dose única, e o grupo Controle (GC; n= 195), por fêmeas que não receberam nenhuma suplementação hormonal após a IATF. O diagnóstico de gestação foi realizado aos 30 e 90 dias pós-IATF por ultrassonografia transretal. No segundo experimento, o objetivo principal foi avaliar o efeito da suplementação de P4LA sobre o desenvolvimento embrionário, fetal e pós-natal. Para tanto, foram utilizadas 119 fêmeas gestantes provenientes do experimento I. Amostras de sangue foram coletadas nos dias 17 e 30 pós-IATF, para determinação da concentração de progesterona. O desenvolvimento embrionário foi avaliado aos 30 dias de gestação pela mensuração ultrassonográfica do comprimento crânio-caudal (CRL - crown-to-rump length). Para avaliação do desenvolvimento fetal, foi mensurado o diâmetro torácico (DTO) aos 45 dias de gestação, tomando-se a medida ultrassonográfica da distância máxima entre as extremidades laterais do tórax. O desenvolvimento pós-natal foi avaliado pelo peso ao nascimento. Os dados dos dois experimentos foram submetidos à análise de correlação linear de Pearson, regressão logística binária e ajuste de modelo para análise de variância pelo teste de Wald. A estatística de teste para a significância dos coeficientes foi realizada pelo teste z. As variáveis quantitativas foram comparadas pelo teste t de Student, a 5% de probabilidade. No experimento I, não foi observada diferença significativa entre os grupos GP4 e GC para a taxa de prenhez e perda gestacional (0,3 e 0,61, respectivamente). No experimento II, também não houve diferença entre os grupos suplementados ou não com P4LA em relação à concentração de progesterona mensurada nos dias 17 e 30 pós-IATF (0,73 e 0,62, respectivamente) assim como não foi observada diferença para o desenvolvimento embrionário, fetal e pós-natal (0,59, 0,09 e 0,64, respectivamente) em relação ao grupo suplementado e controle. Conclui-se que a utilização de P4LA no início do diestro, não foi uma estratégia eficaz para melhorar a taxa de prenhez e diminuir a perda gestacional, além de não interferir no desenvolvimento embrionário, fetal e pós-natal de fêmeas Nelore submetidas à IATF.

**Palavras-chaves:** Eficiência reprodutiva, IATF, Diestro inicial, Progestágeno, Gestação.



## GENERAL ABSTRACT

SILENCIATO, Lara Nogueira. **Effect of long-acting progesterone supplementation on embryonic, fetal, postnatal development and pregnancy loss in Nellore females.** 2022. 81p. Thesis (Doctorate in Animal Science). Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2022.

The present study aimed to evaluate the effects of long-acting injectable progesterone (P4LA), administered at the beginning of diestrus (seven days after insemination), on embryonic, fetal and postnatal development, as well as on pregnancy rate and gestational loss in Nellore females. For that, two experiments were carried out, the first of which the objective was to determine the effects of P4LA supplementation on the pregnancy rate and on the gestational loss. Thus, 403 females (heifers and cows) were submitted to the same ovulation synchronization protocol to perform Timed Artificial Insemination (TAI). After TAI, the animals were divided into two groups according to the score of body condition, cyclicity and calf presence so that in each group there was a similar proportion of females taking these three variables into account. The P4 group (GP4; n=208) consisted of females who received 150mg of P4LA (Sincrogest® Injectable, Ourofino, Cravinhos/SP), intramuscularly, in a single dose, and the Control group (CG; n=195) by females who received no hormonal supplementation after TAI. Pregnancy diagnosis was performed at 30- and 90-days post-TAI by transrectal ultrasonography. In the second experiment, the main objective was to evaluate the effect of P4LA supplementation on embryonic, fetal and postnatal development. For that, 119 pregnant females from experiment I were used. Blood samples were collected, on days 17 and 30 post-TAI, to determine the concentration of progesterone. Embryonic development was assessed at 30 days of gestation by ultrasonographic measurement of crown-to-rump length (CRL). To assess fetal development, the thoracic diameter (TOD) was measured at 45 days of gestation, taking the ultrasonographic measurement of the maximum distance between the lateral ends of the chest. Postnatal development was assessed by birth weight. Data from the two experiments were submitted to Pearson's linear correlation analysis, binary logistic regression and model adjustment for analysis of variance using the Wald test. The test statistic for the significance of the coefficients was performed by the Z test. Quantitative variables were compared using Student's t test at 5% probability. In experiment I, no significant difference was observed between the GP4 and CG groups for pregnancy rate and gestational loss (0.3 and 0.61, respectively). In experiment II, there was also no difference between groups supplemented or not with P4LA in relation to the concentration of progesterone measured on days 17 and 30 post-TAI (0.73 and 0.62, respectively) and no difference was observed for embryonic, fetal and postnatal development (0.59, 0.09 and 0.64, respectively). It is concluded that the use of P4LA at the beginning of diestrus was not an effective strategy to improve the pregnancy rate and reduce gestational loss, in addition to not interfering with the embryonic, fetal and postnatal development of Nellore females submitted to TAI.

**Keywords:** Reproductive efficiency, TAI, early diestrus, progestin, pregnancy.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>1</b>
<b>2 CAPÍTULO I .....</b>	<b>3</b>
<b>2.2 Controle Endócrino do Ciclo Estral .....</b>	<b>3</b>
<b>2.3 Fase Folicular e Luteal .....</b>	<b>5</b>
<b>2.4 Luteólise .....</b>	<b>7</b>
<b>2.5 Progesterona .....</b>	<b>9</b>
<b>2.5.1 Síntese e mecanismo de ação .....</b>	<b>9</b>
<b>2.5.2 Fatores regulatórios .....</b>	<b>12</b>
<b>2.6 Estratégias para Incremento da Progesterona após a IATF .....</b>	<b>13</b>
<b>2.7 Interação Materno-Fetal .....</b>	<b>18</b>
<b>2.7.1 Blastogênese .....</b>	<b>18</b>
<b>2.7.2 Reconhecimento materno-fetal .....</b>	<b>19</b>
<b>2.8 Perda Gestacional .....</b>	<b>20</b>
<b>2.8.1 Perda gestacional precoce e tardia .....</b>	<b>20</b>
<b>2.8.2 Principais causas de perda gestacional .....</b>	<b>21</b>
<b>2.9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>23</b>
<b>3 CAPÍTULO II: UTILIZAÇÃO DE PROGESTERONA INJETÁVEL SETE DIAS APÓS A IATF COMO ESTRATÉGIA PARA MELHORAR A EFICIÊNCIA REPRODUTIVA DE FÊMEAS NELORE .....</b>	<b>40</b>
<b>3.1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>42</b>
<b>3.2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>44</b>
<b>3.2.1 Local e período .....</b>	<b>44</b>
<b>3.2.2 Animais e manejo .....</b>	<b>44</b>
<b>3.2.3 Sincronização da ovulação e inseminação .....</b>	<b>44</b>
<b>3.2.4 Delineamento experimental .....</b>	<b>45</b>
<b>3.2.5 Diagnóstico de gestação e avaliação da perda gestacional .....</b>	<b>46</b>
<b>3.2.6 Perfil sanitário .....</b>	<b>46</b>
<b>3.2.7 Análise estatística .....</b>	<b>46</b>
<b>3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>47</b>
<b>3.4 CONCLUSÕES .....</b>	<b>51</b>
<b>3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>52</b>
<b>4 CAPÍTULO III: EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM PROGESTERONA INJETÁVEL, SETE DIAS APÓS A IATF, SOBRE O DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO E FETAL DE FÊMEAS NELORE .....</b>	<b>56</b>
<b>4.1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>58</b>
<b>4.2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>59</b>
<b>4.2.1 Local e período .....</b>	<b>59</b>

<b>4.2.2 Animais e delineamento experimental.....</b>	<b>59</b>
<b>4.2.3 Dosagem de progesterona .....</b>	<b>59</b>
<b>4.2.4 Avaliação ultrassonográfica de medida embrionária, fetal e pesagem ao nascimento .....</b>	<b>60</b>
<b>4.2.5 Análise estatística.....</b>	<b>61</b>
<b>4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>62</b>
<b>4.4 CONCLUSÕES.....</b>	<b>66</b>
<b>4.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>67</b>
<b>5 CONCLUSÕES GERAIS .....</b>	<b>70</b>

# 1 INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil possui o segundo maior rebanho bovino do mundo e o primeiro maior rebanho comercial, já que a Índia não explora comercialmente os seus animais. O país é também o maior exportador de carne em toneladas e em faturamento, exportando cerca de 26% de sua produção, apesar de ainda possuir taxas produtivas (abate e produção de bezerros, por exemplo) abaixo dos seus maiores concorrentes (ABIEC, 2021). Para aumentar o nível de produtividade, o surgimento e o emprego de biotécnicas reprodutivas tem sido determinante. Dentre estas, a Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) tem se destacado de maneira rápida sobre as demais, sobretudo em gado de corte. Utilizando a IATF, as vacas têm a ovulação induzida e a inseminação artificial (IA) pode ser realizada com data e hora marcada, facilitando o trabalho da IA. Com utilização da IATF, o produtor dispensa a observação deaios do rebanho, economiza mão-de-obra, aumenta a taxa de serviço, melhora a eficiência reprodutiva e planeja melhor o nascimento dos bezerros na propriedade.

Muitos estudos vêm sendo realizados com foco na IATF no intuito de melhorar a eficiência da mesma, e conseqüentemente elevar os índices reprodutivos dos rebanhos. Esses estudos levam em conta diversos fatores que possam afetá-la, como: categoria animal (novilhas ou vacas), ciclicidade, escore de condição corporal (ECC), raças, melhor momento da utilização de alguns hormônios, entre outros fatores.

Associado a isso, estudos com a administração de progestágeno ou progesterona (P4) após protocolos de IATF vêm se tornando cada vez mais comuns, com o propósito de diminuir as perdas gestacionais, uma vez que a progesterona é o hormônio responsável pelo estabelecimento e manutenção da gestação, sendo a mesma produzida pelo corpo lúteo (CL). Em bovinos, um dos fatores causadores de infertilidade tem sido atribuído ao funcionamento inadequado do CL, sendo esta situação caracterizada por uma baixa concentração periférica de P4. Uma deficiência na secreção desse hormônio esteroide por parte do CL poderia contribuir para perdas gestacionais precoces, sendo essa uma das justificativas para utilização de P4 após a IATF.

Muitos fatores relacionados à administração de P4 após a IATF já vem sendo estudados, como o melhor momento de aplicação e a categoria mais sensível a essa variação de P4 (COUTO et al., 2019). No entanto, poucos estudos vêm sendo realizados relacionando esse aumento de P4 ao desenvolvimento embrionário, fetal. Alguns mecanismos bioquímicos já são bem elucidados da ação da progesterona no início do desenvolvimento embrionário, contudo ainda não é bem esclarecido se esse aumento de progesterona após a inseminação pode levar a um maior desenvolvimento embrionário e conseqüentemente fetal, o que pode resultar em menores perdas gestacionais ou ainda em bezerros desmamados mais pesados, tendo um possível efeito na epigenética. Assim, estudos que investiguem os efeitos da suplementação de P4 no diestro inicial sobre o desenvolvimento embrionário e fetal são importantes e necessários.

Quando surgem novas estratégias para melhorar a eficiência reprodutiva do rebanho, muitos fatores devem ser levados em consideração, como aplicabilidade da técnica, eficiência na taxa de prenhez, diminuição das perdas gestacionais, desenvolvimento embrionário e fetal, taxa e facilidade de nascimento e por fim, desenvolvimento pós-natal.

As hipóteses do presente estudo são que a suplementação de progesterona de longa ação, no início do diestro: i) promove um maior desenvolvimento embrionário, fetal e pós-natal; ii) melhora a taxa de concepção e iii) diminui a perda gestacional de fêmeas Nelore submetidas à IATF.

Diante do que foi apresentado acima, a presente tese foi estruturada em três partes, apresentadas em forma de capítulos. A primeira (Capítulo I), sendo uma revisão de literatura com objetivo de embasar a metodologia utilizada nos experimentos. A segunda parte está

apresentada em forma de artigo científico (Capítulo II), cujo objetivo foi avaliar o efeito da suplementação de P4 injetável de longa ação, no início do diestro, sobre a taxa de prenhez e a perda gestacional de fêmeas Nelore submetidas à IATF. A terceira e última parte da tese, também em forma de artigo (Capítulo III), é um experimento cujo objetivo principal foi de avaliar os efeitos da suplementação de P4 durante o diestro inicial sobre o desenvolvimento embrionário, fetal e pós-natal em fêmeas Nelore.

## **2 CAPÍTULO I**

### **2.1 Ciclo Estral**

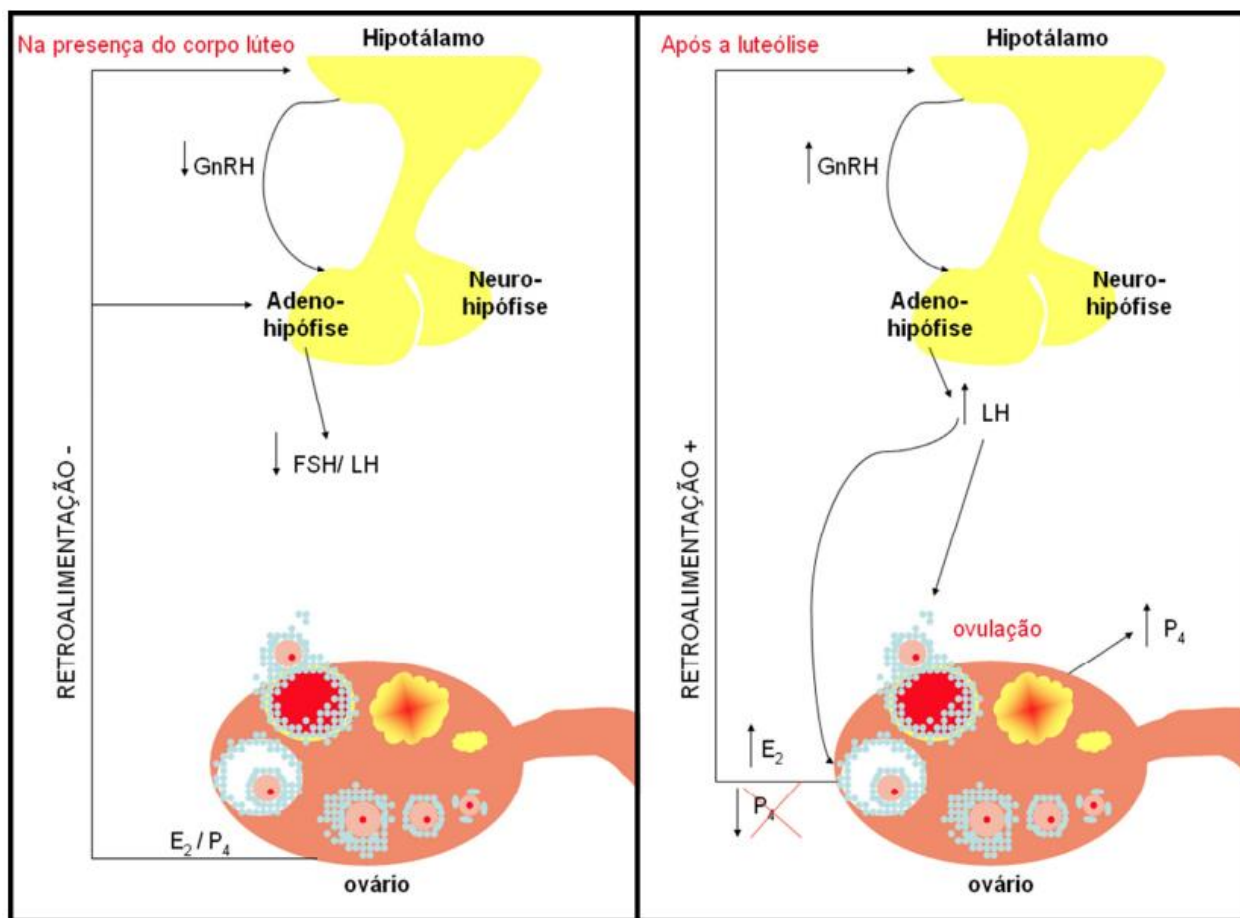
O ciclo estral é o tempo entre dois períodos de estro e é regulado pela interação de vários órgãos: entre eles estão o eixo hipotálamo-hipofisário, o ovário e o útero (RIPPE, 2009). O ciclo estral bovino pode ser dividido em duas fases: folicular e luteal (FORDE et al., 2011). Onde é subdividida em proestro e estro (fase folicular) e metaestro e diestro (fase luteínica). O período de proestro é caracterizado pelo declínio nos níveis de progesterona, desenvolvimento folicular e aumento dos níveis de estradiol no sangue e já no período de estro, a ocorrência de elevados níveis de estradiol, além de induzirem a manifestação do cio, são também responsáveis pela dilatação da cérvix, síntese e secreção do muco vaginal e o transporte dos espermatozoides no trato reprodutivo feminino, o metaestro tem como característica principal a ovulação e o diestro é o período em que o corpo lúteo passa a ser funcional, representado pela síntese e Liberação de elevados níveis de progesterona (DO VALLE, 1991). Os bovinos são considerados poliétricos não estacionais, apresentando um estro, em média, a cada 21 dias (18-24 dias) durante todo o ano (ROCHE, 1996; FORDE et al., 2011).

### **2.2 Controle Endócrino do Ciclo Estral**

Para o controle endócrino do desenvolvimento folicular, tem-se uma interação entre os mecanismos parácrinos e endócrinos. Na fase pré-antral, existe uma regulação local, destacando-se o papel do oócito e sua interação com as células da granulosa mediada pelo c-kit/KL (receptor do KL), BPM-15 (proteína morfogenética óssea-15) e GDF-9 (fator de crescimento diferencial-9). Ao contrário do que ocorre na fase antral, a fase pré-antral não depende de suporte gonadotrófico (BURATINI JR, 2007).

O hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) atinge as células da hipófise anterior via capilares do sistema porta hipofisário, sendo que sua função é estimular a produção e secreção do hormônio do folículo estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH). O FSH é responsável pela esteroidogênese, crescimento e maturação folicular e o LH está envolvido no crescimento folicular pós-seleção e nos processos de ovulação e de formação e manutenção do corpo lúteo (RIPPE, 2009).

A progesterona (P4) e o estradiol (E2), na maior parte do ciclo estral, inibem a secreção de LH por meio de feedback negativo sobre o hipotálamo e a hipófise. Uma queda nas concentrações plasmáticas de P4 após a luteólise faz com que esse feedback negativo deixe de existir, permitindo que a frequência e a amplitude dos pulsos de LH tenham um aumento. Neste período do ciclo estral, a secreção de E2 pelo folículo dominante é estimulada pela maior secreção de LH, e o primeiro folículo passa a exercer um feedback positivo sobre o hipotálamo, induzindo o pico pré-ovulatório de LH, como ilustrado na Figura 1 (KARSCH et al., 1979).



Giometti et al. (2009)

**Figura 1.** Esquema ilustrativo da mudança na endocrinologia da fêmea bovina, após a luteólise, para que ocorra a ovulação e, conseqüentemente, a formação do corpo lúteo. GnRH = hormônio liberador de gonadotrofinas, LH = hormônio luteinizante, FSH = hormônio folículo-estimulante, P4 = progesterona, E2 = estradiol. A progesterona e o estradiol inibem a secreção de LH por meio de retroalimentação negativa sobre o hipotálamo e a hipófise. Durante a luteólise, ocorre queda nas concentrações plasmáticas de progesterona e a retroalimentação negativa deixa de existir, permitindo um aumento lento na frequência e na amplitude dos pulsos de LH. Neste período do ciclo estral, a secreção de estradiol pelo folículo dominante é estimulada pela maior secreção de LH, e o primeiro passa a exercer retroalimentação positiva sobre o hipotálamo, induzindo o pico pré-ovulatório de LH.

Logo após a queda das concentrações circulantes de P4 ocorre a ovulação, levando a ruptura da membrana folicular e a expulsão do ócito, formando uma cavidade que imediatamente é invadida por linfa e sangue, oriundos dos capilares e pelas células restantes do folículo ovulado. Após o pico de LH, as células da teca interna e da granulosa sofrem um processo denominado luteinização, quando adquirem a capacidade de produção de P4. Assim, ocorre a formação do corpo lúteo (CL), uma glândula endócrina temporária, que tem como principal função o estabelecimento e a manutenção da gestação (SAKUMOTO, 2016). O CL possui ainda células denominadas não-esteroidogênicas que possuem um importante papel na formação, no desenvolvimento e na regressão luteal (MARTINS & FERREIRA, 2009).

A cada ciclo estral, as células esteroidogênicas luteais sintetizam e liberam P4 na circulação sistêmica para iniciar um processo de quiescência na contratilidade do miométrio e propiciar o desenvolvimento glandular do endométrio. Quando não há fertilização ou o conceito não consegue sinalizar sua existência no útero é promovida a falência funcional e

estrutural do CL, processo denominado de luteólise, que na maioria das espécies determina o término do ciclo estral. Em algumas espécies, o CL também é responsável pela síntese de outros hormônios como ocitocina, inibina e relaxina. Especialmente em ruminantes, a ocitocina constitui um dos hormônios que determinam a luteólise. A inibina induz a um bloqueio na liberação de FSH retardando o desenvolvimento folicular. O CL tem a capacidade de sintetizar vários hormônios, sendo a P4 o principal. A complexidade da estruturação do CL, a capacidade de síntese de P4 e o seu tempo de permanência nos ovários é variável nas diferentes espécies (BERTAN et al., 2006).

### **2.3 Fase Folicular e Luteal**

Fase folicular é o período compreendido entre a luteólise e a ovulação e dura, em média, de 4-6 dias em bovinos. Este período envolve o pró-estro e o estro (FORDE et al., 2011) e é caracterizado pelo crescimento folicular, sendo dividido em duas fases: pré-antral e antral. Na fase pré-antral os folículos primordiais (quiescentes) são estimulados por fatores locais, fatores de crescimento e peptídios e não expressam receptores de gonadotrofinas (FSH e LH), até que tenham mais de duas camadas de células da granulosa (folículos secundários) e formação de pequenos antros (McNATTY et al., 1999). Quando esses folículos se tornam dependentes de gonadotrofina (fase antral), o crescimento ocorre em padrão de ondas (2-3 ondas), e cada onda de crescimento folicular é caracterizada pela emergência/recrutamento, seleção/dominância e ovulação/atresia folicular (SAVIO et al., 1988).

A foliculogênese começa na fase fetal, quando células germinativas primordiais migram do saco vitelino para as gônadas primordiais e, então, a sequência mitótica ocorre a produção de células germinativas. Durante a foliculogênese, muitos eventos morfológicos e citológicos ocorrem nos oócitos. São essas mudanças que permitem que o oócito progrida no processo de foliculogênese, para ser posteriormente fertilizado, até o estágio de desenvolvimento do embrião. No ambiente uterino, durante o desenvolvimento fetal, células germinativas são formadas e essas células migram do saco vitelino para as cristas gonadais, sofrem sucessivas mitoses dando origem a ovogônias, estas permanecem ligados por processos citoplasmáticos, também conhecidos como células germinativas. Durante esta fase, as células somáticas nos mesonefros circundam as oogônias, formando um cordão e esta forma mais tarde os folículos primordiais. (SENEDA, 2021).

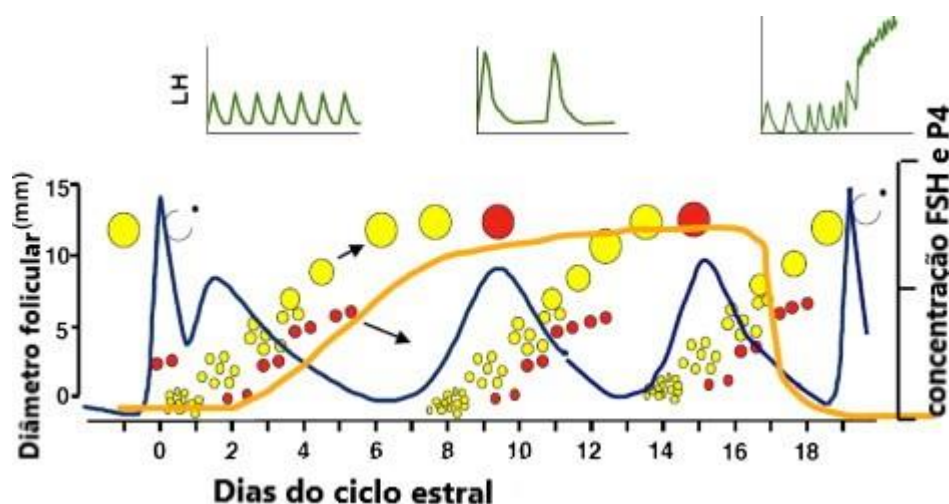
Em bovinos, o início da onda (emergência folicular) é marcado pelo recrutamento de um pool (5-20 folículos) de pequenos folículos antrais com diâmetro  $\geq 5\text{mm}$  e está diretamente ligado ao aumento transitório de FSH (EVANS & FORTUNE, 1997). Essa dependência do FSH possibilita a proliferação celular e o aumento gradual da capacidade esteroidogênica. Ao atingir nível máximo da concentração sérica de FSH, observa-se uma diminuição de sua secreção, e essa queda na concentração é causada pelos próprios folículos, que passam a produzir inibina, sendo este um supressor importante do FSH. Com o declínio de FSH, ocorre a divergência folicular (desvio), onde apenas um folículo será selecionado e se tornará dominante e os demais (subordinados) entrarão em atresia (GINTHER et al., 2001; GINTHER et al., 2002).

Para o folículo se tornar dominante, as células da granulosa precisam apresentar maiores quantidades de receptores de LH (RLH) um pouco antes de ocorrer a divergência folicular, sendo essa uma das principais características da cascata de eventos que levam ao início da divergência concomitante a queda de FSH (BEG et al., 2001). Depois da divergência folicular, o FD selecionado torna-se cada vez mais responsivo ao LH e continua crescendo diante da diminuição das concentrações de FSH (GINTHER et al., 2000). No entanto, caso exista no ovário um corpo lúteo funcional, a produção de P4 inibirá a pulsatilidade do LH, impedindo assim que o FD ovule, ocorrendo atresia folicular, iniciando-se nova onda folicular (MERTON



et al., 2003). Isso ocorre pois, durante a fase luteal inicial, os pulsos de LH são de menor amplitude e maior frequência (20-30 pulsos/24 h), e no período luteal médio os pulsos LH são de maior amplitude e menor frequência (6-8 pulsos/24 h), sendo ambos de amplitude e frequência insuficientes para maturação final e subsequente ovulação do FD (RAHE et al., 1980). Assim, os folículos dominantes produzidos durante a fase luteal do ciclo estral sofrem atresia por diminuição da produção de E2 e inibina, que cessa o feedback negativo no hipotálamo/hipófise, fazendo com que haja um aumento da secreção de FSH e, consequentemente, a emergência de uma nova onda folicular, como ilustrado na Figura 2 (FORDE et al., 2011).

No momento em que ocorre a divergência folicular da última onda e um folículo se torna dominante, não havendo mais a presença de um corpo lúteo funcional (em um animal que apresente um ciclo estral de duas ondas), o novo pulso de LH (pico pré-ovulatório) ocorrerá com aumento na concentração de E2 também induz a expressão do comportamento de estro necessário para que a fêmea aceite a monta e secreção de GnRH, que, determinará a ovulação deste folículo dominante (MERTON et al., 2003).



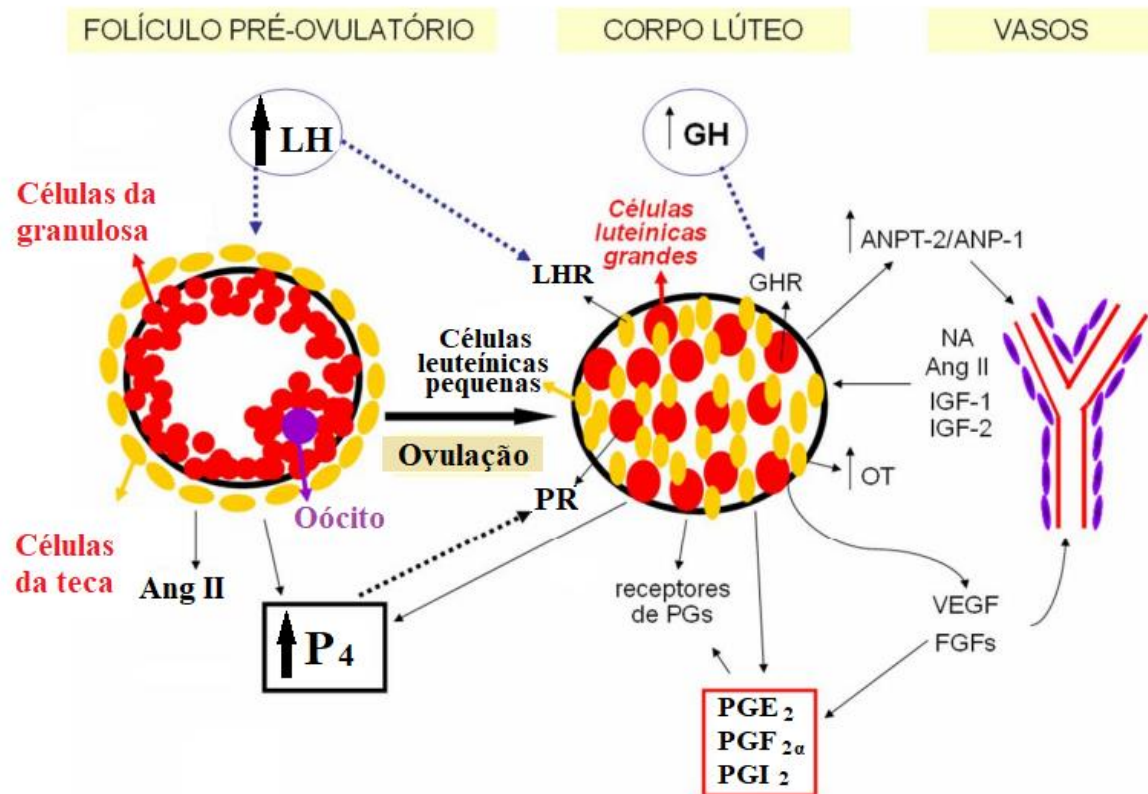
Forde et al. 2011.

**Figura 2.** Representação do padrão de secreção do hormônio folículo estimulante (FSH; linha azul), hormônio luteinizante (LH; linha verde) e progesterona (P4; linha laranja); e o padrão de crescimento dos folículos ovarianos durante o ciclo estral bovino. Crescimento dos folículos está representado de amarelo, folículos em atresia em vermelho. Cada onda de crescimento folicular é precedida por um aumento transitório nas concentrações de FSH. Uma onda de concentrações de LH e FSH ocorre no início do estro e induz a ovulação. O padrão de pulsatilidade do LH durante uma janela de 8h no início da fase luteal (maior frequência, menor amplitude), a fase luteal média (menor frequência, menor amplitude) e a fase folicular (alta frequência) são indicados nos gráficos no painel superior.

Durante a fase folicular, quando as concentrações de P4 são basais, o FD pré-ovulatório produz grande quantidade de E2 que induz uma liberação de GnRH no hipotálamo (Feedback positivo), levando a um pico de LH, ou seja, amplitude e frequência suficientes para estimular a maturação final e a ovulação do FD. Esse aumento na concentração de E2 também induz a expressão do comportamento de estro necessário para que a fêmea aceite a monta (IRELAND, 1987; SUNDERLAND et al., 1994;).

A formação do CL logo após a ovulação é o marco inicial da fase luteal, que pode ser dividida em metaestro e diestro (FORDE et al., 2011), na qual dura em média 16 a 17 dias nos bovinos (HAFEZ & HAFEZ, 2004). Após o pico de LH, que induz a ovulação, este mesmo

hormônio estimula a luteinização das células da granulosa e da teca, mudando sua função esteroidogênica na qual as mesmas passarão a produzir, principalmente, P4. Nesta fase, as células foliculares darão origem a dois tipos de células luteais: as células da granulosa vão dar origem as células luteais grandes e as células da teca darão origem as células luteais pequenas (NISWENDER et al., 2000). O CL é composto por uma mistura heterogênea de tipos celulares que vai além das células luteais esteroidogênicas. Nele, ainda são observadas células endoteliais vasculares, fibroblastos e células imunes como linfócitos e monócitos, como ilustrado na Figura 3 (SAWYER, 1995).



Giometti et al. 2009

**Figura 3.** Esquema ilustrativo dos fatores envolvidos no desenvolvimento do corpo lúteo. LH = hormônio luteinizante, GH = hormônio do crescimento, LHR = receptor de LH, GHR = receptor do GH, P4 = progesterona, PR = receptor de P4, ANPT = angiopoietina, NA = noradrenalina, Ang II = angiotensina II, IGF = fator de crescimento semelhante à insulina, OT = ocitocina, VEGF = fator de crescimento endotélio-vascular, PG = prostaglandina. A ligação da progesterona ao seu receptor é maior nas células luteínicas grandes que nas pequenas, o que indica envolvimento da progesterona na regulação parácrina/autócrina da função luteínica. O receptor de GH foi localizado nas células luteínicas grandes e nas células endoteliais do corpo lúteo de bovinos. Há maior biossíntese de PGF<sub>2α</sub>, PGE<sub>2</sub> e de PGI<sub>2</sub> no estágio inicial do desenvolvimento luteínico do que no estágio final. e a angiotensina II é convertida a angiotensina I em células endoteliais microvasculares do corpo lúteo bovino e que estas células contêm receptores de angiotensina II.

## 2.4 Luteólise

Em 1970, foi isolada uma substância de baixo peso molecular, extraída do útero, que apresentou uma ação luteolítica (LUKASZEWSKA & HANSEL, 1970). Então, em 1975, essa

substância foi identificada como um metabólito do ácido araquidônico, ou seja, prostaglandina  $2\alpha$  (HANSEL et al., 1975). Esse hormônio induz a perda da capacidade esteroidogênica e à apoptose as células luteais (KOMIYAMA et al., 2008). Essa ação pode ser dividida em luteólise funcional e luteólise morfológica, onde, a primeira está relacionada à diminuição aguda da P4 e a segunda, à morte celular e à regressão estrutural. A luteólise funcional começa a ocorrer 2 horas após a administração de  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , enquanto a luteólise morfológica se inicia após 24 horas (ROVANI et al., 2017).

Mecanismos que integram fatores autócrinos, parácrinos e endócrinos controlam a formação completa do corpo lúteo assim como a luteólise. Esses mecanismos são de extrema importância para o controle da ciclicidade ovariana e da manutenção da prenhez. Casos de desordem no ciclo ovariano, como regressão prematura do corpo lúteo, podem estar associados à infertilidade e ao abortamento. Sendo assim, o conhecimento aprofundado destes mecanismos complexos de desenvolvimento do corpo lúteo e luteólise são importantes para o desenvolvimento de estratégias que visam aumentar as taxas de concepção e controle hormonal da atividade ovariana (GIOMETTI et al., 2009).

Para aumentar a eficiência reprodutiva dos rebanhos domésticos, é importante compreender os mecanismos envolvidos na luteólise, principalmente os relacionados com a regressão estrutural do CL, envolvendo processos de morte celular programada (apoptose), para que se possa suprir e incrementar a grande e atual necessidade de produção de alimentos, além de trazer novos conhecimentos relacionados à fisiologia da reprodução (LUCACIN & NETO, 2009).

A regressão do CL é um dos fenômenos mais importantes que regulam o ciclo estral e os processos reprodutivos. Esse evento é essencial para a ciclicidade, pois permite o desenvolvimento de um novo FD, enquanto a manutenção do CL é necessária para estabelecer e manter a gestação, pois faz a manutenção da concentração de P4 (McCRACKEN et al., 1999). No entanto, se a prenhez não ocorrer, o CL bovino sofre regressão devido à ação da prostaglandina uterina  $\text{F}_{2\alpha}$  ( $\text{PGF}_{2\alpha}$ ), que é liberada na fase luteal tardia pelo endométrio (JUENGEL et al., 1993).

O CL recém-formado é refratário à  $\text{PGF}_{2\alpha}$  exógena, antes do quinto dia do ciclo estral. Sendo assim, administração de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  é ineficaz para induzir a luteólise durante a fase luteal precoce (metaestro), apesar de já ser notada a presença de receptores de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  a partir do segundo dia da fase luteal (TSAI & WILTBANK 1998; LEVY et al., 2000). No entanto, o mecanismo de insensibilidade e aquisição da sensibilidade do CL à  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ainda não é totalmente compreendido (SUN & WANG, 2014). Dependendo da fase do ciclo estral, a  $\text{PGF}_{2\alpha}$  pode ter diferentes ações sobre as vias esteroidogênicas, funções imunológicas e fatores pró ou anti-angiogênicos, o que leva o CL, em estágio inicial, a ser  $\text{PGF}_{2\alpha}$ -resistente e o CL de estágio médio a ser  $\text{PGF}_{2\alpha}$ -responsivo (SHIRASUNA et al., 2010; MONDAL et al., 2011).

Acredita-se que a caspase (CASP), relacionada à morte celular programada tipo I, esteja envolvida no principal mecanismo de morte celular durante luteólise estrutural em bovinos (HOJO et al., 2010). Vários mediadores estão envolvidos na regulação e no controle da apoptose do CL, como: linfoma de células B2 (BCL2) e X (BAX), associado ao BCL2, que pertencem à família de proteínas Bcl-2 e caspases (CASP) (PRU & TILLY et al., 2001). Outro mecanismo para a regressão luteal é a necrose celular (CASP- via morte celular independente) responsável pela morte de células luteais esteroidogênicas (LSC) e células luteais endoteliais (LEC) (HOJO et al., 2019). Este processo é caracterizado por membranas celulares rompidas com extravasamento de seu conteúdo intracelular e dano tecidual (SUN & WANG, 2014).

O mecanismo que controla o desenvolvimento, a manutenção e a função secretora do CL pode envolver fatores que são produzidos dentro do próprio CL assim como fora do ovário. Alguns desses reguladores são: prostaglandinas (PGs) e outros metabólitos do ácido araquidônico (Prostaglandina  $\text{E}_2$ ), prostaglandina  $2\alpha$  ( $\text{PGF}_{2\alpha}$ ), leucotrienos (LT),

neuropeptídeos (Noradrenalina), hormônios peptídicos (ocitocina), endotelina-1 (EDN-1), fatores de crescimento e hormônios (Fator de Crescimento Endotelial Vascular), fatores de crescimento fibroblástico (FGF), hormônio de crescimento (GH), prolactina (PRL) e esteroides (P4 e E2) que atuam como autócrinos e/ou fatores parácrinos. Embora a  $\text{PGF}_{2\alpha}$  seja conhecida por ser o principal fator luteolítico, sua ação sobre o CL é mediada por outros fatores intra-ovarianos como as citocinas, óxido nítrico (NO) e EDN-1. Óxido nítrico,  $\text{TNF-}\alpha$  em combinação com  $\text{IFN-}\alpha$  reduz a secreção de P4, aumentando a produção de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  lútea e induz a apoptose das células luteais (SKARYNSKI et al., 2008).

Após a ligação da  $\text{PGF}_{2\alpha}$  aos receptores luteais, ocorre a luteólise funcional, caracterizada pela diminuição na expressão da proteína reguladora aguda esteroidogênica (StAR) e consequente queda da P4. Ao mesmo tempo, ocorre aumento do NO,  $\text{TNF}\alpha$ , IL-1 e  $\text{INF}\gamma$ , os quais influenciam o aumento de angiotensina II (Ang II), endotelina 1 (EDN-1), receptor de endotelina tipo A (ETRA) e receptor de endotelina tipo B (ETRB), fatores angiogênicos como FGF-1 e 2, FGFR. O resultado final dessa cascata é o maior aumento da expressão de NO e  $\text{PGF}_{2\alpha}$  intraluteal. No final dessa etapa, ocorre a desestabilização dos vasos sanguíneos pela alta relação entre angiotensina (ANPT-2/ANPT-1) e a diminuição local de fator de crescimento endotelial vascular (VEGF, VEGF-R1, VEGF-R2), fator de crescimento fibroblástico (FGF-1,-2). Essas modificações que acontecem após o pico de  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , caracterizam o início da luteólise estrutural, resultante da intensa desorganização da estrutura vascular do CL, e a profunda inibição da expressão de StAR, do IGF-2, IGF-R1, IGF-BP-3-4, a qual resulta no desencadeamento da apoptose e na inibição final secreção da progesterona. Na ausência de um embrião viável, a  $\text{PGF}_{2\alpha}$  naturalmente é secretada pelo endométrio e desencadeia uma série de alterações irreversíveis no CL, fazendo com que não tenha mais função (TREVISOL et al., 2013).

## **2.5 Progesterona**

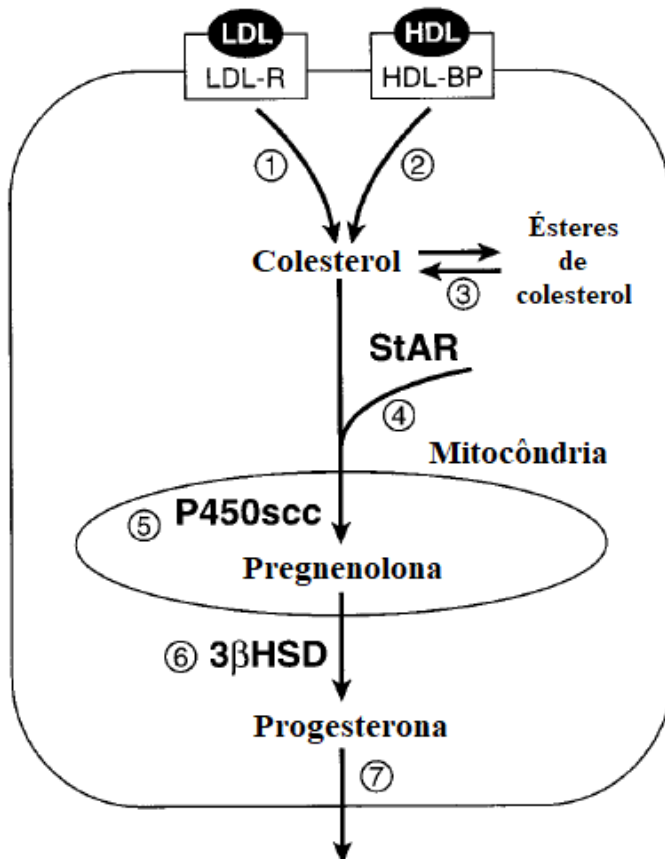
### **2.5.1 Síntese e mecanismo de ação**

A síntese da progesterona ocorre principalmente após o pico pré-ovulatório de LH, o qual provoca a luteinização das células da granulosa e da teca, originando respectivamente, as células luteais grandes e pequenas, de modo que a progesterona passa a ser o principal hormônio esteróide produzido por cada um desses tipos celulares (RICHARDS & HEDIN, 1988).

Hormônios esteróides têm como precursor comum o colesterol. A principal fonte de colesterol para as células luteais são as lipoproteínas circulantes, lipoproteína de alta densidade (HDL) e de baixa densidade (LDL) (STRAUSS et al., 1981; GRUMMER & CARROLL, 1988). O colesterol é uma molécula hidrofóbica, possui um grupo hidroxila na terceira posição, que produz uma região hidrofílica discreta, dificultando a passagem do colesterol entre as superfícies da membrana na bicamada lipídica. Portanto, o movimento do colesterol (lipoproteína) no sistema circulatório e dentro da célula depende das proteínas de transporte. Sabe-se que várias proteínas estão envolvidas no transporte de colesterol na célula, incluindo a proteína transportadora esterol-2, receptor periférico de benzodiazepina e StAR (CHRISTENSON & STRAUSS, 2000; STOCCO, 2001). A StAR é considerada a principal proteína responsável pelo transporte de colesterol do exterior para a membrana mitocondrial interna (STOCCO & CLARK, 1996).

Após o transporte e entrada do colesterol na célula, uma enzima localizada na membrana mitocondrial interna, a P450 ( $\text{P450}_{\text{scc}}$ ), faz a clivagem da cadeia lateral do colesterol. Esta enzima catalisa a conversão do colesterol em pregnenolona, que por sua vez possui dois resíduos hidrofílicos que a tornam menos estável nas membranas celulares se movimentam

melhor através da célula. A pregnenolona difunde-se para fora das mitocôndrias em direção ao retículo endoplasmático liso, onde é convertida em progesterona pela enzima 3 $\beta$ -hidroxiesteróide- $\Delta^5$ - $\Delta^4$ -isomerase (3 $\beta$ HSD). A progesterona então se difunde para fora da célula luteal e vai para corrente sanguínea, onde é transportada para os tecidos-alvo, como ilustrado na Figura 4 (NISWENDER et al., 2000).

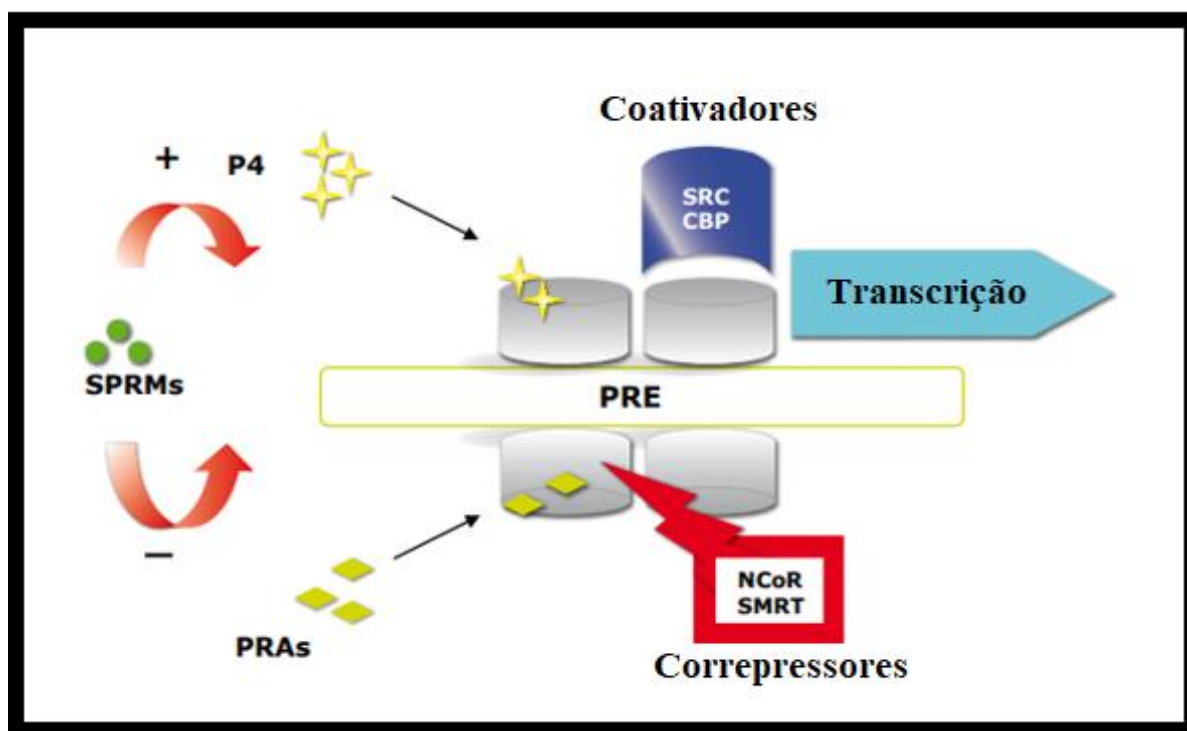


**Figura 4.** Quatro fontes de colesterol podem ser utilizadas como substrato para síntese de progesterona: (1) Lipoproteína de baixa densidade (LDL); (2) Lipoproteína de alta densidade (HDL) e (3) pela hidrólise de ésteres de colesterol armazenados pela enzima colesterol esterase. O colesterol sendo uma molécula hidrofóbica, precisa para seu movimento no sistema circulatório e dentro da célula, proteínas de transporte, sendo elas a proteína transportadora de esterol-2, receptor periférico de benzodiazepina e a proteína reguladora aguda esteroidogênica (StAR) (4), que através desta, é transportado para a membrana interior da mitocôndria; (5) Depois o colesterol é convertido em pregnenolona, enzima de clivagem de cadeia lateral P450 (P450scc). A pregnenolona difunde para fora das mitocôndrias em direção ao retículo endoplasmático liso (REL), onde é convertida em progesterona pela enzima 3 $\beta$ -hidroxiesteróide- $\Delta^5$ - $\Delta^4$ -isomerase (3 $\beta$ HSD) (6). A progesterona então se difunde pela célula luteal (7). (NISWENDER et al., 2000 modificado).

Após atingir a circulação sanguínea, a progesterona pode se ligar a dois tipos de receptores: receptor de progesterona A (PRA) e receptor de progesterona B (PRB). O PRA está localizado principalmente no núcleo, enquanto o PRB se distribui entre o núcleo e o citoplasma. Ambos receptores são co-expressos em muitos tipos de células, onde parecem ser sintetizados em proporções iguais (LI et al., 2005). Contudo, os dois receptores são funcionalmente distintos e ambos são essenciais para a reprodução (ARCK et al., 2007). O PRA é suficiente para o estabelecimento e manutenção da prenhez, enquanto que o PRB é essencial para a fertilidade, possivelmente por ações em tecidos que não uterinos (FERNANDEZ-

VALDIVIA et al., 2005). Também já foi demonstrado que o PRB atua principalmente como um ativador de genes responsivos à progesterona, mas quando ambos os receptores são expressos, o PRA atua como um repressor da atividade do PRB (WEN et al., 1994, PIEBER et al., 2001).

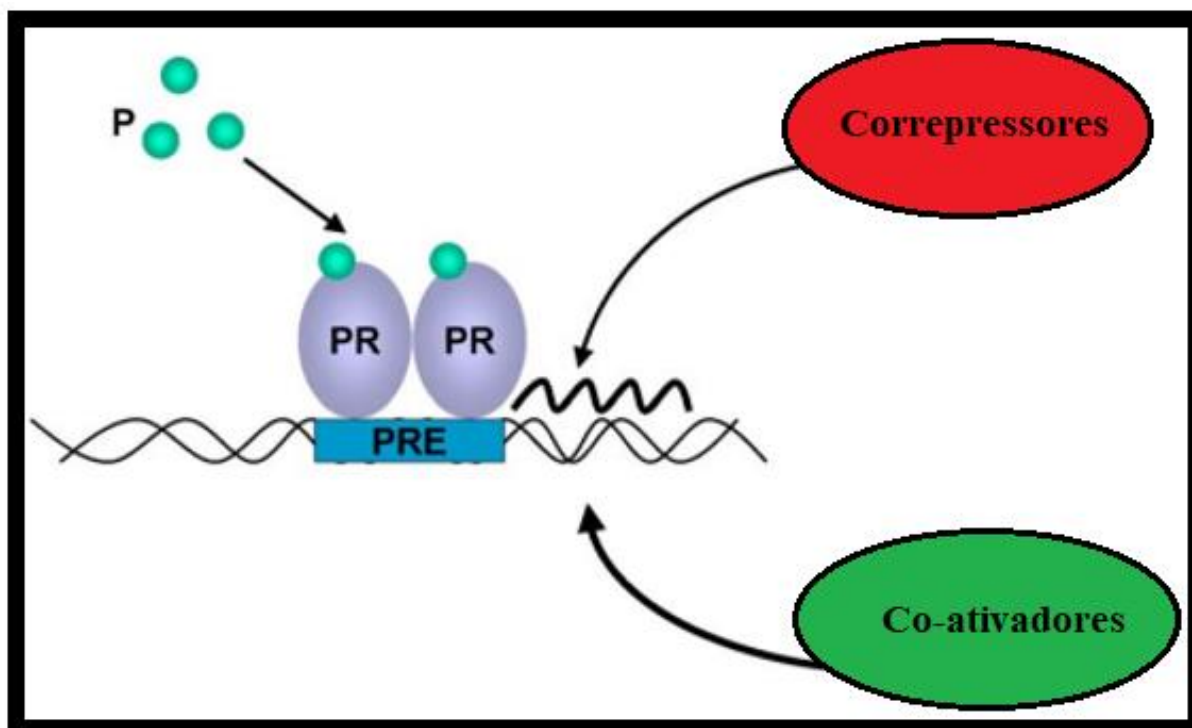
A melhor caracterização da interação P4-Receptor é definida como uma resposta genômica celular, onde os ligantes lipofílicos se difundem através da membrana celular, ligam-se ao receptor de progesterona (PR), induzem uma mudança conformacional. Dentro do núcleo, os receptores dimerizam-se e se ligam aos elementos de resposta hormonal (HREs) localizados nos promotores dos genes-alvo. A última etapa na ativação da PR é a ligação ao receptor de elementos reguladores da transcrição, conhecidos como co-reguladores, um grupo de proteínas que interagem com o complexo receptor sem se ligar ao DNA da sequência do gene alvo (GLASS & ROSENFELD, 2000). Os co-reguladores envolvem dois grupos de proteínas: os co-repressores, proteínas que inibem a transcrição de genes-alvo e os co-ativadores, proteínas que melhoram a transcrição de tais genes, como demonstrado nas Figuras 5 e 6 (XU et al., 1999). É possível encontrar também uma resposta não genômica, denominada “resposta celular rápida”, onde a ativação dos receptores de hormônios esteróides associados à membrana pode ocorrer em segundos ou minutos, ativando vias de sinalização de segundo mensageiro resultando na ativação do gene alvo (NORMAN et al., 2004).



Suárez-Calderón & Díaz-Vamal, 2008.

**Figura 5.** Mecanismo de ação dos PRAs (receptor de progesterona A) e SPRMs (moduladores seletivos de receptores de progesterona). Após atingir a circulação sanguínea, a progesterona pode se ligar a dois tipos de receptores: receptor de progesterona A (PRA) e receptor de progesterona B (PRB). O PRA está localizado principalmente no núcleo, enquanto o PRB se distribui entre o núcleo e o citoplasma. Ambos receptores são co-expressos em muitos tipos de células, onde parecem ser sintetizados em proporções iguais





Spitz, 2003.

**Figura 6.** Na presença de progesterona (P) ou de um agonista da progesterona, há perda de proteínas de choque térmico e dimerização do PR. A ativação do PR liga-se aos elementos responsivos à progesterona (PREs). O PR ligado ao agonista então ativa a transcrição por associação com coativadores. O efeito dos co-repressores é bloqueado.

### 2.5.2 Fatores regulatórios

Para descrever os fatores regulatórios da P4 é fundamental entender o mecanismo de ação molecular da mesma. Foi demonstrado que um passo chave da limitação na produção de progesterona pelo CL é o movimento do colesterol da membrana mitocondrial externa para a interna, evidenciando o papel da StAR nesse mecanismo. Essa proteína é induzida por muitos fatores incluindo a insulina, LH e estradiol (PON & ORME-JOHNSON 1988; TOWNSON & PATE, 1996; DEVOTO et al., 1999). Ainda existe o fator esteroidogênico 1 (SF-1) que estimula a transcrição do gene StAR (SUGAWARA et al., 1997). Além do controle transcricional, a proteína StAR também é regulada positivamente de maneira direta, dos resíduos Ser194/195 da PKA (ARAKANE et al., 1997). Outro fator estimulante da síntese de P4 é a própria P4, uma vez que entre os dias 6 e 10 do ciclo estral, a mesma estimula a atividade da 3 $\beta$ -HSD no CL bovino e aumenta a expressão de mRNA da proteína StAR, 3 $\beta$ -HSD e citocromo P450<sub>scc</sub>, que são enzimas-chave da esteroidogênese ovariana (KOTWICA et al., 2004; REKAWIECKI et al., 2005). Outro modo de regulação, porém negativa dos níveis de P4, foi descrito por Pescador et al. (1996), no qual a PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  diminui o RNAm de StAR, e consequentemente a síntese de P4.

Wiltbank et al. (2006; 2012) reportaram um outro mecanismo chave relacionado à taxa de metabolização da P4, principalmente pelo fígado, relacionada a alterações no fluxo sanguíneo para este órgão. Por exemplo, se o fluxo sanguíneo hepático aumentar de 1000 para 2000 litros por hora, as concentrações circulantes de P4 diminuirão para 50%, embora a produção de P4 e as enzimas metabolizadoras de P4 não mudem.

Hori et al. (2019) relataram que a idade pode ser um fator regulador nas concentrações de P4. Esses autores demonstraram que a concentração de P4 no tecido luteal foi significativamente maior nos animais jovens em relação ao grupo de animais velhos na fase

lútea precoce, porém nenhuma diferença foi detectada entre os grupos nas fases lútea média e tardia. Essa diferença de concentração foi correlacionada a níveis mais altos de RNAm da Star na fase precoce, e RNAm da  $3\beta$ HSD durante toda fase luteal dos animais mais jovens e curiosamente não houve diferença no peso da massa do CL entre os grupos, inferindo assim que a senescência influencia a função lútea.

Em relação às funções da P4, pode-se destacar sua ação no útero, uma vez que esse hormônio tem regulação negativa do receptor nuclear de progesterona (PGR) no epitélio luminal e depois glandular, permitindo a expressão de genes e secreção de seus produtos proteicos assim como o transporte ativo de outras moléculas que proporcionam o alongamento do concepto (SPENCER & HANSEN, 2015). Há evidências de que a P4 induz a expressão de vários genes bovinos, especificamente no epitélio endometrial, que depois são estimulados por fatores do embrião, por exemplo, interferon- $\tau$  (IFNT) e prostaglandinas (PGs). O resultado é uma mudança no ambiente e fluido luminal uterino que promove a sobrevivência, alongamento e implantação do embrião para o estabelecimento da prenhez (GEARY et al., 2016).

Uma das ações da P4, mediada por receptor de membrana de P4 (mPR/ resposta não genômica), é levar ao aumento da apoptose celular em diferentes órgãos (REKAWIECKI et al., 2008). Esse mecanismo ocorre quando a P4 se liga ao PR e leva a uma diminuição da atividade da adenilato ciclase no tecido ou aumento da atividade da MAP cinase nas células alvo (ZHU et al., 2003; PELUSO, 2006). Por outro lado, a P4 pode também ter uma ação anti-apoptótica na célula alvo, desde que ela se ligue a outro receptor de membrana denominado proteína de ligação ao RNA do inibidor do ativador do plasminogênio (PAIRBP1), que por sua vez pode se ligar a uma proteína transmembrana PGRMC1 e formar um complexo na membrana. Este complexo está localizado na superfície extracelular na membrana da célula e participa da ação anti-apoptótica e anti-mitótica de P4 (PELUSO et al., 2004).

Em bovinos, a P4 atua nas células do epitélio luminal uterino fazendo uma regulação negativa de seus próprios receptores. Desta forma, a P4 permite a regulação positiva de receptores de estrogênio (ER) que induzem a expressão de receptores de ocitocina (OXTR) e, portanto, estimulam a produção de  $\text{PGF}_2\alpha$  e conseqüentemente a ocorrência da luteólise (McCRACKEN et al., 1999). Com base nesta informação, Batista et al. (2019) constataram que a suplementação com P4 no início da fase luteal (até três dias após a ovulação) causa luteólise precoce nos bovinos. Os mesmos autores concluíram que isso ocorre devido a aceleração da regulação negativa dos receptores de progesterona nas células do epitélio luminal do útero, levando a uma aceleração da expressão de genes endometriais associados à síntese de  $\text{PGF}_2\alpha$ , especificamente RE1 e OXTR. Os mesmos pesquisadores também chegaram à conclusão de que a P4 injetável inibiu o desenvolvimento precoce de CL e especularam que este fato pode estar relacionado à uma provável diminuição dos níveis de LH normalmente liberado nessa fase, que é essencial para o estímulo da esteroidogênese e formação de uma massa luteal desenvolvida. Demonstrando assim que a P4 por si só, pode fazer uma inibição da sua função.

## **2.6 Estratégias para Incremento da Progesterona após a IATF**

Estudos sobre a fisiologia reprodutiva dos bovinos ao longo de décadas permitiram o melhor entendimento e posterior manipulação do ciclo estral, os quais foram essenciais para desenvolvimento da inseminação artificial, uma das biotécnicas mais poderosas usadas para o melhoramento genético dos rebanhos bovinos (DE LIMA et al., 2020). Medvei (1982) destaca a "Era Heroica da Endocrinologia Reprodutiva" ocorrida entre 1920 e 1949, devido a purificação do estradiol (1923), progesterona (1934), testosterona (1935), LH (1940) e FSH (1949) nesse período. Essas descobertas científicas foram essenciais e serviram como base para elaboração do primeiro protocolo para realização da inseminação artificial em tempo fixo



(IATF) desenvolvido por Pursley et al. (1995), que envolve os hormônios liberador das gonadotrofinas (GnRH) e a prostaglandina (PG), sendo denominado *OvSynch*.

Pesquisas vem sendo realizadas há décadas afim de melhorar a eficiência dos protocolos de IATF, uma vez que *OvSynch* atende às premissas de sincronização da ovulação, porém há baixa eficiência de sincronização (64%) quando administrado em um dia aleatório do ciclo estral (VASCONCELOS et al., 1999). Alternativas foram desenvolvidas para melhorar a sincronização dos protocolos, como o uso de progesterona exógena, que estimula a liberação de GnRH pelo hipotálamo e consequentemente aumenta a pulsatilidade de LH, levando a um crescimento do folículo dominante (RHODES et al., 2002; BARUSELLI et al., 2017).

Diferentes momentos (antes, durante ou depois da inseminação) de utilização da P4 vêm sendo testados nos programas de IATF. Nesse sentido, Simões et al. (2018) utilizaram P4 injetável 10 dias antes de se iniciar protocolo de IATF, e mostraram que tal estratégia parece ser benéfica em animais apresentando baixa condição corporal, uma vez que eles têm menor pulsabilidade de LH pós-parto devido à formação de metabólitos (NEFA, Beta-hidroxibutirato e acetato), endorfinas e peptídeos (principalmente neuropeptídeo Y) conhecidos por exercerem feedback negativo no hipotálamo (HESS et al., 2005). A utilização de P4 como estratégia de pré-sincronização baseia-se no fato deste hormônio levar a uma redução do número de receptores de estradiol no hipotálamo interferindo no feedback negativo causado por esse hormônio na secreção de GnRH no pós parto (IRELAND & ROCHE, 1982b). Além disso, o emprego da P4 pode aumentar os receptores e sua sensibilidade ao estrogênio nas regiões mais sensíveis (hipotálamo mediobasal) ao efeito do estradiol na secreção de LH (D. BLACHE et al., 1991). Em Sales et al. (2019) utilizaram P4 na pré-sincronização de 988 vacas Nelores lactantes apresentando escore de condição corporal  $\geq 3.0$  (escala de 1 a 5) e não observaram melhora na taxa de prenhez ou na ciclicidade 30 dias após a IATF. Essa diferença na fertilidade após o tratamento P4 deve-se provavelmente à condição corporal dos animais nos diferentes estudos, refletindo na pulsatilidade do LH no pós-parto. Esses autores concluíram ainda, mesmo que a pré-sincronização com P4 leve a um aumento do tamanho do folículo pré-ovulatório em vacas *Bos indicus*, não se torna uma alternativa viável para substituir a eCG em protocolos de IATF.

A suplementação com P4 antes de protocolos de IATF também tem sido empregada no intuito de induzir novilhas a entrarem na puberdade. A justificativa para esta associação é aumentar o número de novilhas púberes no início do protocolo de sincronização e, consequentemente, maximizar as taxas de concepção na IATF (LIMA et al., 2020). Esses protocolos têm utilizados como fontes de progestágeno, os dispositivos intravaginais (SÁ FILHO et al., 2015), o acetato de melengestrol - MGA (PATTERSON et al., 2013) e a P4 injetável de longa ação (LIMA et al., 2020).

No Brasil, os dispositivos intravaginais de liberação lenta de progesterona, associados ao estradiol, tem sido o método mais utilizado para aumentar os níveis de progesterona durante os protocolos de IATF e, consequentemente, sincronizar a emergência de uma nova onda de crescimento folicular (BARUSELLI et al., 2012; BARUSELLI et al., 2019). É valido lembrar, que esse aumento de P4 durante o protocolo deve ser controlado, para não afetar o desenvolvimento folicular, sendo assim, pode-se realizar a aplicação de prostaglandina ( $\text{PGF}_{2\alpha}$ ) no dia 0 (início do protocolo) em animais que apresentem CL, na intenção de diminuir a P4 sérica (MENEGHETTI et al., 2009; MANTOVANI et al., 2018).

Estudos indicam que o tamanho do FD é um dos principais fatores na determinação do sucesso da inseminação, uma vez que ele dará origem a um CL de boa qualidade para a secreção adequada de progesterona, que é essencial para o desenvolvimento e implantação embrionária (PERRY et al., 2005; MOKHTARI et al., 2016). Sendo assim, algumas estratégias para aumentar o tamanho do FD a ser ovulado, e consequentemente, formar um CL maior que

produza maiores quantidades de P4, já veem sendo associadas aos protocolos de IATF, melhorando assim a eficiência reprodutiva desses animais (GUO et al., 2020).

Uma dessas estratégias é a utilização da eCG, uma glicoproteína complexa secretada pelas células endometriais de éguas prenhes, que tem a capacidade de expressar a atividade de FSH e LH (MURPHY & MARTINUK, 1991; MURPHY, 2012). Quando usada em bovinos durante o proestro, a eCG promove um crescimento do folículo dominante (pré-ovulatório), aumentando a taxa de ovulação e as concentrações de P4 plasmáticas no diestro subsequente, além de ter um potencial para modulação da expressão de genes associados a receptividade uterina influenciando positivamente no estabelecimento da gestação em bovinos (SÁ FILHO et al., 2017). O tratamento estimulatório da eCG após a divergência folicular causa alterações morfológicas do CL levando ao aumento da produção P4, que parece estar relacionado ao aumento da atividade lipogênica e angiogênese do CL (SOUSA et al., 2016).

Com função similar à eCG, a gonadotrofina coriônica humana (hCG) é uma glicoproteína produzida pelo trofoblasto humano e excretada em grandes quantidades na urina de mulheres gestantes (DE MEDEIROS & NORMAN, 2009). No entanto, quando usada para estimular o desenvolvimento final do FD, a hCG falhou em produzir efeitos semelhantes ao eCG em termos de suporte final de crescimento folicular e maior tamanho do folículo ovulatório. Além disso, tem grande potencial para induzir a ovulação precoce. Concluindo assim, a hCG não é uma alternativa confiável para substituir o tratamento com eCG em protocolos de IATF em bovinos (PRATA et al., 2018). Porém, a hCG, quando administrada no diestro inicial (D3-D5), altera a proporção de células luteais grandes e pequenas e atua de forma similar ao LH, uma vez que, se liga aos receptores de LH estimulando a síntese de P4 (NISWENDER et al., 2000). E quando administrada na fase luteal média, tem efeitos luteotrópicos e induz ovulação levando a formação de CL acessório, aumentando assim as concentrações de P4 (SANTOS et al., 2001). Stevenson et al. (2007), ao suplementarem vacas com hCG no D4, relataram animais com CL maior, presença de CL acessório, aumento da concentração sérica de P4 e aumento nas taxas de prenhez em alguns rebanhos tratados.

O emprego de GnRH em protocolos de IATF tem se tornado cada vez mais comum, podendo ser utilizado no início, final ou após o protocolo ou até mesmo em mais de um momento (HELGUERA et al., 2018). Foi reportado que a utilização de GnRH no início do protocolo de IATF pode diminuir as perdas gestacionais, principalmente de animais acíclicos. Esse achado é explicado pelo fato de que o desenvolvimento de folículos persistentes ou dominância folicular estendida, em animais que não receberam o GnRH inicial, principalmente em novilhas acíclicas, pode ter comprometido a qualidade do oócito/embrião e, posteriormente, sua capacidade de manter a gestação (CERRI et al., 2009; HELGUERA et al., 2018). A utilização do GnRH mostra-se eficiente para a formação de CL acessório, como mostrado por García-Guerra et al. (2020), que ao tratarem novilhas com GnRH, observaram ovulação do folículo dominante da primeira onda folicular em 84% dos animais com posterior formação de um CL acessório e aumento da circulação de P4.

Em um estudo de meta-análise realizado por Besbaci et al. (2020), os autores compararam a utilização de hCG e GnRH entre 4 e 15 dias pós-IATF, e observaram que não houve diferença entre os dois hormônios e que ambos tratamentos melhoram a taxa de prenhez, porém, esse resultado só foi observado em animais com fertilidade baixa (<45%), sobretudo em primíparas. Esses autores ainda destacaram que a baixa fertilidade dos animais reportados no estudo era decorrente de uma falha na ovulação, de um estro deficiente ou de uma baixa concentração de P4.

Em relação à utilização de P4 durante a fase inicial da gestação bovina, ou seja, pós IATF, observa-se que estudos nesta área de pesquisa já vêm sendo realizados há mais de 60 anos, sendo os primeiros resultados inconsistentes, explicado pelo número pequeno de animais utilizados (WILTBank et al., 1956). Desde então, pesquisas vêm sendo realizadas na mesma

linha, utilizando dispositivos intravaginais de liberação lenta de P4, como a de Robinson et al. (1989) na qual os autores testaram o efeito do uso dispositivo de P4 em vacas, 5 e 10 dias após a inseminação, e por um período de 7 dias, e concluíram que a P4 exógena aumentou a taxa de prenhez, no entanto suprimiu a produção endógena de P4 quando administrada durante 10 a 17 dias.

Em um trabalho similar, Walton et al. (1990) compararam diferentes estratégias para aumento de P4: dispositivo intravaginal, P4 injetável longa ação (LA) e a gonadotrofina coriônica humana (hCG), todas estratégias utilizadas cinco dias após a inseminação artificial. Esses autores observaram que não houve diferença na taxa de prenhez entre os três tratamentos, porém, a utilização do dispositivo elevou as concentrações de progesterona até três dias após a inserção. A aplicação de P4 injetável não elevou as concentrações de P4 plasmática, no entanto, a hCG gerou aumento significativo e duradouro da P4 após 7 dias (ou seja, dia 12 após a IA) em função da formação de CL acessórios.

Stevenson & Mee (1991) também utilizaram dispositivo intravaginal de P4 (PRID, 1,5g) entre 5 a 13 e 13 a 21 dias após a inseminação em vacas leiteiras, e não observaram diferença na taxa de concepção entre os grupos tratados e o controle. Van Cleef et al. (1991) avaliaram a suplementação de P4, 7 dias após a IA utilizando dispositivos de P4 (CIDR, 1,9g) em novilhas leiteiras. O dispositivo foi retirado 6 dias após a inserção (ou 13 dias após a IA). Esses autores não encontraram diferença na taxa de prenhez desses animais, concluindo que a suplementação de P4 neste momento não foi eficaz para melhora da taxa de prenhez em novilhas, possivelmente pelo fato da morte embrionária em novilhas não ser tão dependente de baixas concentrações de progesterona.

Mann & Lamming (1999) mostraram que a concentração de P4 após a inseminação (durante a fase luteal inicial) é um fator importante para o estabelecimento da prenhez, porém, menos importante que o momento do aumento da concentração de P4 pós-inseminação. Em complemento ao momento da utilização da suplementação, Starbuck et al. (2001) sugerem que a suplementação com dispositivo de P4 seja direcionada. Esses autores testaram a suplementação entre o D5 e D12 após IATF e encontraram resultados positivos apenas para animais que apresentaram concentração de P4 no leite entre 1-2 ng/ml no D5, apresentando diferenças significativas nas taxas de prenhez. Também concluíram que animais com concentração de P4 no leite entre 2-3ng/ml tem potencial para se beneficiar com suplementação de P4 e que animais com P4 <1ng/ml e >3ng/ml não apresentam benefícios na suplementação, o que pode justificar as variações de resultados encontrados na literatura.

Em um estudo de meta-análise realizado por Yan et al. (2016) com foco na suplementação de progesterona pós-inseminação em bovinos, os autores observaram que a estratégia se mostrou eficiente quando a suplementação foi realizada entre os dias 3 e 7 após inseminação, prejudicial quando os animais foram suplementados antes do dia 3 (por induzir a uma luteólise precoce) e indiferente quando realizada após 7 dias. Esses mesmos autores pontuaram ainda que a suplementação só é eficiente em rebanhos em que os animais tenham fertilidade comprometida (i.e., taxa de concepção <45%), decorrente de uma deficiência de ovulação ou mesmo concentrações insuficientes de progesterona para sustentação da prenhez na fase inicial.

Existem ainda muitos questionamentos sobre o melhor momento para a suplementação de P4, visto que alguns trabalhos encontraram resultados nulos ou até mesmo negativos. Parr et al. (2014), ao suplementarem vacas de leite com dispositivo de P4 entre os dias 4 e 9 pós inseminação, observaram menor taxa de concepção para os animais tratados. Possíveis explicações para esse resultado, envolvem uma falha no desenvolvimento do CL ou mesmo luteólise precoce relacionada ao aumento prévio de P4 por via exógena.

Para comprovar essas explicações, esses mesmos autores, em outro estudo (PARR et al., 2017), mostraram que novilhas com desenvolvimento falho do CL ao serem suplementadas

com P4 exógeno do D4 ao D10 (D0 = dia da inseminação), não reverteram esses efeitos, demonstrando que a P4 apresenta um efeito negativo na vida útil desse CL, no entanto, quando suplementadas do D4 ao D7 ocorreu uma recuperação de área de CL. Esses resultados podem estar diretamente relacionados à pulsatilidade do LH nessa fase inicial, uma vez que existe uma relação inversa entre a concentração de P4 e o pulso de LH, onde o CL em desenvolvimento primário depende dos receptores de LH nas células da teca e granulosa, tornando-o assim muito vulnerável a variação hormonal (IRELAND & ROCHE, 1982b; NISWENDER et al., 1994).

Além da variação na pulsatilidade do LH, foi demonstrada que a suplementação de P4 a partir do D4 levou uma diminuição dos números de receptores de P4 e aumento dos receptores de ocitocina do CL no D5, porém mais estudos são necessários para investigar os efeitos da suplementação de P4 sobre o desenvolvimento do CL (PARR et al., 2017).

Outras formas de suplementação de P4 pós-inseminação já foram testadas, como o uso de acetato de melengestrol (MGA), um progestágeno sintético formulado para ser administrado por via oral, no qual seu uso foi associado a resultados positivos quando direcionado a vacas Nelores em anestro, entre os dias 13 e 18 após a IATF (LOIOLA et al., 2018). Em outros trabalhos similares, os resultados foram variados, como o reportado por Rodrigues et al. (2014), onde a suplementação com MGA em vacas Nelores entre os dias 13 e 18 não apresentou diferença na taxa de prenhez, porém, quando suplementadas entre os dias 5 e 10 pós-IATF, observou-se uma redução na taxa de prenhez. Do mesmo modo, Silva et al. (2015), ao repetir este trabalho, encontraram resultados positivos ao fornecer MGA para vacas Nelores 13 a 18 dias após a IATF, no entanto, quando forneceram entre os dias 5 e 10 pós IATF, o grupo tratado com MGA apresentou redução significativa na taxa de prenhez. Esses autores acreditam que esse progestágeno em questão tenha um modo de ação diferente dos outros, no qual não favorece o ambiente uterino durante o diestro inicial.

Uma alternativa para aumentar a concentração de P4 no diestro inicial é a aplicação de P4 injetável de longa ação (LA). O intuito da utilização dessa via de administração é facilitar o manejo principalmente em rebanhos de corte, pois exclui um segundo manejo quando comparado a utilização de dispositivos intravaginais, no qual necessitam ser retirados após alguns dias (PUGLIESI et al., 2016; MARTINS et al., 2019). Foi demonstrado que a P4 de longa ação nas doses de 150 ou 300 mg aumenta as concentrações de P4 circulantes por mais de três dias durante a fase lútea inicial em bovinos de corte (PUGLIESI et al., 2014). Em suma, não foram encontradas diferenças entre a utilização de dispositivos intravaginais ou aplicação de P4 injetável LA para suplementação no diestro inicial (YAN et al., 2016).

A utilização de P4 injetável já vem sendo estudada há décadas, como demonstrada por Johnson et al. (1958), onde os autores avaliaram a suplementação com 100mg de P4 injetável nos dias 2, 3, 4, 5 e 9 após a IA, totalizando 500mg P4/ animal, e encontraram maior taxa de prenhez nos animais tratados em comparação com os do grupo controle.

Essa estratégia de suplementação com P4 injetável LA vem ganhando destaque nos últimos anos. Pugliesi et al. (2016), após vários experimentos avaliando a suplementação de P4 injetável LA em bovino de corte, quatro dias após a IATF, demonstraram que esta é uma estratégia eficiente quando se tem animais apresentando um CL deficiente. Como por exemplo, em animais que estão em anestro no início do protocolo de IATF (comum em vacas lactantes criadas a pasto), gerando um aumento de 20% na taxa de prenhez. Do mesmo modo, Couto et al. (2019), avaliando a suplementação de P4 injetável LA no D5 em bovinos de corte, observaram aumento nas taxas de prenhez e menor perda gestacional no grupo tratado, ressaltando a eficiência da administração da P4 no diestro inicial para melhorar a fertilidade do rebanho. Ambos os trabalhos sugerem que a suplementação nesta fase, melhora o ambiente uterino e consequentemente a sobrevivência, alongamento e implantação do embrião, levando a estes resultados.

Martins et al. (2019), ao suplementarem vacas Nelores três dias após a IA com P4 LA, avaliaram o efeito da inseminação artificial sobre a luteólise precoce e concluíram que ao mesmo tempo que a P4 favorece a receptividade uterina também pode reduzir a longevidade do CL, dificultando o estabelecimento da prenhez, uma vez que, a sinalização do conceito não pode superar o estímulo luteolítico precoce. E ainda, a luteólise precoce está mais relacionada ao resultado da exposição precoce do útero à P4 que leva a antecipação da ativação da cascata luteolítica (produção de PGF), do que ao comprometimento do desenvolvimento do CL pela diminuição da pulsatilidade do LH. Adicionalmente, esses mesmos autores, em um segundo estudo (Martins et al., 2019) concluíram que a IA minimizou a luteólise precoce por efeito da suplementação de P4 em animais que apresentavam três ondas foliculares, sugerindo que o número de ondas foliculares após o IA desempenha um papel na resposta da fertilidade à suplementação de P4, por regulação da função uterina.

## **2.7 Interação Materno-Fetal**

### **2.7.1 Blastogênese**

A ovulação é o evento que marca o fim da fase folicular e o início da fase luteal, na fêmea bovina esse evento ocorre de 24 a 30 horas após o pico de LH e de 24 a 32 horas após o início do estro (HAFEZ & HAFEZ, 2000; HAFEZ et al., 2000; SENGER, 2003).

Para que ocorra a ovulação, o GnRH produzido pelo hipotálamo chega à hipófise anterior pelo sistema porta hipotalâmico-hipofisário, o que vai ocasionar a produção e liberação dos hormônios gonadotróficos - FSH e LH (RABASSA et al., 2007). Eles vão agir nos ovários, com o FSH sendo responsável pelo recrutamento e crescimento dos pequenos folículos e o LH atuando no desenvolvimento final e ovulação do folículo dominante (ADAMS et al., 1993; GINTHER et al., 1997; MIHM & AUSTIN, 2002; WEBB et al., 2004).

Quando o folículo pré-ovulatório se rompe, o óvulo rodeado pelas células da corona radiata e do cumulus oophorus é liberado na cavidade peritoneal e capturado pelas células epiteliais ciliadas do infundíbulo. O óvulo é então transportado da ampola para a junção istmo-ampolar, onde ocorre a fecundação (SARTORI & DODE, 2008).

Concomitante ao estro e próximo à ovulação, ocorre a monta natural ou a IA sendo o sêmen exposto à uma série de desafios que alteram significativamente sua quantidade e função. Espermatozoides viáveis que são retidos no trato genital feminino devem atravessar o útero, passar para o oviduto pela junção útero-tubárica, interagir com o epitélio do oviduto e sofrer capacitação antes de poder fecundar o óvulo (BERGER, 1996).

Após a fecundação, o zigoto passa por uma série de divisões celulares (clivagem) que ocorrem no oviduto e necessitam de um ambiente rico em aminoácidos e substratos energéticos (SARTORI & DODE, 2008; HUGENTOBLE et al., 2007; HUGENTOBLE et al., 2008). Embora o oviduto seja um local de passagem para que o óvulo/ embrião alcance o útero, nesse tecido também ocorrem importantes eventos fisiológicos. As células istmo tubáricas ligam-se, armazenam e otimizam a capacitação espermática, aumentando assim a eficiência do processo de fertilização e reduzem a probabilidade de polispermia (SALILEW-WONDIM et al., 2012).

Os primeiros estágios do desenvolvimento embrionário dependem de mRNAs e proteínas maternas armazenadas no oócito (DOMINKO et al., 1999). Uma parte essencial do processo de diferenciação é a degradação desses mRNA e proteínas maternas e a ativação da transcrição do genoma embrionário (MEMILI & FIRST, 1999; TADROS & LIPSHITZ, 2009). Quando o embrião atinge o estágio de blastocisto, muitos genes diferentes são ativados, incluindo genes que regulam a diferenciação da linhagem celular. Assim, um ponto decisivo no

desenvolvimento embrionário inicial é a ativação do genoma embrionário e sem essa ativação, o desenvolvimento não avança além do estágio de 16 células (WILTBANK et al., 2016).

### **2.7.2 Reconhecimento materno-fetal**

Concomitante à fertilização e à ativação dos genes embrionários, ocorre a preparação do sistema materno, que envolve diretamente as concentrações circulantes de P4 (FORDE et al., 2011). Esse hormônio tem regulação negativa do receptor nuclear de progesterona (PGR) no epitélio luminal e depois glandular, que permite a expressão de genes e secreção de seus produtos proteicos, transporte ativo de outras moléculas que proporcionam o alongamento do conceito (embrião com os tecidos extra-embrionários) (SPENCER & HANSEN, 2015). Há evidência de que, em bovinos, a P4 induza a expressão de vários genes, especificamente no epitélio endometrial, que depois são estimulados por fatores do embrião, por exemplo, interferon- $\tau$  (IFNT) e prostaglandinas (PGs). O resultado é uma mudança no ambiente e no fluido luminal uterino que promove a sobrevivência, alongamento e implantação do embrião para o estabelecimento da prenhez (GEARY et al., 2016).

O alongamento ideal do conceito envolve uma complexa interação entre o conceito e o sistema materno (HUE et al., 2012). O conceito secreta fatores regulatórios locais, principalmente o IFNT, que regulam o endométrio uterino, estimulando as células uterinas a produzir e/ou transportar fatores de crescimento e nutrientes para uma boa nutrição embrionária e bom alongamento (FILANT & SPENCER, 2014). Sendo assim, baixas concentrações de P4 circulante durante a fase luteal precoce podem levar à alteração da expressão gênica nas células endometriais uterinas, crescimento subótimo do embrião e redução nas taxas de prenhez (FORDE et al., 2011).

O período entre os dias 16 e 25 da gestação nos bovinos, sendo parte da fase de reconhecimento materno, é considerado crítico (SPENCER & HANSEN, 2015). Nesse período, o conceito aumenta drasticamente de tamanho pelo processo de alongamento (particularmente as células trofoblásticas), levando à manutenção do CL durante o reconhecimento materno da gestação. Sendo assim, a comunicação inadequada entre o conceito, o útero e o ovário gera uma falha na manutenção do CL, resultando em uma perda da gestação inicial (FORDE et al., 2015). Resumidamente, a P4 tem um efeito indireto no início da secreção de IFNT pelo embrião, devido à correlação positiva entre o alongamento do conceito e a produção de IFNT (RIZOS et al., 2012). Para que as concentrações circulantes de P4 sejam mantidas, quantidades suficientes de IFNT devem ser produzidas pelo embrião até o dia 16 para impedir a luteólise e, como a quantidade de IFNT secretada é consistente com o tamanho do tecido trofotodérmico, as concentrações de IFNT presentes no útero dependem, portanto, da taxa de crescimento do embrião (ROBINSON et al., 2006; SHORTEN et al., 2018).

Shorten et al. (2018) comprovaram por análises morfométricas, modelos matemáticos e avaliações genômicas de embriões, que a progesterona é um dos fatores mais importantes para o crescimento embrionário, pelo estímulo que ela exerce sobre o endométrio no início da gestação (aumentando suas concentrações por volta do 7º dia). E ainda concluíram que ao dobrar as concentrações de progesterona, houve um aumento de 33% na taxa de crescimento embrionário.

Programação fetal é o termo que se refere à ação que o ambiente uterino causa na saúde e no bem-estar da progênie. Os efeitos dessa programação fetal no neonato podem ser mediados por modificações epigenéticas que regulam a expressão gênica na placenta e no feto (VICKARYOUS & WHITELAW, 2005). Em relação aos fatores regulatórios maternos, já foram detectados receptores de E2 e P4 nos placentônios, sugerindo assim que esses hormônios tenham um papel de reguladores locais do crescimento caruncular, diferenciação e funções destas estruturas (SCHULER et al., 2008). E ainda, foi detectado RNA da melanoprotease

Trombospondina I (ADAMTS1) altamente responsivo às concentrações de P4, no endométrio e tecidos placentários, sugerindo que o ADAMTS1 pode atuar como um regulador chave das funções endometriais, regulando os processos de remodelação ou de desenvolvimento da matriz extracelular (MEC) ou ambos, necessários para a implantação e o desenvolvimento da placenta em bovinos, melhorando o desenvolvimento embrionário e fetal (MISHRA et al., 2013).

## **2.8 Perda Gestacional**

### **2.8.1 Perda gestacional precoce e tardia**

Segundo Lee & Kim (2007), os fatores responsáveis pelas perdas gestacionais podem ser divididos em fatores externos, maternos e genéticos. As perdas embrionárias podem ser classificadas como mortalidade embrionária precoce quando ocorrem dentro dos primeiros 25 dias de gestação e mortalidade embrionária tardia quando acontecem entre 25 e 45 dias de gestação (HUMBLLOT, 2001).

Segundo Brinsko et al. (2011), as perdas gestacionais estão relacionadas a problemas de origem materna, embrionária/fetal e/ou ambiental. As perdas podem resultar de um defeito intrínseco do embrião causado por gametas incompetentes, de um ambiente materno inadequado proveniente do estresse térmico, da assincronia entre o embrião e o útero ou da falha da mãe em responder apropriadamente aos sinais do embrião (HANSEN, 2002).

Embriões provenientes de oócitos incompetentes têm baixa probabilidade de serem bem-sucedidos (HANSEN, 2002). Ovulação de folículos persistentes, folículos pequenos e incompetentes, resulta na redução da sobrevivência do embrião devido a inadequação lútea e ciclos curtos (SANTOS et al., 2004). Prolongamento da dominância pode ser responsável pela alteração do microambiente para o desenvolvimento normal do oócito, reduzindo as chances de desenvolvimento de embriões e levando a perda embrionária (REVAH & BUTLER, 1996).

Alterações nas concentrações de P4 tem efeito direto na gestação inicial. Altas concentrações de P4 durante o diestro inicial dos bovinos são necessárias, pois estimulam as secreções uterinas que atuam no crescimento embrionário e na liberação de proteína-1 do trofoblasto bovino (bTP-1) necessária para inibir a liberação de prostaglandina endometrial e a produção de interferon-tau pelo conceito para inibir a secreção de PG2F pelas células endometriais. A inibição desse mecanismo iria resultar na luteólise. (GEISERT et al., 1992; MANN & LAMMING, 2001).

A progesterona é de grande importância na gestação, controlando o desenvolvimento do embrião e o mecanismo luteolítico. Se ocorrer a liberação de fatores luteolíticos antes de o embrião produzir interferon –tau suficiente para prevenir a luteólise, ocorre a perda embrionária (MANN & LAMMING, 1999). Falhas no reconhecimento materno, definido como o processo onde o conceito sinaliza a sua presença no útero, impedindo a lise do CL (SPENCER & BAZER, 2004), levam a perdas embrionárias por consequência da inabilidade do embrião em bloquear a cascata luteolítica durante o período de manutenção do CL (BAZER, 1986).

Existem evidências de que a incapacidade do conceito em produzir fatores luteotrópicos juntamente com a falha do CL em responder as luteotropinas contribui para a mortalidade embrionária precoce (BAZER, 1986).

O estresse térmico prejudica a homeostase, o que resulta em alterações endócrinas e causa efeitos negativos sobre eventos reprodutivos na fêmea bovina (MACEDO et al., 2014). Quando as mães se tornam hipertérmicas devido ao estresse calórico, os oócitos nos estágios finais de maturação, reduzem sua síntese proteica, diminuindo a taxa de fertilização e o desenvolvimento embrionário (HANSEN & ARÉCHIGA, 1999). O estresse térmico age

diretamente no útero, aumentando a temperatura intraluminal e a hemodinâmica do endométrio, diminuindo o fluxo sanguíneo. Isto afeta o aporte de água, eletrólitos, nutrientes, hormônios e diversos fatores de crescimento ao órgão (GRUNERT; BIRGEL; VALE, 2005). As alterações do ambiente uterino, interrompem o desenvolvimento embrionário e resultam na morte do embrião (HANSEN, 2002).

O termo morte fetal ou abortamento em bovinos se refere a perda gestacional que ocorre no período de 45 a 280 dias de gestação com a expulsão do feto vivo ou morto do útero, porém este é incapaz de exercer uma vida independente em ambiente extra-uterino (HUBBERT et al., 1971). A mortalidade fetal pode ocorrer em consequência de fatores infecciosos e não infecciosos como fatores ambientais, maternos, nutricionais e aberrações cromossômicas (VANROOSE et al., 2000). Quando ocorre a morte fetal em gestações mais avançadas, o feto não é eliminado imediatamente, ocorre a diminuição do fluido dos anexos fetais, alterações na anatomia dos órgãos e com a utilização de ultrassom é possível observar alterações na ecogenicidade do feto (WOLF & GABALDI, 2002).

## **2.8.2 Principais causas de perda gestacional**

O estabelecimento da prenhez inicia-se com a fertilização do óvulo no oviduto. Logo após a fertilização, o embrião sofre as primeiras divisões mitóticas (clivagens) antes de entrar no útero, em torno do estágio de 16 células, aproximadamente no quarto dia de gestação. O embrião continua seu desenvolvimento, passa pela fase de alongamento do trofotoderma, momento em que ocorre a secreção de interferon-tau (IFNT), o que evita a liberação de prostaglandinas e consequentemente a luteólise, viabilizando assim a manutenção da gestação (GUILLMOT, 1995).

Nos bovinos, existem inúmeras causas de perdas gestacionais, dentre elas destacam-se: os problemas sanitários, as deficiências hormonais e nutricionais e os manejos zootécnicos inadequados. É relatado que a maior incidência de perda gestacional em bovinos ocorre no primeiro trimestre da gestação (DISKIN & MORRIS, 2008). Nesse sentido, Wiltbank et al. (2016) descreveram em fases os principais fatores que estão relacionados à interrupção da gestação nos três primeiros meses em bovinos: 1) falhas na fertilização = causadas por estresse térmico, altas concentrações de progesterona próximas à inseminação artificial, baixa qualidade espermática ou má aplicação da técnica de IA; 2) primeira semana de gestação = problemas relacionados à qualidade do oócito, problemas metabólicos no pós-parto, estresse térmico e qualidade do gameta; 3) do oitavo ao 27º dia de gestação = alongamento do conceito, reconhecimento materno da gestação e baixas concentrações de progesterona; 4) segundo mês da gestação (entre o 28º e o 60º dia de gestação) = má formação placentária e desenvolvimento vascular; 5) terceiro mês de gestação = alongamento excessivo do corno uterino (gêmeos se desenvolvendo no mesmo corno uterino).

A deficiência hormonal aparece como sendo uma das principais causas de perda gestacional nos primeiros meses de gestação, destacando-se as baixas concentrações de P4 como uma das mais relevantes. A P4 tem como função promover o desenvolvimento endometrial, estimular a secreção glandular uterina, estimular o crescimento embrionário, reduzir a atividade miometrial e a sensibilidade a ocitocina em bovinos, viabilizando o estabelecimento e a manutenção da gestação (PAPAMITSOU et al., 2011).

O alongamento característico do conceito antes da implantação é dependente das secreções uterinas (SPENCER & GRAY, 2006). Alterações espaciais e temporais no transcriptoma endometrial e na composição histotrófica são necessárias para estabelecer a receptividade uterina ao conceito e, por sua vez, são essenciais para o sucesso da prenhez. Essas modificações são reguladas pela P4 e pelo IFNT produzido pelo embrião (BROOKS et al., 2014; LONERGAN & FORDE, 2015; SPENCER & HANSEN, 2015).



Há evidências de que o ambiente materno seja fundamental para determinar a qualidade do blastocisto e, conseqüentemente, sua capacidade de produzir quantidades adequadas de IFN- $\tau$  necessário para o estabelecimento da prenhez (BARNWELL et al., 2015). Kenyon et al. (2013) sugeriram que um aumento rápido e precoce da concentração de progesterona está associado ao sucesso da prenhez, uma vez que receptoras que receberam embrião e tiveram um aumento tardio da progesterona, apresentaram concentrações indetectáveis de IFN- $\tau$ .

Em relação às perdas gestacionais causadas por erros de manejo nutricional e zootécnico, destacam-se: balanço energético nutricional e idade das matrizes. Kuhn et al. (2006) sugerem que a melhor taxa de concepção de novilhas está no máximo entre 15 e 16 meses de idade e que novilhas com 26 meses de idade ou mais apresentaram taxa de concepção 13% menor, provavelmente devido a uma menor taxa de sobrevivência embrionária. Em relação ao balanço energético, Diskin e Morris (2008) concluíram que a restrição alimentar no início da gestação compromete a qualidade embrionária e conseqüentemente sua sobrevivência.

Um dos métodos mais práticos e comuns de avaliar o estado nutricional de uma matriz é por meio do escore da condição corporal (ECC). Avaliar o estado nutricional das fêmeas se torna fundamental para atingir uma melhor taxa de prenhez (FRANCO et al., 2016). Vacas apresentando baixo ECC apresentam menores taxas de gestação, diferente de vacas com bom escore corporal. Porém, os animais com escore corporal alto, apresentando já obesidade, também podem apresentar problemas como a falha na concepção e comprometimento da ciclicidade (OLIVEIRA et al., 2006). Uma maior perda da condição corporal no início da lactação também está relacionada com pior capacidade reprodutiva (PRYCE et al., 2001).

Sobre as perdas gestacionais de causas infecciosas destacam-se: brucelose, leptospirose, neosporose, IBR, BVD, tricomonose, campilobacteriose.

## 2.9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIEC. **Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes.** [Ahttp://abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2021/](http://abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2021/). Acesso dia 27/07/2021
- ACHA, P.N.; SZYFRES, B. **Zoonoses and communicable diseases common to man and animals.** Pan American Health Org, 2003.
- ADAMS, G.P.; KOT, K.; SMITH, C.A.; GINTHER, O.J. Selection of a dominant follicle and suppression of follicular growth in heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 30, n. 4, p. 259-271, 1993.
- ALVES, T.M.; STYNEN, A.P.R.; MIRANDA, K.L.; LAGE, A.P. Campilobacteriose genital bovina e tricomonose genital bovina: epidemiologia, diagnóstico e controle. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 4, p. 336-344, 2011.
- ANDREOTTI, R.; BARROS, J. C.; PEREIRA, A. R.; OSHIRO, L. M.; CUNHA, R. C.; NETO, L. F. Association between seropositivity for Neospora caninum and reproductive performance of beef heifers in the Pantanal of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 2, p. 119-123, 2010.
- ANDREOTTI, R.; LOCATELLI-DITTRICH, R.; SOCCOL, V. T.; PAIVA, F. **Diagnóstico e controle da neosporose em bovinos.** Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2003.
- ARAKANE, F.; KING, S. R.; DU, Y.; KALLEN, C. B.; WALSH, L. P.; WATARI, H.; STOCCO, D. M.; STRAUSS, J. F. Phosphorylation of steroidogenic acute regulatory protein (StAR) modulates its steroidogenic activity. **Journal of Biological Chemistry**, v. 272, n. 51, p. 32656-32662, 1997.
- ARCK, P.; HANSEN, J.P.; JERICEVIC, B.M.; PICCINNI, M.; SZEKERES-BARTHO, J. Progesterone during pregnancy: endocrine-immune cross talk in mammalian species and the role of stress. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 58, n. 3, p. 268-279, 2007.
- AYALON, N. A review of embryonic mortality in cattle. **Reproduction**, v. 54, n. 2, p. 483-493, 1978.
- BAKER, J. C. The clinical manifestations of bovine viral diarrhea infection. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 11, n. 3, p. 425-445, 1995.
- BARNWELL, C.V.; FARIN, P.W.; WHISNANT, C.S.; ALEXANDER, J.E.; FARIN, C.E. Maternal serum progesterone concentration and early conceptus development of bovine embryos produced in vivo or in vitro. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 52, p. 75-81, 2015.
- BARUSELLI, P.S.; FERREIRA, R.M.; COLLI, M.H.A.; ELLIFF, F.M.; SÁ FILHO, M.F.; LAIS, V.; FREITAS, B. G. Timed artificial insemination: current challenges and recent advances in reproductive efficiency in beef and dairy herds in Brazil. **Animal Reproduction**, v. 14, n. 3, p. 558-571, 2017.

BARUSELLI, P. S.; SALES, J. N. S.; SALA, R. V.; VIEIRA, L. M.; SÁ FILHO, M. F. History, evolution and perspectives of timed artificial insemination programs in Brazil. **Animal Reproduction**, v. 9, n. 3, p. 139-152, 2012.

BARUSELLI, P.S.; CATUSSI, B.L.C.; ABREU, L.A.; ELLIFF, F.M.; SILVA, L.G.; BATISTA, E.O. S. Challenges to increase the AI and ET markets in Brazil. **Animal Reproduction**, v. 16, n. 3, p. 364-375, 2019.

BATISTA, E. O.S.; CARDOSO, B.O.; OLIVEIRA, M.L.; CUADROS, F.D.C.; MELLO, B.P.; SPONCHIADO, M.; MOTEIRO, B.M.; PUGLIESE, G.; BINELLI, M. Supplemental progesterone induces temporal changes in luteal development and endometrial transcription in beef cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 68, p. 126-134, 2019.

BAZER, F.W.; VALLET, J.L.; ROBERTS, R.M.; SHARP, D.C.; THATCHER, W.W. Role of conceptus secretory products in establishment of pregnancy. **Reproduction**, v. 76, n. 2, p. 841-850, 1986.

BEAL, W.E. Current estrus synchronization and artificial insemination programs for cattle. **Journal of Animal Science**, v. 76, n. suppl\_3, p. 30-38, 1998.

BEG, M.A.; BERGFELT, D.R.; KOT, K.; WILTBANK, M.C.; GINTHER, O.J. Follicular-fluid factors and granulosa-cell gene expression associated with follicle deviation in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 64, n. 2, p. 432-441, 2001.

BERGER, T. Fertilization in ungulates. **Animal Reproduction Science**, v. 42, n. 1-4, p. 351-360, 1996.

BERTAN, C.M.; BINELLI, M.; MADUREIRA, E.H.; TRALDI, A.S. Mecanismos endócrinos e moleculares envolvidos na formação do corpo lúteo e na luteólise: revisão de literatura. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 43, n. 6, p. 824-840, 2006

BESBACI, M.; ABDELLI, A.; MINVIEL, J. J.; BELABDI, I.; KAIDI, R.; RABOISSON, D. Association of pregnancy per artificial insemination with gonadotropin-releasing hormone and human chorionic gonadotropin administered during the luteal phase after artificial insemination in dairy cows: A meta-analysis. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 2, p. 2006-2018, 2020.

BLACHE, D.; FABRE-NYS, C.J.; VÉNIER, G. Ventromedial hypothalamus as a target for oestradiol action on proceptivity, receptivity and luteinizing hormone surge of the ewe. **Brain Research**, v. 546, n. 2, p. 241-249, 1991.

BONDURANT, R. H. Venereal diseases of cattle: natural history, diagnosis, and the role of vaccines in their control. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 21, n. 2, p. 383-408, 2005.

BROOKS, K.; BURNS, G.; SPENCER, T. E. Conceptus elongation in ruminants: roles of progesterone, prostaglandin, interferon tau and cortisol. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 5, n. 1, p.53, 2014.

BURATINI, J.R.J. Controle endócrino e local da foliculogênese em bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 31, p. 190-196, 2007.

CERRI, R.L.A.; RUTIGLIANO, H.M.; CHEBEL, R.C.; SANTOS, J.E.P. Period of dominance of the ovulatory follicle influences embryo quality in lactating dairy cows. **Reproduction**, v. 137, n. 5, p. 813-823, 2009.

CHIDEROLI, R.T.; PEREIRA, U.P.; GONÇALVES, D.D.; NAKAMURA, A.Y.; ALFIERI, A.A.; ALFIERI, A.F.; FREITAS, J.C. Isolation and molecular characterization of *Leptospira borgpetersenii* serovar Hardjo strain Hardjobovis in the urine of naturally infected cattle in Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v.15, n.1, p. 1-7, 2016.

CHRISTENSON, L.K.; STRAUSS, J.F. Steroidogenic acute regulatory protein (StAR) and the intramitochondrial translocation of cholesterol. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1529, n. 1-3, p. 175-187, 2000.

CLARK, B.L. Review of bovine vibriosis. **Australian Veterinary Journal**, v. 47, n. 3, p. 103-107, 1971.

CLAUS, M.P.; ALFIERI, A.F.; ALFIERI, A.A. Herpesvírus bovino tipo 5 e meningoencefalite herpética bovina. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 23, n. 1, p. 131-141, 2002.

COUTO, S.R.B.; GUERSON, Y.B.; FERREIRA, J.E.; SILVA, O.R.; SILENCIATO, L.N.; BARBERO, R.P.; MELLO, M.R.B. Impact of supplementation with long-acting progesterone on gestational loss in Nelore females submitted to TAI. **Theriogenology**, v. 125, p. 168-172, 2019.

DE MEDEIROS, S.F.; NORMAN, R.J. Human choriogonadotrophin protein core and sugar branches heterogeneity: basic and clinical insights. **Human Reproduction Update**, v. 15, n. 1, p. 69-95, 2009.

DEVOTO, L.; CHRISTENSON, L.K.; MCALLISTER, J.M.; MARKRIGIANNAKS. A.; STRAUSS, F.J. Insulin and insulin-like growth factor-I and-II modulate human granulosa-lutein cell steroidogenesis: enhancement of steroidogenic acute regulatory protein (StAR) expression. **Molecular Human Reproduction**, v. 5, n. 11, p. 1003-1010, 1999.

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.

DOMINKO, T.; MITALIPOVA, M.; HALEY, B.; BEYHAN, Z.; MEMILI, E.; MCKUSICK, B.; FIRST, N. L. Bovine oocyte cytoplasm supports development of embryos produced by nuclear transfer of somatic cell nuclei from various mammalian species. **Biology of Reproduction**, v. 60, n. 6, p. 1496-1502, 1999.

DO VALLE, Ezequiel Rodrigues. **O ciclo estral de bovinos e métodos de controle**. EMBRAPA-CNPQC, 1991.

DUBEY, J.P.; BARR, B.C.; BARTA, J.R.; BJERKAS, I.; BJORKMAN, C.; BLAGBURN, D.D.; BUXTON, D.; ELLIS, J.T.; GOTTSTEIN, B. HEMPHILL, A.; HILL, D.E.; HOWE, D.K.; JENKINS, M.C.; KOBAYASHI, Y.; KOUDELA, B.; MARSH, A.E.; MATTSSON, J.G.; MCALLISTER, M.M.; MODRÝ, D.; OMATA, Y.; SIBLEY, L.D.; SPEER, C.; TREES, A.J.; UGGLA, A.; UPTON, S.J.; WILLIAMS, D.J.L.; LINDSAY, D.S. Redescription of

Neospora caninum and its differentiation from related coccidia. **International Journal for Parasitology**, v. 32, n. 8, p. 929-946, 2002.

DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S. A review of Neospora caninum and neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v. 67, n. 1-2, p. 1-59, 1996.

EAGLESOME, M.D.; GARCIA, M.M. Disease risks to animal health from artificial insemination with bovine semen. **Revue Scientifique et Technique-Office International des Épizooties**, v. 16, p. 215-225, 1997.

ELLIS, W.A. Leptospirosis as a cause of reproductive failure. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 10, n. 3, p. 463-478, 1994.

EVANS, A.C.O.; FORTUNE, J.E. Selection of the dominant follicle in cattle occurs in the absence of differences in the expression of messenger ribonucleic acid for gonadotropin receptors. **Endocrinology**, v. 138, n. 7, p. 2963-2971, 1997.

FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C. A.; PEROLAT, P. Leptospira and leptospirosis. 2. ed. Melbourne: **MedSci**, p. 272, 1999.

FERNANDEZ-VALDIVIA, R.; MUKHERJEE, A.; MULAC-JERICEVIC, B.; CONNEELY, O.M.; DEMAYO, F.J.; AMATO, P.; LYDON, J.P. Revealing progesterone's role in uterine and mammary gland biology: insights from the mouse. In: **Seminars in reproductive medicine**. Copyright© 2005 by Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New York, NY 10001, USA., p. 22-37. 2005

FILANT, J.; SPENCER, T.E. Uterine glands: biological roles in conceptus implantation, uterine receptivity, and decidualization. **The International Journal of Developmental Biology**, v. 58, p. 107, 2014.

FLORES, E.F.; WEIBLEN, R.; VOGEL, F.S.F.; ROEHE, P.M.; ALFIERI, A.A.; PITUCO, E.M. A infecção pelo vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) no Brasil: histórico, situação atual e perspectivas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 25, n. 3, p. 125-134, 2005.

FORDE, N.; BAZER, F.W.; SPENCER, T.E.; LONERGAN, P. ‘Conceptualizing’ the endometrium: identification of conceptus-derived proteins during early pregnancy in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 92, n. 6, p. 156, 1-13, 2015.

FORDE, N.; BELTMAN, M. E.; LONERGAN, P.; DISKIN, M.; ROCHE, J. F.; CROWE, M. A. Oestrous cycles in Bos taurus cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 124, n. 3-4, p. 163-169, 2011.

FRANCO, G.L.; FARIA, F.J.C.; D’OLIVEIRA, M.C. Interação entre nutrição e reprodução em vacas de corte. **Informe Agropecuário**, v.37, p. 36-53, 2016.

GARCÍA-GUERRA, A.; SALA, R.V.; CARRENHO-SALA, L.; BAEZ, G.M.; MOTTA, J.L.; FOSADO, M.; MORENO, J.F.; WILTBANK, M.C. Postovulatory treatment with GnRH on day 5 reduces pregnancy loss in recipients receiving an in vitro produced expanded blastocyst. **Theriogenology**, v. 141, p. 202-210, 2020

GEARY, T.W.; BURNS, G.W.; MORAES, J.G.N.; MOSS, J.I.; DENICOL, A.C.; DOBBS, K.B.; ORTEGA, M.F.; HANSEN, P.J.; WEHRMAN, M.E.; NEIBEGS, H.; O'NEIL, E.; BEHURA, S.; SPENCER, T.E. Identification of beef heifers with superior uterine capacity for pregnancy. **Biology of Reproduction**, v. 95, n. 2, p. 47, 1-12, 2016.

GEISERT, R.D.; MORGAN, G.L.; SHORT, E.C.; ZAVY, M.T. Endocrine events associated with endometrial function and conceptus development in cattle. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 4, n. 3, p. 301-305, 1992.

GIBBS, E.P.J.; RWEYEMANN, M.M. Bovine herpesviruses. Part I. Bovine herpesvirus 1. **Vet Bull**, v. 47, p. 317-318, 1977.

GINTHER, O.J.; BEG, M.A.; BERGFELT, D.R.; DONADEU, F.X.; KOT, K. Follicle selection in monovular species. **Biology of Reproduction**, v. 65, n. 3, p. 638-647, 2001.

GINTHER, O.J.; BERGFELT, D.R.; BEG, M.A.; KOT K. Role of low circulating FSH concentrations in controlling the interval to emergence of the subsequent follicular wave in cattle. **Reproduction**, v. 124, n. 4, p. 475-482, 2002.

GINTHER, O.J.; BERGFELT, D.R.; KULICK, L.J.; KOT, K. Selection of the dominant follicle in cattle: role of two-way functional coupling between follicle-stimulating hormone and the follicles. **Biology of Reproduction**, v. 62, n. 4, p. 920-927, 2000.

GINTHER, O.J.; KOT, K.; KULICK, L.J.; WILTBANK, M.C. Emergence and deviation of follicles during the development of follicular waves in cattle. **Theriogenology**, v. 48, n. 1, p. 75-87, 1997.

GIOMETTI, I.C.; CASTILHO, A.C.S.; SÁ FILHO, O.G.; PAPA, P.C.; JUNIOR, J.B. Controle local e endócrino do desenvolvimento e da regressão do corpo lúteo bovino. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.33, n.1, p. 34-52, 2009.

GLASS, C.K.; ROSENFELD, M.G. The coregulator exchange in transcriptional functions of nuclear receptors. **Genes & Development**, v. 14, n. 2, p. 121-141, 2000.

GRANGER, B.L.; WARWOOD, S.J.; BENCHIMOL, M.B.; SOUZA, W. Transient invagination of flagella by Trichomonas foetus. **Parasitology Research**, v. 86, n. 9, p. 699-709, 2000.

GRUMMER, R.R.; CARROLL, D.J. A review of lipoprotein cholesterol metabolism: importance to ovarian function. **Journal of Animal Science**, v. 66, n. 12, p. 3160-3173, 1988.

GRUNERT, E.; BIRGEL, E.H.; VALE, W.G. **Patologia e clínica da reprodução dos animais mamíferos domésticos: ginecologia**. [S.l: s.n.] São Paulo: Varela, 551p., 2005.

GUILLOMOT, M. Cellular interactions during implantation in domestic ruminants. **Journal of Reproduction and Fertility-Supplements only**, n. 49, p. 39-52, 1995.

GUO, R.; CHEN, F.; MEI C.; DAÍ, Z.; YAN, L.; SHI, Z. Conception Rate and Reproductive Hormone Secretion in Holstein Cows Immunized against Inhibin and Subjected to the Ovsynch Protocol. **Animals**, v. 10, n. 2, p. 313, 2020.

HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**. 7 ed. São Paulo, Editora Manole, 2004.

HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. **Reproduction in Farm Animals**. 7<sup>th</sup>Ed. Philadelphia: Lippincott, 2000. P.68-81

HANSEL, W.; SHEMESH, M.; HIXON, J.; LUKASZEWSKA, J. Extraction, isolation and identification of a luteolytic substance from bovine endometrium. **Biology of Reproduction**, v. 13, n. 1, p. 30-37, 1975.

HANSEN, P. J.; AREÉCHIGA, C. F. Strategies for managing reproduction in the heat-stressed dairy cow. **Journal of Animal Science**, v. 77, n. suppl\_2, p. 36-50, 1999.

HANSEN, P.J. Embryonic mortality in cattle from the embryo's perspective. **Journal of Animal Science**, v.80, n.2, p.33-44, 2002.

HELGUERA, I.L.; WHITTAKER P.; BEHROUZI, A.; MAPLETOFT, R.J.; COLAZO, M.G. Effect of initial GnRH and time of insemination on reproductive performance in cyclic and acyclic beef heifers subjected to a 5-d Co-synch plus progesterone protocol. **Theriogenology**, v. 106, p. 39-45, 2018.

HESS, B.W.; LAKE, S.L.; SCHOLLJEGERDES, E.J.; WESTON, T.R.; NAYIGIHUGU, V.; MOLLE, J.D.C.; MOSS, G.E. Nutritional controls of beef cow reproduction. **Journal of Animal Science**, v. 83, n. 13, p. E90-E106, 2005.

HOJO, T.; ODA, A.; LEE, S.H.; ACOSTA, T.J.; OKUDA, K. Effects of tumor necrosis factor  $\alpha$  and Interferon  $\gamma$  on the viability and mRNA expression of TNF receptor type I in endothelial cells from the bovine corpus luteum. **Journal of Reproduction and Development**, vol. 56, p. 1006110282-1006110282, 2010.

HOJO, T.; PIOTROWSKA-TOMALA, K.K.; JONCZYK, A.W.; LUKASIK, K.; JANKOWSKA, K.; OKUDA, K.; WITEK, K.J.; SKARZYNSKI, D.J. Receptor interacting protein kinases-dependent necroptosis as a new, potent mechanism for elimination of the endothelial cells during luteolysis in cow. **Theriogenology**. v. 128, p.193-200, 2019.

HORI, K.; MATSUYAMA, S.; NAKAMURA, S.; IWATA, H.; KUWAYAMA, T.; MIYAMOTO, A.; SHIRASUNA, K. Age-related changes in the bovine corpus luteum function and progesterone secretion. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 54, n. 1, p. 23-30, 2019.

HUBBERT, W.T. Recommendations for standardizing bovine reproductive terms. **Cornell Vet**, v. 62, p. 216-237, 1971.

HUE, I.; DEGRELLE, S.A.; TURENNE, N. Conceptus elongation in cattle: genes, models and questions. **Animal Reproduction Science**, v. 134, n. 1-2, p. 19-28, 2012.

HUGENTOBLER, S.A.; DISKIN, M.G.; LEESE, H.J.; HUMPHERSON, P.G.; WATSON, T.; SREENAN, J.M.; MORRIS, D.G. Amino acids in oviduct and uterine fluid and blood plasma during the estrous cycle in the bovine. **Molecular Reproduction and Development: Incorporating Gamete Research**, v. 74, n. 4, p. 445-454, 2007.

HUGENTOBLER, S.A.; HUMPHERSON, P.G.; LEESE, H.J.; SREENAN, J.M.; MORRIS, D.G. Energy substrates in bovine oviduct and uterine fluid and blood plasma during the oestrous cycle. **Molecular Reproduction and Development: Incorporating Gamete Research**, v. 75, n. 3, p. 496-503, 2008.

HUMBLLOT, P. Use of pregnancy specific proteins and progesterone assays to monitor pregnancy and determine the timing, frequencies and sources of embryonic mortality in ruminants. **Theriogenology**, v. 56, n. 9, p. 1417-1433, 2001.

IRELAND, J.J. Control of follicular growth and development. **Journals of Reproduction & Fertility**, v. 34, n. suppl, p. 39-54, 1987.

IRELAND, J.J.; ROCHE, J.F. Development of antral follicles in cattle after prostaglandin-induced luteolysis: changes in serum hormones, steroids in follicular fluid, and gonadotropin receptors. **Endocrinology**, v. 111, n. 6, p. 2077-2086, 1982a.

IRELAND, J.J.; ROCHE, J.F. Effect of progesterone on basal LH and episodic LH and FSH secretion in heifers. **Reproduction**, v. 64, n. 2, p. 295-302, 1982b.

JOHNSON, K.R.; ROSS, R.H.; FOURT, D.L. Effect of progesterone administration on reproductive efficiency. **Journal of Animal Science**, v. 17, n. 2, p. 386-390, 1958.

JUENGEL, J.L.; GARVERICK, H.A.; JOHNSON, A.L.; YOUNGQUIST, R.S.; SMITH, M.F. Apoptosis during luteal regression in cattle. **Endocrinology**, v. 132, n. 1, p. 249-254, 1993.

KARSCH, F.J.; FOSTER, D.L.; LEGAN, S.J.; RYAN, K.D.; PETER, G.K. Control of the preovulatory endocrine events in the ewe: interrelationship of estradiol, progesterone, and luteinizing hormone. **Endocrinology**, v. 105, n. 2, p. 421-426, 1979.

KENYON, A.G.; MENDONÇA, L.G.; JUNIOR, L.G.; LIMA, J.R.; SANTOS, J.E.; CHEBEL, R.C. Minimal progesterone concentration required for embryo survival after embryo transfer in lactating Holstein cows. **Animal Reproduction Science**, v. 136, n. 4, p. 223-230, 2013.

KOMIYAMA, J.; Nishimura, R.; Lee, H.Y.; Sakumoto, R.; Tetsuka, M.; Acosta, T.J.; Skarzynski, D.J.; Okuda, K. Cortisol is a suppressor of apoptosis in bovine corpus luteum. **Biology of Reproduction**, v. 78, n. 5, p. 888-895, 2008.

KOPPERS-LALIC, D.; KOPPERS-LALIC, D.; RIJSEWIJK, F.A.M.; VERSCHUREN, S.B.E.; BRINK, J.A.M.V.G.D.; NEISIG, A.; RESSING, M.E.; NEEFJES, J.; WIERTZ, E.J.H.J. The UL41-encoded virion host shutoff (vhs) protein and vhs-independent mechanisms are responsible for down-regulation of MHC class I molecules by bovine herpesvirus 1. **Journal of General Virology**, v. 82, n. 9, p. 2071-2081, 2001.

KOTWICA, J.; REKAWIECKI, R.; DURAS, M. Stimulatory influence of progesterone on its own synthesis in bovine corpus luteum. **Bulletin-Veterinary Institute in Pulawy**, v. 48, n. 2, p. 139-146, 2004.

KUHN, M. T.; HUTCHISON, J.L.; WIGGANS, G.R. Characterization of Holstein heifer fertility in the United States. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 12, p. 4907-4920, 2006.



LEVY, N.; KOBAYASHI, S.; ROTH, Z.; WOLFENSON, D.; MIYAMOTO, A.; MEIDAN, R. Administration of prostaglandin F2 $\alpha$  during the early bovine luteal phase does not alter the expression of ET-1 and of its type A receptor: a possible cause for corpus luteum refractoriness. **Biology of Reproduction**, v. 63, n. 2, p. 377-382, 2000.

LEE, J.I.; KIM, I.H. Pregnancy loss in dairy cows: the contributing factors, the effects on reproductive performance and the economic impact. **Journal of Veterinary Science**. v.8, n.3, p.283-288, 2007.

LI, H.; FIDLER, M.L.; LIM, C.S. Effect of initial subcellular localization of progesterone receptor on import kinetics and transcriptional activity. **Molecular Pharmaceutics**, v. 2, n. 6, p. 509-518, 2005.

LIMA, R.S.; MARTINS, T.; LEMES, K.M.; BINELLI, M.; MADUREIRA, E.H. Effect of a puberty induction protocol based on injectable long acting progesterone on pregnancy success of beef heifers serviced by TAI. **Theriogenology**, v. 154, p. 283-288, 2020.

LOIOLA, M.V.G.; BITTENCOURT, R.F.; RODRIGUES, A.S.; FERRAZ, P.A.; LIMA, M.C.C.; CARVALHO, C.V.D.; FILHO, A.L.R. Oral progesterone supplementation for beef cattle after insemination in TAI programs. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 53, n. 1, p. 105-112, 2018.

LONERGAN, P.; FORDE, N. The role of progesterone in maternal recognition of pregnancy in domestic ruminants. In: **Regulation of Implantation and Establishment of Pregnancy in Mammals**. Springer, Cham, 2015. p. 87-104.

LUCACIN, E.; NETO, A.P. Mecanismos da luteólise. Revisão de literatura. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 12, p.187-190, 2009.

LUKASZEWSKA, J.H.; HANSEL, W. Extraction and partial purification of luteolytic activity from bovine endometrial tissue. **Endocrinology**, v. 86, n. 2, p. 261-270, 1970.

MACEDO, G.G.; COSTA E SILVA, E.V.; PINHO, R.O.; ASSUMPÇÃO, T.I.; JACOMINI, J.O.; SANTOS, R.M.; MARTIN, L.F. O estresse por calor diminui a fertilidade de fêmeas bovinas por afetar o desenvolvimento oocitário e o embrionário. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 38, p. 80-85, 2014.

MANN, G.E.; LAMMING, G.E. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. **Reproduction-Cambridge**, v. 121, n. 1, p. 175-180, 2001.

MANN, G.E.; LAMMING, G.E. The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 34, n. 3-4, p. 269-274, 1999.

MANTOVANI, A.P.; NICHI, M.; SÁ FILHO, M.F.; AYRES, H.; VETTORATO, L.F.; BO, G.A.; BARUSELLI, P.S. Follicular growth and plasma progesterone patterns in Bos indicus x Bos taurus heifers submitted to different PGF2 $\alpha$ /progesterone-based synchronization protocols. **Animal Reproduction**, v. 7, n. 2, p. 90-96, 2018.

MARTINS, T.; PUGLIESI, G.; SPONCHIADO, M.; CARDOSO, B.O.; SILVA, K.R.; CELEGHINI, E.C.C.; BINELLI, M. Supplementation with long-acting progesterone in early diestrus in beef cattle: I. effect of artificial insemination on onset of luteolysis. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 67, p. 63-70, 2019.

MARTIN, I.; FERREIRA, J.C.P. Fisiologia da ovulação e da formação do corpo lúteo bovino. **Veterinária e Zootecnia**, v. 16, n. 2, p. 270-279, 2009.

MCALLISTER, M.M.; DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S.; JOLLEY, W.R.; WILLS, R.A.; MCGUIRE, A.M. Rapid communication: Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 28, n. 9, p. 1473-1479, 1998.

MCCRACKEN, J.A.; CUSTER, E.E.; LAMSA, J.C. Luteolysis: a neuroendocrine-mediated event. **Physiological Reviews**, v. 79, n. 2, p. 263-323, 1999.

MCMILLEN, L.; LEW, A.E. Improved detection of *Tritrichomonas foetus* in bovine diagnostic specimens using a novel probe-based real time PCR assay. **Veterinary Parasitology**, v. 141, n. 3-4, p. 204-215, 2006.

MCNATTY, K.P.; HEATH, D.A.; LUNDY, T.; FIDLER, A.E.; QUIRKE, L.; O'CONNELL, A.; SMITH, P.; GROOME, N.; TISDALL, D.J. Control of early ovarian follicular development. **Journal of Reproduction and Fertility-Supplement**, p. 3-16, 1999.

MEDVEI, V.C. **A history of endocrinology**. Springer Science & Business Media, 1982.

MEMILI, E.; FIRST, N.L. Control of gene expression at the onset of bovine embryonic development. **Biology of Reproduction**, v. 61, n. 5, p. 1198-1207, 1999.

MENEGHETTI, M.; SÁ FILHO, O.G.; PERES, R.F.; LAMB, G.C.; VASCONCELOS, J.L. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: basis for development of protocols. **Theriogenology**, v. 72, n. 2, p. 179-189, 2009.

MERTON, J.S.; ROOS, A.P.W.; MULLAART, E.; RUIGH, L.; KAAL, L.; VOS, P.L.A.M.; DIELEMAN, S.J. Factors affecting oocyte quality and quantity in commercial application of embryo technologies in the cattle breeding industry. **Theriogenology**, v. 59, n. 2, p. 651-674, 2003.

MIHM, M.; AUSTIN, E.J. The final stages of dominant follicle selection in cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 23, n. 1-2, p. 155-166, 2002.

MISHRA, B.; KOSHI, K.; KIZAKI, K.; USHIZAWA, K.; TAKAHASHI, T.; HOSOE, M.; SATO, T.; ITO, A.; HASHIZUME, K. Expression of ADAMTS1 mRNA in bovine endometrium and placenta during gestation. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 45, n. 1, p. 43-48, 2013.

MOKHTARI, A.; KAFI, M.; ZAMIRI, M.J.; AKBARI, R. Factors affecting the size of ovulatory follicles and conception rate in high-yielding dairy cows. **Theriogenology**, v. 85, n. 4, p. 747-753, 2016.

MONDAL, M.; SCHILLING, B.; FOLGER, J.; STEIBEL, J.P.; BUCHNICK, H.; ZALMAN, Y.; IRELAND, J.J.; MEIDAN, R.; SMITH, G.W. Deciphering the luteal transcriptome: potential mechanisms mediating stage-specific luteolytic response of the corpus luteum to prostaglandin F2 $\alpha$ . **Physiological Genomics**, v. 43, n. 8, p. 447-456, 2011.

MURPHY, B.D. Equine chorionic gonadotropin: an enigmatic but essential tool. **Animal Reproduction**, v.9, n.3, p. 223-230, 2012.

MURPHY, B.D.; MARTINUK, S.D. Equine chorionic gonadotropin. **Endocrine Reviews**, v. 12, n. 1, p. 27-44, 1991.

NISWENDER, G.D.; JUENGEL, J.L.; MCGUIRE, W.J.; BELFIORE, C.J.; WILTBANK, M.C.; Luteal function: the estrous cycle and early pregnancy. **Biology of Reproduction**, v. 50, n. 2, p. 239-247, 1994.

NISWENDER, G.D.; JUENGEL, J.L.; SILVA, P.J.; ROLLYSON, M.K.; MCINTUSH, E.W. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. **Physiological Reviews**, v. 80, n. 1, p. 1-29, 2000.

NORMAN, A.W.; MIZWICKI, M.T.; NORMAN, D.P.G. Steroid-hormone rapid actions, membrane receptors and a conformational ensemble model. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 3, n. 1, p. 27-41, 2004.

OLIVEIRA, R.L.; BARBOSA, M.A.A.F.; LADEIRA, M.M.; SILVA, M.M.P.; ZIVIANI, A.C.; BAGALDO, A.R. Nutrição e manejo de bovinos de corte na fase de cria. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 7, n. 1, p.57-86, 2006.

OTONEL, R.A.A.; ALFIERI A.F.; DEZEN, S.; LUNARDI, M.; HEADLEY, S.A.; ALFIERI, A.A. The diversity of BVDV subgenotypes in a vaccinated dairy cattle herd in Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, v. 46, n. 1, p. 87-92, 2014.

PAPAMITSOU, T.; CHATZISTAMATIOU, M.; GRAMMATIKOPOULOU, D.; PAPADOPOULOU, K.; LAKIS, S.; ECONOMOU, Z.; PAPADOPOULOU, C.; SIOGA, A. Low expression of progesterone receptor A in intermediate trophoblast of miscarriages. **Histology and Histopathology**, v. 25, n. 5, p. 2011, 2011.

PARR, M.H.; CROWE, M.A.; LONERGAN, P.; EVANS, A.C.; RIZOS, D.; DISKIN, M.G. Effect of exogenous progesterone supplementation in the early luteal phase post-insemination on pregnancy per artificial insemination in Holstein–Friesian cows. **Animal Reproduction Science**, v. 150, n. 1-2, p. 7-14, 2014.

PARR, M.H.; SCULLY, S.; LONERGAN, P.; EVANS, A.C.O.; CROWE, M.A.; DISKIN, M.G. Establishment of critical timing of progesterone supplementation on corpus luteum and embryo development in beef heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 180, n. 1, p. 1-9, 2017.

PATTERSON, D.J.; THOMAS, J.M.; MARTIN, N.T.; NASH, J.M.; SMITH, M.F. Control of estrus and ovulation in beef heifers. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 29, n. 3, p. 591-617, 2013.

PELLEGRIN, A.O.; LAGE, A.P.; SERENO, J.R.B.; RAVAGLIA, E.; COSTA, M.S.; LEITE, R.C. Bovine genital campylobacteriosis in Pantanal, state of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revue Delevage et de Medicine Veterinaire des Pays Tropicaux**, v. 55, n. 3, p. 169-173, 2002.

PELUSO, J.J.; PAPPALARDO, A.; FERNANDEZ, G.; WU, C.A. Involvement of an unnamed protein, RDA288, in the mechanism through which progesterone mediates its antiapoptotic action in spontaneously immortalized granulosa cells. **Endocrinology**, v. 145, n. 6, p. 3014-3022, 2004.

PELUSO, J.J. Multiplicity of progesterone's actions and receptors in the mammalian ovary. **Biology of Reproduction**, v. 75, n. 1, p. 2-8, 2006.

PERRY, G.A.; SMITH, M.F.; LUCY, M.C.; GREEN, J.A.; PARKS, T.E.; MACNEIL, M.D.; ROBERTS, A.J.; GEARY, T.W. Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 102, n. 14, p. 5268-5273, 2005.

PESCADOR, N.; SOUMANO, K.; STOCO, D.M.; PRICE, C.A.; MURPHY, B.D. Steroidogenic acute regulatory protein in bovine corpora lutea. **Biology of Reproduction**, v. 55, n. 2, p. 485-491, 1996.

PIEBER, D.; ALLPORT, V.C.; BENNETT, P.R. Progesterone receptor isoform A inhibits isoform B-mediated transactivation in human amnion. **European Journal of Pharmacology**, v. 427, n. 1, p. 7-11, 2001.

PITEL, P.H.; ROMAND, S.; PRONOST, S.; FOUCHER, N.; GARGALA, G.; MAILLARD, K.; THULLIEZ, P.; COLLOBERT-LAUGIER, C.; TAINURIER, D.; FORTIER, G.; BALLE, J.J. Investigation of Neospora sp. antibodies in aborted mares from Normandy, France. **Veterinary Parasitology**, v. 118, n. 1-2, p. 1-6, 2003.

POESTER, F.; FIGUEIREDO, V.C.F.; LÔBO, J.R.; GONÇALVES, V.S.P.; LAGE, A.P.; ROXO, E.; MOTA, P.M.P.C.; MÜLLER, E.E. Estudos de prevalência da brucelose bovina no âmbito do Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose: Introdução. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, p. 01-05, 2009.

PON, L.A.; ORME-JOHNSON, N.R. Acute stimulation of corpus luteum cells by gonadotrophin or adenosine 3', 5'-monophosphate causes accumulation of a phosphoprotein concurrent with acceleration of steroid synthesis. **Endocrinology**, v. 123, n. 4, p. 1942-1948, 1988.

PRATA, A.B.; DRUM, J.N.; MELO, L.F.; ARAUJO, E.R.; SARTORI, R. Effect of different chorionic gonadotropins on final growth of the dominant follicle in Bos indicus cows. **Theriogenology**, v. 111, p. 52-55, 2018.

PRU, J.K.; TILLY, J.L. Programmed cell death in the ovary: insights and future prospects using genetic technologies. **Molecular Endocrinology**, v. 15, n. 6, p. 845-853, 2001.

PRYCE, J.E.; COFFEY, M.P.; SIMM, G. The relationship between body condition score and reproductive performance. **Journal of Dairy Science**, v. 84, n. 6, p. 1508-1515, 2001.

PUGLIESI, G.; OLIVERIA, M.I.; SCOLARI, S.C.; LOPES, E.; PINAFFI, F.V.; MIAGAWA, B.T.; PAIVA, Y.N.; MAIO, J.R.G.; NOGUEIRA, G.P.; BINELLI, M. Corpus Luteum Development and Function after Supplementation of Long-Acting Progesterone During the Early Luteal Phase in Beef Cattle. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 49, n. 1, p. 85-91, 2014.

PUGLIESI, G.; SANTOS, F.B.; LOPES, E.; NOGUEIRA, É.; MAIO, J.R.G.; BINELLI, M. Improved fertility in suckled beef cows ovulating large follicles or supplemented with long-acting progesterone after timed-AI. **Theriogenology**, v. 85, n. 7, p. 1239-1248, 2016.

PURSLEY, J.R.; MEE, M.O.; WILTBANK, M.C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF $2\alpha$  and GnRH. **Theriogenology**, v. 44, n. 7, p. 915-923, 1995.

RABASSA, V.R.; PFEIFER, L.F.M.; SCHNEIDER, A.; LUZ, E.M.; COSTA, E.R.M.; NUN, M. Anestro pós-parto em bovinos: mecanismos fisiológicos e alternativas hormonais visando reduzir este período: uma revisão. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia, Uruguaiana**, v. 14, n.1, p. 139-161, 2007.

RAHE, C.H.; OWENS, R.E.; FLEEGER, J.L.; NEWTON, H.J.; HARMS, P.G. Pattern of plasma luteinizing hormone in the cyclic cow: dependence upon the period of the cycle. **Endocrinology**, v. 107, n. 2, p. 498-503, 1980.

REKAWIECKI, R.; KOWALIK, M.K.; SLONINA, D.; KOTWICA, J. Regulation of progesterone synthesis and action in bovine corpus luteum. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 59, n. suppl 9, p. 75-89, 2008.

REKAWIECKI, R.; NOWIK, M.; KOTWICA, J. Stimulatory effect of LH, PGE $2$  and progesterone on StAR protein, cytochrome P450 cholesterol side chain cleavage and  $\beta$  hydroxysteroid dehydrogenase gene expression in bovine luteal cells. **Prostaglandins & Other Lipid Mediators**, v. 78, n. 1-4, p. 169-184, 2005.

REVAH, I.; BUTLER, W.R. Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocytes. **Reproduction**, v. 106, n. 1, p. 39-47, 1996.

RHODES, F.M.; BURKE, C.R.; CLARK, B.A.; DAY, M.L.; MACMILLAN, K.L. Effect of treatment with progesterone and oestradiol benzoate on ovarian follicular turnover in postpartum anoestrous cows and cows which have resumed oestrous cycles. **Animal Reproduction Science**, v. 69, n. 3-4, p. 139-150, 2002.

RICHARDS, J.S.; HEDIN, L. Molecular aspects of hormone action in ovarian follicular development, ovulation, and luteinization. **Annual Review of Physiology**, v. 50, n. 1, p. 441-463, 1988.

RIPPE, C.A. El ciclo estral. In: **Dairy Cattle Reproduction Conference**. p. 111-116, 2009.

RIZOS, D.; SCULLY, S.; KELLY, A.K.; EALY, A.D.; MOROS, R.; DUFFY, P.; AL NAIB, A.; FORDE, N.; LONERGAN, P. Effects of human chorionic gonadotrophin administration on day 5 after oestrus on corpus luteum characteristics, circulating progesterone and conceptus elongation in cattle. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 24, n. 3, p. 472-481, 2012.

ROBINSON, N.A.; LESLIE, K.E.; WALTON, J.S. Effect of treatment with progesterone on pregnancy rate and plasma concentrations of progesterone in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 1, p. 202-207, 1989.

ROBINSON, R.S.; FRAY, M.D.; WATHES, D.C.; LAMMING, G.E.; MANN, G.E. In vivo expression of interferon tau mRNA by the embryonic trophoblast and uterine concentrations of interferon tau protein during early pregnancy in the cow. **Molecular Reproduction and Development**, v. 73, n. 4, p. 470-474, 2006.

ROCHE, J.F. Control and regulation of folliculogenesisa symposium in perspective. **Reviews of Reproduction**, v. 1, n. 1, p. 19-27, 1996.

RODRIGUES, M.C.; LEÃO, K.M.; SILVA, N.C.; SILVA, R.P.; VIU, M.A.O.; CARDOSO, L.M. Administração de acetato de melengestrol após inseminação artificial em tempo fixo em vacas Nelore lactantes. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 15, n. 2, p. 361-368, 2014.

ROVANI, M.T.; ILHA, G.F.; GASPERIN, B.G.; JUNIOR, J.E.N.; SIDDAPPA, D.; GLANZNER, W.G.; ANTONIAZZI, A.Q.; BORDIGNON, V.; DUGGAVATHI, R.; GONÇALVES, P.B.D. Prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$ -induced luteolysis involves activation of Signal transducer and activator of transcription 3 and inhibition of AKT signaling in cattle. **Molecular Reproduction and Development**, v. 84, n. 6, p. 486-494, 2017.

SÁ FILHO, M.F.; GONELLA-DIAZA, A.M.; SPONCHIADO, M.; MENDANHA, M.F.; PUGLIESI, G.; RAMOS, R.S.; ANDRADE, S.C.S.; GASPARIN, G.; COUTINHO, L.L.; GOISSIS, M.D.; MESQUITA, F.S.; BARUSELLI, P.S.; BINELLI, M. Impact of hormonal modulation at proestrus on ovarian responses and uterine gene expression of suckled anestrous beef cows. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 8, n. 1, p. 79, 2017.

SÁ FILHO, M.F.; NASSER, L.F.; PENTEADO, L.; PRESTES, R.; MARQUES, M.O.; FREITAS, B.G.; MONTEIRO, B.M.; FERREIRA, R.M.; GIMENES, L.U.; BARUSELLI, P.S. Impact of progesterone and estradiol treatment before the onset of the breeding period on reproductive performance of Bos indicus beef heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 160, p. 30-39, 2015.

SAKUMOTO, R. Pregnancy-associated changes in uterine-luteal relationships in cows: A mini-review. **Reproductive Biology**, v. 16, n. 2, p. 182-188, 2016.

SALES, J.N.S.; SIMÕES, L.M.S.; ORLANDI, R.E.; LIMA, E.A.; SANTOS, A.P.C.; BOTTINO, M.P.; SILVA, L.A.C.L.; SOUZA, J.C.; DIAS, M.M.; MASSONETO, M.M.; JUNIOR, L.A.S.; FREITAS, B.G.; GUERREIRO, B.M.; BASTOS, M.R. Pre-TAI protocol strategies to increase reproductive efficiency in beef and dairy cows. **Animal Reproduction**, v. 16, n. 3, p. 402-410, 2019.

SALILEW-WONDIM, D.; SCHELLANDER, K.; HOELKER, M.; TESFAYE, D. Oviductal, endometrial and embryonic gene expression patterns as molecular clues for pregnancy establishment. **Animal Reproduction Science**, v. 134, n. 1-2, p. 9-18, 2012.

SANTOS, J.E.P.; THATCHER, W.W.; POOL, L.; OVERTON, M.W. Effect of human chorionic gonadotropin on luteal function and reproductive performance of high-producing lactating Holstein dairy cows. **Journal of Animal Science**, v. 79, n. 11, p. 2881-2894, 2001.

SANTOS, J.E.P.; THATCHER, W.W.; CHEBEL, R.C.; CERRI, R.L.; GALVÃO, K.N. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. **Animal Reproduction Science**, v. 82, p. 513-535, 2004.

SARTORI, R.& DONE, M. A. N. Mortalidade embrionária na IA, TE, FIV e clonagem. **Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**, v. 3, p. 175-194, 2008.

SAVIO, J.D.; KEENAN, L.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F. Pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle of heifers. **Reproduction**, v. 83, n. 2, p. 663-671, 1988.

SAWYER, H.R. Structural and functional properties of the corpus luteum of pregnancy. **Journal of Reproduction and Fertility Supplement**49, v. 97, p. 110, 1995.

SCHULER, G.; GREVEN, H.; KOWALEWSKI, M.P.; DÖRING, B.; OZALP, G.R.; HOFFMANN, B. Placental steroids in cattle: hormones, placental growth factors or by-products of trophoblast giant cell differentiation? **Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes**, v. 116, n. 7, p. 429-436, 2008.

SENEDA, Marcelo Marcondes et al. Oogênese e Foliculogênese em Bovinos. **Rev Bras Reprod Anim**, v. 45, n. 4, p. 323-328, 2021.

SENGER, P.L. Pathways to pregnancy and parturition. **Pullman: Current Conceptions**.2. ed, Redmond: Current Conceptions, 2003, 368p.

SHIRASUNA, K.; SASAHARA, K.; MATSUI, M.; SHIMIZU, T.; MIYAMOTO, A. Prostaglandin F2 $\alpha$  differentially affects mRNA expression relating to angiogenesis, vasoactivation and prostaglandins in the early and mid corpus luteum in the cow. **Journal of Reproduction and Development**, p. 1005140271-1005140271, 2010.

SHORTEN, P.R.; DONNISON, M.; MCDONALD, R.M.; MEIER, S.; LEDGARD, A.M.; BERG, D. A mathematical model of in vivo bovine blastocyst developmental to gestational Day 15. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 9, p. 8401-8416, 2018.

SILVA, R.P.; LEÃO, K.M.; RODRIGUES, M.C.; MARQUES, T.C.; SILVA, N.C.; VIU, M.A.O. Administration of GnRH on the day of fixed-time artificial insemination (FTAI) and melengestrol acetate (MGA) administration after FTAI in non-suckling Nelore cattle. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 5, p. 3149-3159, 2015.

SIMÕES, L.M.S.; ORLANDI, R.E.; MASSONETO, J.P.M.; SCANDIUZZI, L.A. JR.; FREITAS, B.G.; BASTOS, M.R.; SOUZA, J.C.; SALES, J.N.S. Exposure to progesterone previous to the protocol of ovulation synchronization increases the follicular diameter and the fertility of suckled Bos indicus cows. **Theriogenology**, v. 116, p. 28-33, 2018.

SKARZYNSKI, D.J.; FERREIRA-DIAS, G.; OKUDA, K. Regulation of luteal function and corpus luteum regression in cows: hormonal control, immune mechanisms and intercellular communication. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 43, p. 57-65, 2008.

SKIRROW, S.Z.; BONDURANT, R.H. Bovine trichomoniasis. **Veterinary Bulletin (United Kingdom)**, v.58, p591-603, 1988.

SOUSA, L.M.M.C.; MENDES, G.P.; CAMPOS, D.B.; BARUSELLI, P.S.; PAPA, P.C. Equine chorionic gonadotropin modulates the expression of genes related to the structure and function of the bovine corpus luteum. **PloS one**, v. 11, n. 10, p. e0164089, 2016.

SPENCER, T.E.; GRAY, C.A. "Sheep uterine gland knockout (UGKO) model." Placenta and Trophoblast. **Humana Press**, p.85-94, 2006.

SPENCER, T.E.; HANSEN, T.R. Implantation and establishment of pregnancy in ruminants. In **Regulation of Implantation and Establishment of Pregnancy in Mammals**, p. 105-135, 2015.

SPENCER, T.E.; BAZER, F.W. Uterine and placental factors regulating conceptus growth in domestic animals. **Journal of Animal Science**, v. 82, n. 13, p. E4-E13, 2004.

SPLITZ, I.M. Progesterone antagonists and progesterone receptor modulators: an overview. **Steroids**, v. 68, n. 10-13, p. 981-993, 2003.

STARBUCK, G.R.; DARWASH, A.O.; MANN, G.E.; LAMMING, G.E. The detection and treatment of post insemination progesterone insufficiency in dairy cows. **BSAP Occasional Publication**, v. 26, n. 2, p. 447-450, 2001.

STEVENSON, J.S.; MEE, M.O. Pregnancy rates of Holstein cows after postinsemination treatment with a progesterone-releasing intravaginal device. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 11, p. 3849-3856, 1991.

STEVENSON, J.S.; PORTALUPPI, M.A.; TENHOUSE, D.E.; LLOYD, A.; EBORN, D.R.; KACUBA, S.; DEJARNETTE, J.M. Interventions after artificial insemination: conception rates, pregnancy survival, and ovarian responses to gonadotropin-releasing hormone, human chorionic gonadotropin, and progesterone. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 1, p. 331-340, 2007.

STOCCO, D.M. StAR protein and the regulation of steroid hormone biosynthesis. **Annual Review Of Physiology**, v. 63, n. 1, p. 193-213, 2001.

STOCCO, D.M.; CLARK, B.J. Regulation of the acute production of steroids in steroidogenic cells. **Endocrine reviews**, v. 17, n. 3, p. 221-244, 1996.

STOESSEL, F. **Lasenfermedadesvenereas de los bovinos: Trichomoniasis y vibriosis genital**. ed, Zaragoza: Acribia, 1982, 163p.

STRAUSS J.F.; SCHULER, L.A.; ROSENBLUM, M.F.; TANAKA, T. Cholesterol metabolism by ovarian tissue. In **Advances in lipid research**, v.18, p. 99-157, 1981.

SUÁREZ-CALDERÓN, D.M.; DÍAZ-YAMAL, I. Antagonistas de receptores de progesterona (PRA) y moduladores selectivos de receptores de progesterona (SPRM): aplicaciones en



ginecología y obstetricia. **Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología**, v. 59, n. 1, p. 31-37, 2008.

SUGAWARA, T.; KIRIAKIDOU, M.; MCALLISTER, J.M.; KALLEN, C.B.; STRAUSS, J.F. Multiple Steroidogenic Factor 1 Binding Elements in the Human Steroidogenic Acute Regulatory Protein Gene 5 '-Flanking Region Are Required for Maximal Promoter Activity and Cyclic AMP Responsiveness. **Biochemistry**, v. 36, n. 23, p. 7249-7255, 1997.

SUN, L.; WANG, X. A new kind of cell suicide: mechanisms and functions of programmed necrosis. **Trends in Biochemical Sciences**, v.39, n. 12, p. 587-593, 2014.

SUNDERLAND, S.J.; CROWE, M.A.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F.; IRELAND, J.J. Selection, dominance and atresia of follicles during the oestrous cycle of heifers. **Reproduction**, v. 101, n. 3, p. 547-555, 1994.

TADROS, W.; LIPSHITZ, H.D. The maternal-to-zygotic transition: a play in two acts. **Development**, v. 136, n. 18, p. 3033-3042, 2009.

THOMPSON, S.A; BLASER, M.J. Pathogenesis of Campylobacter fetus infections, In: Nachamkin I. & Blaser M.J. (Eds), Campylobacter. **2nd ed. ASM, Washington**. p.321-347, 2000.

TOWNSON, D.H.; PATE, J.L. Mechanism of action of TNF- $\alpha$ -stimulated prostaglandin production in cultured bovine luteal cells. **Prostaglandins**, v. 52, n. 5, p. 361-373, 1996.

TREVISOL, E.; FERREIRA, J.C.P.; ACKERMANN, C.L.; DESTRO, F.C.; AMARAL, J.B. Luteólise em bovinos: revisão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 37, n. 1, p. 29-36, 2013.

TSAL, S.J.; WILTBANK, M.C. Prostaglandin F $_{2\alpha}$  regulates distinct physiological changes in early and mid-cycle bovine corpora lutea. **Biology of Reproduction**, v. 58, n. 2, p. 346-352, 1998.

VAN CLEEFF, J.; DROST, M.; THATCHER, W.W. Effects of postinsemination progesterone supplementation on fertility and subsequent estrous responses of dairy heifers. **Theriogenology**, v. 36, n. 5, p. 795-807, 1991.

VANROOSE, G.; DE KRUIF, A.; VAN SOOM, A. Embryonic mortality and embryo-pathogen interactions. **Animal Reproduction Science**, v. 60, p. 131-143, 2000.

VASCONCELOS, J.L.M.; SILCOX, R.W.; ROSA, G.J.M.; PURSLEY, J.R.; WILTBANK, M.C. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v. 52, n. 6, p. 1067-1078, 1999.

VICKARYOUS, N.; WHITELAW, E. The role of early embryonic environment on epigenotype and phenotype. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 17, n. 3, p. 335-340, 2005.

WAGNER, W.C.; DUNN, H.O.; VANVLECK, L.D. Incidence of vibriosis in an AI stud. **The Cornell Veterinarian**, v. 55, p. 209-220, 1965.

WALTON, J.S.; HALBERT, G.W.; ROBINSON, N.A.; LESLIE, K.E. Effects of progesterone and human chorionic gonadotrophin administration five days postinsemination on plasma and milk concentrations of progesterone and pregnancy rates of normal and repeat breeder dairy cows. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 54, n. 3, p. 305, 1990.

WEBB, R.; GARNSWORTHY, P.C.; GONG, J.G.; ARMSTRONG, D.G. Control of follicular growth: local interactions and nutritional influences. **Journal of Animal Science**, v. 82, n. suppl\_13, p. E63-E74, 2004.

WEN, D.X.; XU, Y.; MAIS, D.E.; GOLDMAN, M.E.; McDONNELL, D.P. The A and B isoforms of the human progesterone receptor operate through distinct signaling pathways within target cells. **Molecular and Cellular Biology**, v. 14, n. 12, p. 8356-8364, 1994.

WILTBANK, J.N.; HAWK, H.W.; KIDDER, K.; BLACK, W.G.; ULBERG, L.C.; CASIDA, L.E. Effect of progesterone therapy on embryo survival in cows of lowered fertility. **Journal of Dairy Science**, v. 39, n. 4, p. 456-461, 1956.

WILTBANK, M.; LOPEZ, H.; SARTORI, R.; SANGSRITAVONG, S.; GÜMEN, A. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. **Theriogenology**, v.65, n.1, p.17-29, 2006.

WILTBANK, M.C.; SOUZA, A.H.; GIORDANO, J.O.; NASCIMENTO, A.B.; VASCONCELOS, J.M.; PEREIRA, M.H.C.; FRICKE, P.M.; SURJUS, R.S.; ZINSLY, F.C.S.; CARVALHO, P.D.; BENDER, R.W.; SARTORI, R. Positive and negative effects of progesterone during timed AI protocols in lactating dairy cattle. **Animal Reproduction**, v.9, n. 3, p.231–241, 2012.

WILTBANK, M.C.; BAEZ, G.M.; GARCIA-GUERRA, A.; TOLEDO, M.Z.; MONTEIRO, P.L.J.; MELO, L.F.; OCHOA, J.C.; SANTOS, J.E.P.; SARTORI, R. Pivotal periods for pregnancy loss during the first trimester of gestation in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v. 86, n. 1, p. 239-253, 2016.

WOLF, A.; GABALDI, S.H. Acompanhamento ultrassonográfico da gestação em grandes animais. **Ciências Agrárias e da Saúde**, v. 2, n. 2, p. 77-83, 2002.

XU, L.; GLASS, CHRISTOPHER, K.; ROSENFELD, M.G. Coactivator and corepressor complexes in nuclear receptor function. **Current Opinion in Genetics &Development**, v. 9, n. 2, p. 140-147, 1999.

YAN, L.; ROBINSON, R.; SHI, Z.; MANN, G. Efficacy of progesterone supplementation during early pregnancy in cows: A meta-analysis. **Theriogenology**, v. 85, n. 8, p. 1390-1398, 2016.

ZHU, Y.; BOND, J.; THOMAS P. Identification, classification, and partial characterization of genes in humans and other vertebrates homologous to a fish membrane progestin receptor. **PNAS**, v.100, n. 5, p.2237-2242, 2003.

### **3. CAPÍTULO II**

#### **UTILIZAÇÃO DE PROGESTERONA INJETÁVEL SETE DIAS APÓS A IATF COMO ESTRATÉGIA PARA MELHORAR A EFICIÊNCIA REPRODUTIVA DE FÊMEAS NELORE**

##### **RESUMO**

O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da suplementação de progesterona injetável de longa ação (P4LA), sete dias após a inseminação artificial em tempo fixo (IATF), sobre a taxa de prenhez e a perda gestacional de fêmeas Nelore. Para tanto, vacas e novilhas foram submetidas à sincronização da ovulação. No primeiro dia do protocolo (D 0), foi inserido um dispositivo intravaginal de progestágeno (1g de P4) e aplicados 2mg de benzoato de estradiol (intramuscular/im). No D 8, o dispositivo de P4 foi removido e foram aplicados 500µg de cloprostenol sódico, 400UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG) e 1mg de cipionato de estradiol, todos pela via intramuscular. No D 10 foi realizado a IATF. No D17 as fêmeas foram então divididas em dois tratamentos de acordo com o escore de condição corporal (ECC), ciclicidade e presença de bezerro ao pé: Grupo P4LA: (GP4; n=208) no qual as fêmeas receberam 150mg de P4LA (Sincrogest® Injetável, Ourofino, Cravinhos/SP), via intramuscular, em dose única, no sétimo dia após a IATF; Grupo Controle: (GC; n= 195) no qual as fêmeas não receberam nenhuma aplicação hormonal após a IATF. O diagnóstico de gestação foi realizado 30 dias após a IATF com auxílio da ultrassonografia (Mindrey DP200, Frequência 7,5Mhz) sendo repetido aos 90 dias para determinação da perda gestacional. A análise estatística foi realizada pelo teste de  $X^2$ , a 5% de probabilidade. Não foi observada diferença significativa na taxa de prenhez ( $p=0,31$ ) e na perda gestacional ( $p=0,61$ ) entre os grupos suplementados ou não com P4 injetável após a IATF. Conclui-se que a utilização de P4LA, 7 dias após a IATF, não foi uma estratégia eficaz para melhorar a taxa de prenhez e diminuir a perda gestacional de fêmeas Nelore.

**Palavras- chave:** Gado de corte, taxa de prenhez, perda gestacional, ciclicidade, progestágeno.

## ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the effect of long-acting injectable progesterone supplementation (P4LA), 7 days after timed artificial insemination (TAI), on the pregnancy rate and gestational loss of Nellore females. Therefore, females (cows and heifers) were subjected to ovulation synchronization. On the first day of the protocol (D-10), an intravaginal progestin device (1g of P4) was inserted and 2mg of estradiol benzoate (intramuscular/im) was applied. On D-2, the P4 device was removed and 500µg of sodium cloprostenol, 400UI of equine chorionic gonadotropin (eCG) and 1mg of estradiol cypionate were applied, all intramuscularly. The females were then divided into two treatments according to body condition score (BCS), cyclicity and calf presence: P4LA Group: (GP4; n=208) in which females received 150mg of P4LA (Sincrogest® Injectable, Ourofino, Cravinhos/SP), intramuscularly, in a single dose, on the seventh day after TAI; Control Group: (CG; n= 195) in which females did not receive any hormonal application after TAI. Pregnancy diagnosis was performed 30 days after TAI with the aid of ultrasonography (Mindrey DP200, Frequency 7.5Mhz) and repeated at 90 days to determine gestational loss. Statistical analysis was performed using the  $X^2$ , at 5% probability. There was no significant difference in pregnancy rate ( $p=0.31$ ) and gestational loss ( $p=0.61$ ) between groups supplemented or not with injectable P4 after TAI. There was also no correlation between the application of P4LA on D7 with the animal category, cyclicity, ECC and the calf presence. It is concluded that the use of P4LA, 7 days after FTAI, was not an effective strategy to improve the pregnancy rate and decrease the gestational loss of Nellore females.

**Keywords:** Beef cattle, pregnancy rate, gestational loss, cyclicity, progestin.

### 3.1 INTRODUÇÃO

A inseminação artificial em tempo fixo (IATF) tem se destacado de maneira rápida sobre as demais biotécnicas aplicadas à reprodução bovina, sobretudo em gado de corte. Com o emprego da IATF, as vacas têm a ovulação induzida de maneira sincronizada e a inseminação artificial (IA) pode ser realizada com data e hora marcada, dispensando a observação de cio e otimizando a mão-de-obra na propriedade.

Pesquisas vêm sendo realizadas no intuito de melhorar a eficiência reprodutiva dos dos rebanhos (BARUSELLI et al. 2019; CONSENTINI et al. 2021; FERNANDEZ-NOVO et al., 2021). Dentre elas, a administração de progesterona (P4) após protocolos de IATF vem sendo empregada como uma estratégia para diminuir as perdas gestacionais, uma vez que a progesterona é o hormônio responsável pelo estabelecimento e manutenção da gestação (COUTO et al. 2019).

Em bovinos, um dos principais fatores causadores de infertilidade tem sido atribuído ao funcionamento inadequado do corpo lúteo (CL), sendo esta situação caracterizada por uma baixa concentração periférica de P4 (YAN et al. 2016). Uma deficiência na secreção desse hormônio esteroide pelo CL poderia contribuir para perdas embrionárias, sendo essa uma das justificativas em utilizar-se P4 após a IATF (COUTO et al. 2019).

Estudos já vêm sendo conduzidos há mais de 60 anos com a utilização de P4 na fase inicial da gestação em bovinos sendo encontrados resultados bem divergentes, variando entre resultados positivos, negativos e nulos (WILTBANK et al., 1956). Essa variação pode estar relacionada ao dia de início e duração da suplementação de P4, categoria animal, ciclicidade e escore de condição corporal - ECC (YAN et al., 2016).

Em bovinos, a P4 atua nas células do epitélio luminal uterino fazendo uma regulação negativa de seus próprios receptores. Desta forma, a P4 permite a regulação positiva de receptores de estrogênio (ER) que induzem a expressão de receptores de ocitocina (OXTR) e, portanto, estimulam a produção de  $\text{PGF}_2\alpha$  e consequentemente a ocorrência da luteólise (McCRACKEN et al., 1999). Com base nesta informação, Batista et al. (2019) constataram que a suplementação com P4 no início da fase luteal (até três dias após a ovulação) causa luteólise precoce nos bovinos, devido a aceleração da regulação negativa dos receptores de progesterona nas células do epitélio luminal do útero, levando a uma aceleração da expressão de genes endometriais associados à síntese de  $\text{PGF}_2\alpha$ , especificamente RE1 e OXTR. Os mesmos autores também chegaram à conclusão de que a P4 injetável inibiu o desenvolvimento precoce de CL e especularam que este fato pode estar relacionado à uma provável diminuição dos níveis de LH normalmente liberado nessa fase, que é essencial para o estímulo da esteroidogênese e formação de uma massa luteal desenvolvida. Demonstrando assim, que a P4 por si só, pode fazer uma inibição da sua função quando administrada precocemente. Por outro lado, a P4 é um fator estimulante da própria síntese de P4, uma vez que administrada entre os dias 6 e 10 do ciclo estral, a mesma estimula a atividade da  $3\beta$ -HSD no CL bovino e aumenta a expressão de mRNA da proteína StAR,  $3\beta$ -HSD e citocromo P450scc, que são enzimas-chave da esteroidogênese ovariana (KOTWICA et al., 2004; REKAWIECKI et al., 2005). Em um estudo de meta-análise realizado por Yan et al. (2016) com foco na suplementação de progesterona pós-inseminação em bovinos, os autores observaram que a estratégia de suplementação de P4 se mostrou eficiente quando esta foi realizada entre os dias 3 e 7 após a inseminação, e prejudicial quando os animais foram suplementados antes do dia 3 (por induzir a uma luteólise precoce) e indiferente quando realizada após 7 dias.

Sendo assim, a hipótese do presente estudo é que a suplementação com progesterona de longa ação, sete dias após a IATF, é uma estratégia eficaz para melhorar a eficiência dos

protocolos de IATF em matrizes Nelore, aumentando a taxa de prenhez e diminuindo as perdas gestacionais.

## 3.2 MATERIAL E MÉTODOS

O presente projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Uso de Animais (CEUA) do Instituto de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (nº 6993220319).

### 3.2.1 Local e período

O experimento foi realizado em fazenda comercial de gado de corte (Fazenda Reunidas Ingaíba), localizada no município de Mangaratiba-RJ e teve início em novembro de 2018, com término em janeiro de 2020.

### 3.2.2 Animais e manejo

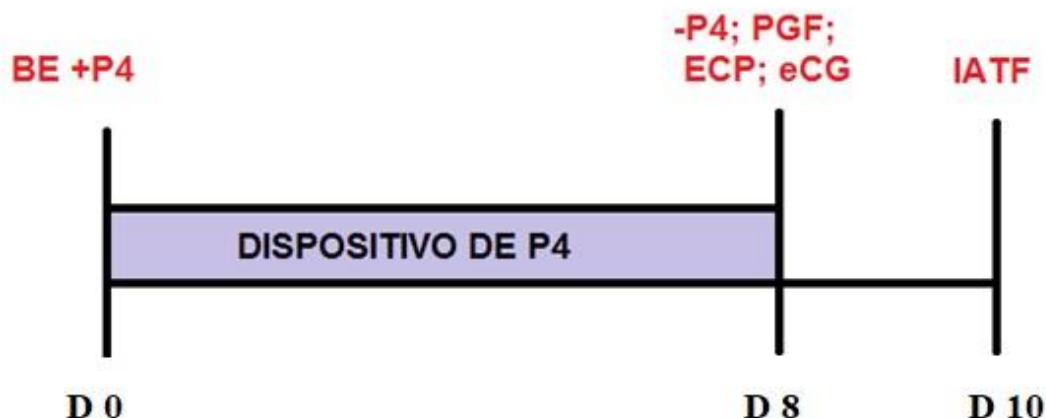
Foram utilizados 403 protocolos (unidades experimentais) em matrizes Nelore (nulíparas e multíparas) apresentando escore de condição corporal (ECC) variando de 2,5 a 4,5 em uma escala de 1-5. Dentre as nulíparas, só foram selecionadas aquelas que já estavam púberes (presença de CL) em avaliação prévia ao início da sincronização e as multíparas com mais de 45 dias de paridas com ou sem a presença de bezerro ao pé. No início do protocolo de sincronização da ovulação, todas as fêmeas foram avaliadas (ultrassonografia transretal, (Mindrey DP200, Frequência 7,5Mhz) quanto à ciclicidade. Foram consideradas cíclicas, as fêmeas que apresentavam pelo menos um CL em um dos ovários no início do protocolo e acíclicas (anestro) aquelas que apresentavam apenas folículos.

As fêmeas do rebanho aptas a reprodução foram submetidas ao mesmo manejo e ficaram em piquetes rotacionados de *Mombaça*, de acordo com a capacidade de cada um deles. Em todos os piquetes os animais tinham acesso a sal mineral e água *ad libitum*. As fêmeas eram vermifugadas e vacinadas periodicamente de acordo com o calendário da fazenda. Todo rebanho recebia vacina contra raiva, Carbúnculo e Brucelose (quando bezerras de 3-8 meses).

Em relação ao manejo reprodutivo, no momento do experimento, estava sendo implementada uma estação de monta na fazenda, constituída de IATF com repasse de touro. Como os animais estavam em diferentes fases reprodutivas, foi necessário dividir as fêmeas em lotes para a IATF, de acordo com o estado reprodutivo delas naquele momento.

### 3.2.3 Sincronização da ovulação e inseminação

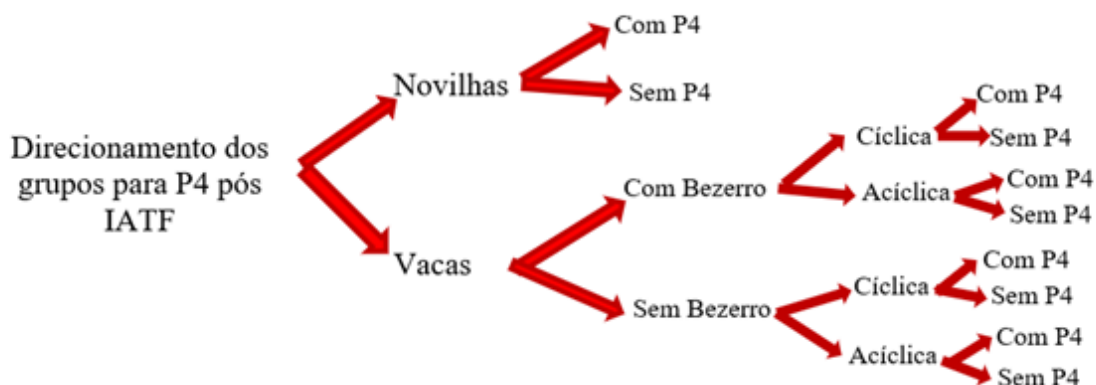
Todos os animais foram submetidos ao mesmo protocolo de sincronização da ovulação (Figura 7), para posterior realização da IATF. No primeiro dia do protocolo (D 0), foi inserido um dispositivo intravaginal de progesterona (1g de P4) e aplicados 2mg de benzoato de estradiol (intramuscular/im). No D 8, o dispositivo de P4 foi removido e foram aplicados 500µg de cloprostenol sódico, 400UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG) e 1mg de cipionato de estradiol, todos pela via intramuscular. A IATF foi realizada no D 10, sempre pelo mesmo técnico, sendo utilizados 3 touros Nelores, conforme a indicação de cruzamento pré-estabelecida pelo técnico responsável pela propriedade.



**Figura 7.** Protocolo de sincronização da ovulação utilizado nas matrizes. D 0: dia inicial do protocolo; D 8: oito dias após início do protocolo; D 10: Dia da IATF; BE: Benzoato de Estradiol; P4: Dispositivo intravaginal de progesterona 1,9g; PGF: Prostaglandina; ECP: Cipionato de estradiol; eCG: Gonadotrofina coriônica equina; IATF: Inseminação artificial em Tempo Fixo.

### 3.2.4 Delineamento experimental

Após a IATF, os animais foram divididos em dois tratamentos (Grupo P4LA e Grupo Controle) de acordo com a categoria animal, presença de bezerro ao pé e ciclicidade, de maneira que cada grupo apresentasse a mesma proporção de animais de cada variável, conforme ilustrado na Figura 8.



**Figura8.** Representação esquemática dos procedimentos experimentais utilizados para avaliar o efeito da suplementação de progesterona injetável de longa ação (P4LA), sete dias após a inseminação artificial em tempo fixo (IATF), sobre a taxa de prenhez e perda gestacional de fêmeas Nelore.

- **Grupo P4LA:** (GP4; n=208) as fêmeas receberam 150mg de progestágeno injetável de longa ação (Sincrogest® Injetável, Ourofino, Cravinhos/SP), via intramuscular, em dose única, no sétimo dia após a IATF.



- **Grupo Controle:** (GC; n=195) as fêmeas não receberam nenhuma aplicação no sétimo dia após a IATF.

### **3.2.5 Diagnóstico de gestação e avaliação da perda gestacional**

O diagnóstico de gestação foi realizado 30 dias após a IATF por ultrassonografia transretal (Mindrey DP200, Frequência 7,5Mhz). Só foram consideradas gestantes as fêmeas que apresentassem o embrião com batimento cardíaco na imagem ultrassonográfica. Para o diagnóstico de perda gestacional, foi realizada uma segunda avaliação ultrassonográfica transretal aos 90 dias pós-IATF. Foi considerada como perda gestacional, a situação na qual uma fêmea em que havia sido observado um embrião viável (batimento cardíaco) no primeiro diagnóstico (30d), não apresentava feto na segunda avaliação (90 dias).

### **3.2.6 Perfil sanitário**

Em uma amostra da população (10% do rebanho, escolhidos aleatoriamente), foram realizados exames para diagnóstico das seguintes doenças relacionadas à reprodução: brucelose, rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), diarreia viral bovina (BVD), leptospirose, neosporose, campilobacteriose e tricomonose genital bovina.

### **3.2.7 Análise estatística**

As variáveis categóricas (Novilhas, Vacas, ECC, Ciclicidade, Bezerro ao pé, Aplicação de P4LA) foram comparadas quanto a taxa de prenhez e perda gestacional através do Teste de  $\chi^2$  a 5% de probabilidade. Todas as análises estatísticas foram realizadas no software R (TEAM, 2021).

### 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta as taxas de prenhez e as perdas gestacionais de acordo com a categoria animal (novilhas ou vacas), ECC ( $\geq 3$  ou  $<3$ ), presença de bezerro ao pé, ciclicidade no início do protocolo e suplementação de P4LA, sete dias após a IATF de fêmeas Nelore. Não foi observada diferença estatística entre as taxas de prenhez e as perdas gestacionais para nenhuma das variáveis avaliadas.

**Tabela 1.** Taxa de prenhez e perdas gestacionais de acordo com a categoria animal, escore de condição corporal (ECC), presença de bezerro ao pé, ciclicidade e administração de progesterona 7 dias após a IATF em fêmeas Nelore.

Variáveis	Taxa de prenhez (%)	Valor de P	Perda gestacional (%)	Valor de P
Novilhas	47,1 (75/159)	0,85	9,3(7/75)	0,42
Vacas	45,1 (110/244)		14,5(16/110)	
ECC $\geq 3$	47,6 (151/317)	0,15	12,6(19/151)	1
ECC $< 3$	38,4(33/86)		12,1 (4/33)	
Com bezerro ao pé	43,2 (67/155)	0,50	11,9(8/67)	1
Sem bezerro ao pé	47,2(117/248)		12,8 (15/117)	
Fêmeas cíclicas*	43,6(61/140)	0,61	9,8(6/61)	0,59
Fêmeas em anestro**	46,8(123/263)		13,8 (17/123)	
P4D7***	48,3 (100/207)	0,31	14,0 (14/100)	0,65
Controle†	42,8 (84/196)		12,0 (9/75)	

\*Presença de pelo menos um corpo lúteo (CL) no início do protocolo de sincronização.

\*\* Ausência de CL no início do protocolo de sincronização.

\*\*\* Animais suplementados com 150mg de progesterona injetável, sete dias após a IATF.

† Animais não receberam qualquer suplementação hormonal após a IATF.

Estatística realizada pelo teste de Qui-Quadrado com 5% de significância.

A semelhança entre as taxas de prenhez das duas categorias avaliadas (vacas e novilhas) pode ser explicada pela homogeneidade entre os lotes, pelo ECC satisfatório das vacas, além de grande parte das novilhas estarem ciclando ao início do protocolo de IATF. Resultados semelhantes foram encontrados por Meneghetti et al. (2009), com taxa de prenhez para novilhas Nelore de 63,3% e vacas de 62,00%, não mostrando diferença estatística entre os resultados. Sá Filho et al. (2010) também não observou diferença na fertilidade de fêmeas Nelore primíparas e multíparas após programas de sincronização de estro durante a estação reprodutiva. Porém alguns trabalhos encontraram resultados divergentes, como os de Batista et al. (2012) onde maiores taxas de prenhez foram observadas em nulíparas (84%) quando comparadas às primíparas (43%) e multíparas (47%).

Os resultados da presente pesquisa não diferem de outros estudos, onde não foram observadas maiores perdas gestacionais para animais em lactação, ou seja, que tem a presença do bezerro, quando comparado com vacas secas e novilhas (LABAERNIA et al. 1996; SARTORI et al. 2002). Sabe-se que perda gestacional varia consideravelmente de região para região e com o tipo e idade do animal (leite ou corte; lactante ou seco; novilha ou vaca) e, até certo ponto, entre sistemas de criação (intensivo e extensivo). A proporção de fêmeas prenhes não lactantes que abortam é geralmente menor do que vacas em lactação (BONDURANT 2007). Assim, como mostrado por Fernandes-Novo et al. (2020), ressaltam que mesmo que as taxas de sobrevivência embrionária sejam consideradas semelhantes em novilhas e vacas leiteiras de produção baixa a moderada, esta influência pode estar mais relacionada a um efeito quanto à paridade. Esses mesmos autores ainda destacam que fatores anteriormente

demonstrados como significativos, como estação do ano, touro, técnico de IA, tipo de sêmen, protocolo hormonal para IATF, podem não estar associados à perda gestacional.

No presente estudo também não foram encontradas diferenças estatísticas tanto na taxa de prenhez quando na perda gestacional em relação a variação de ECC, presença ou ausência de bezerro ao pé, ciclicidade e a administração ou não de P4 7 dias após a IATF, conforme mostrado nas tabelas 2 e 3.

**Tabela 2.** Taxa de prenhez das fêmeas Nelore suplementadas ou não com P4 sete dias após a IATF de acordo com a categoria animal, escore de condição corporal (ECC), presença de bezerro ao pé, ciclicidade.

Variáveis	Taxa de prenhez com P4 (%)	Taxa de prenhez sem P4 (%)	Valor de P
Novilhas	46,0 (38/82)	48,0 (37/77)	0,83
Vacas	50,0 (63/126)	38,9 (46/118)	0,08
ECC $\geq$ 3	50,0 (83/165)	44,7 (68/152)	0,32
ECC < 3	41,8 (18/43)	12,1 (4/33)	0,50
Com bezerro ao pé	43,7 (36/77)	38,0 (30/78)	0,29
Sem bezerro ao pé	49,6 (65/131)	45,2 (53/117)	0,49
Fêmeas cíclicas*	44,4 (36/81)	40,6 (24/59)	0,19
Fêmeas anestro**	51,1 (65/127)	43,7 (59/135)	0,25

\*Presença de pelo menos um corpo lúteo (CL) no início do protocolo de sincronização.

\*\* Ausência de CL no início do protocolo de sincronização.

Estatística realizada pelo teste de Qui-Quadrado com 5% de significância.

Os resultados do presente estudo demonstram que não houve diferença nas taxas de prenhez (DG30) com ou sem a suplementação de progesterona (7 após a IATF), como demonstrado na tabela 2, em relação as variáveis analisadas. Ou seja, a utilização de P4LA 7 dias após a IATF, não foi eficiente para aumentar as taxas de prenhez em nenhuma das variáveis. Estes resultados corroboram com os de Van Cleef et al. (1991) onde os autores avaliaram a suplementação de P4, 7 dias após a IA, utilizando dispositivos de P4 (CIDR, 1,9g) em novilhas leiteiras. O dispositivo foi retirado seis dias após a inserção (ou 13 dias após a IA). Esses autores não observaram diferença na taxa de prenhez desses animais, concluindo que a suplementação de P4 neste momento não foi eficaz para melhora da taxa de prenhez em novilhas. Estes achados também estão de acordo com os de Colazo et al. (2013), nos quais a suplementação de P4 (dispositivo de liberação lenta contendo 1,55g de P4), em vacas leiteiras, entre o 4º e o 11º dias após IATF, não melhorou as taxas de prenhez entre o grupo tratado e o controle. Os resultados da suplementação de P4 pós IATF ainda são bem variáveis e necessitam de mais estudos (YAN et al., 2016).

Por outro lado, Pugliesi et al. (2016) mostraram uma correlação positiva entre a suplementação de P4 e a taxa de prenhez, quando avaliaram a suplementação de P4 injetável de longa ação em bovinos de corte, 4 dias após a IATF, e observaram um aumento de 20% na taxa de prenhez. De maneira semelhante, Couto et al. (2019) também observaram um efeito benéfico da administração de P4 cinco dias após a IATF em bovinos de corte, obtendo aumento nas taxas de prenhez e menor perda gestacional no grupo tratado. Segundo Mann e Lammingm (1999), concentrações ideais de progesterona após a ovulação podem trazer benefícios como o aumento da receptividade uterina, melhora do desenvolvimento do conceito, aumento da produção de interferon-tau e, conseqüentemente, aumento da chance do sucesso de uma gestação em bovinos. Existe uma divergência sobre o melhor momento para a suplementação de P4, como acima citado, alguns estudos observaram uma correlação positiva (PUGLIESI et

al. 2016; COUTO et al. 2019), outros não observaram diferença e alguns com resultados negativos (COLAZO et al. 2013; YAN et al., 2016).

A suplementação precoce de progesterona leva a ocorrência de luteólise precoce em bovinos, como demonstrado por Batista et al. (2019), ao utilizarem a P4 três dias após a IATF. Esse fato é explicado devido a aceleração da regulação negativa dos receptores de progesterona nas células do epitélio luminal do útero, levando a uma aceleração da expressão de genes endometriais associados à síntese de PGF2 $\alpha$ , especificamente RE1 e OXTR (BATISTA et al. 2019). Resultados similares foram apresentados por Martins et al. (2019), ao suplementarem vacas Nelore três dias após a inseminação com P4LA, observaram que a P4 reduziu a longevidade do CL, dificultando o estabelecimento e a manutenção da gestação, uma vez que, a sinalização do conceito não pode superar o estímulo luteolítico precoce.

Nesse sentido, para diminuir as chances de luteólise precoce, no presente estudo utilizou-se a suplementação no 7º dia após a IATF, uma vez que a luteólise precoce tem maior chance de ocorrer quando a suplementação é realizada até 3º dia do diestro (BATISTA et al. 2019). Além disso, um fator estimulante da síntese de P4 é a própria progesterona, quando suplementada entre os dias 6 e 10 do ciclo estral, a mesma estimula a atividade da 3 $\beta$ -HSD no CL bovino e aumenta a expressão de mRNA da proteína StAR, 3 $\beta$ -HSD e citocromo P450scc, que são enzimas-chave da esteroidogênese ovariana (KOTWICA et al., 2004; REKAWIECKI et al., 2005). No entanto, a suplementação com P4 pode não ter sido precoce o suficiente para modular o endométrio a tempo de gerar uma resposta no alongamento embrionário adequado para melhorar as taxas de prenhez. Como demonstrado na meta análise realizada por YAN et al. (2016), resultados positivos referentes a suplementação foram encontrados até o 7º dia do diestro, podendo ser esse o tempo limite para suplementação, podendo também estar relacionado com a categoria, aptidão e condição reprodutiva dos animais suplementados.

**Tabela 3.** Taxa de perda gestacional das fêmeas Nelore suplementadas ou não com P4 sete dias após a IATF de acordo com a categoria animal, escore de condição corporal (ECC), presença de bezerro ao pé, ciclicidade.

Variáveis	Perda gestacional com P4 (%)	Perda gestacional sem P4 (%)	Valor de P
Novilhas	10,5 (4/38)	8,1 (3/37)	0,71
Vacas	15,8 (10/63)	13,0 (6/46)	0,68
ECC $\geq$ 3	13,2 (11/83)	11,7 (8/68)	0,78
ECC < 3	16,6 (3/18)	6,6 (1/15)	0,38
Com bezerro ao pé	16,6 (6/36)	6,6 (2/30)	0,19
Sem bezerro ao pé	12,3 (8/65)	13,2 (7/53)	0,88
Fêmeas cíclicas*	13,8 (5/36)	4,1 (1/24)	0,21
Fêmeas anestro**	13,8 (9/65)	13,5 (8/59)	0,96

\*Presença de pelo menos um corpo lúteo (CL) no início do protocolo de sincronização.

\*\* Ausência de CL no início do protocolo de sincronização.

Estatística realizada pelo teste de Qui-Quadrado com 5% de significância.

Os resultados acima expressos, não encontram diferença entre os grupos suplementado ou não com P4 7 dias após a IATF em relação a perda gestacional avaliada entre 30 e 90 dias após a IATF.

Martins et al. (2019), ao suplementarem vacas Nelore com 150mg de P4 injetável no D4, observaram um aumento nas concentrações de P4 no D5, porém este não se estendeu ao D7. Adicionalmente, estes autores reportaram o dobro da frequência da morte embrionária precoce e não ter havido diferença em relação a morte embrionária tardia (30d) entre o grupo

suplementado e o controle. Esses autores argumentam que a mortalidade embrionária está relacionada à baixa receptividade uterina que não pode ser revertida pela suplementação de P4 ou superada pelo estímulo exacerbado do embrião. Sendo assim, a suplementação no 7º dia, provavelmente não se estendeu além do 9º dia após a IATF, não sendo capaz de diminuir as perdas gestacionais.

### **3.4 CONCLUSÕES**

A utilização de P4LA, 7 dias após a IATF, não foi uma estratégia eficaz para melhorar a taxa de prenhez e diminuir a perda gestacional em fêmeas Nelore.

### 3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AITKEN, R.J.; GORDON, E.; HARKISS, D.; TWIGG, J.P.; MILNE, P.; JENNINGS, Z.; IRVINE, D.S. Relative Impact of Oxidative Stress on the Functional Competence and Genomic Integrity of Human Spermatozoa. **Biology of Reproduction**, v. 59, n. 5, p. 1037-1046, 1998.
- AITKEN, R.J.; ZAMIRA, G.; BAKER, M.A.; DREVET, J.; GHARAGOZLOO, P. Causes and consequences of oxidative stress in Spermatozoa. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 28, n. 2, p. 1-10, 2016.
- BARUSELLI, P.S.; BÓ, G.A.; REIS, E.L.; MARQUES, M.O. Inseminação artificial em tempo fixo em bovinos de corte. In: **Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**, 1, 2004, Londrina, PR. Anais. Londrina, PR, v. 1, p. 155-165, 2004.
- BARUSELLI, P. S., CATUSSI, B. L. C., ABREU, L. D., ELLIFF, F. M., SILVA, L. G. D., BATISTA, E. S., & CREPALDI, G. A. Evolução e perspectivas da inseminação artificial em bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 43, n. 2, p. 308-314, 2019.
- BATISTA, D.S.N.; ABREU, U.G.P.; FILHO, P.B.F.; ROSA, A.N Reproductive rates of Nelore herd at Nhumirim farm, Nhecolândia Pantanal. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 34, p. 71-76, 2012.
- BATISTA, E.O.S.; CARDOSO B.O.; OLIVEIRA, M.L.; CUADROS, F.D.C.; MELLO, B.P.; SPONCHIADO, M.; MONTEIRO, B.M.; PUGLIESI, G.; BINELLI, M. Supplemental progesterone induces temporal changes in luteal development and endometrial transcription in beef cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 68, p. 126-134, 2019.
- BRAUNER, C.C.; PIMENTEL, M.A.; LEMES, J.S.; PIMENTEL, C.A.; MORAES, J.C.F. Reprodução de vacas de corte em lactação e solteiras submetidas à indução/sincronização de estro. **Ciência Rural**, v.38, n.4, p.1067-1072, 2008.
- CARDOSO CONSENTINI, C.E.; WILTBANK, M.C.; SARTORI, R. Factors That Optimize Reproductive Efficiency in Dairy Herds with an Emphasis on Timed Artificial Insemination Programs. **Animals**, v. 11, n. 2, p. 301, 2021.
- COLAZO, M.G.; DOUREY, A.; RAJAMAHENDRAN, R.; AMBROSE, D.J. 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**. v.79, n. 5, p. 833-841, 2013.
- COSTA, M.G.; ARAÚJO, A.N.C.; NONATO, M.S.; D.C.R.X.M.X.; MURTA, D.V.F.; RUFINO, C.A.; SANTOS, J.M.L.; CALDAS, L.A.F. Influência do Escore de Condição Corporal sobre a taxa de prenhez de vacas Nelore submetidas ao programa de IATF no norte de Minas Gerais. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 11, p. 24724-24728, 2019.
- COUTO, S.R.B.; GUERSON, Y.B.; FERREIRA, J.E.; SILVA, O.R.; SILENCIATO, L.N.; BARBERO, R.P.; MELLO, M.R.B. Impact of supplementation with long-acting progesterone on gestational loss in Nelore females submitted to TAI. **Theriogenology**, v. 125, p. 168-172, 2019.

DAVOODI, S.; COOKE, R.F.; FERNANDES, A.C.D.C.; CAPPELLOZZA, B.I.; VASCONCELOS, J.L.M.; CERRI, R.L.A. Expression of estrus modifies the gene expression profile in reproductive tissues on day 19 of gestation in beef cows. **Theriogenology**, v. 85, n. 4, p. 645-655, 2016.

FERNANDEZ-NOVO, A.; SANTOS-LOPEZ, S.; PESANTEZ-PACHECO, J.L.; PÉREZ-VILLALOBOS, N.; HERAS-MOLINA, A.; GONZALEZ-MARTIN, J.V.; ASTIZ, S. Effects on Synchronization and Reproductive Efficiency of Delaying the Removal of the Intravaginal Progesterone Device by 24 h in the 5d Co-synch Protocol in Heifers. **Animals**, v. 11, n. 3, p. 849, 2021.

FERREIRA, M.C.N.; MIRANDA, R.; FIGUEIREDO, M.A.; COSTA, O.M.; PALHANO, H.C. Impacto da condição corporal sobre a taxa de prenhez de vacas da raça nelore sob regime de pasto em programa de inseminação artificial em tempo fixo (IATF). **Semina: Ciências Agrárias**, v.34, n. 4, p. 1861-1868, 2013.

GOVINDARAJU, A.; UZUN, A.; ROBERTSON, L.; ATLI, M.O.; KAYA, A.; TOPPER, E.; CRATE, E.A.; PADBURY, J.; PERKINS, A.; MEMILI, E. Dynamics of microRNAs in bull spermatozoa. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 10, n. 1, p. 1–10, 2012.

GRECELLÉ, R.A.; BARCELLOS, J.O.J.; NETO, J.B.; COSTA, E.C.; PRATES, E.R. Taxa de prenhez de vacas Nelore x Hereford em ambiente subtropical sob restrição alimentar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, p. 1423-1430, 2006.

KANNAN; J. Oxidative stress and apoptosis. **Pathophysiology: the official journal of the International Society for Pathophysiology**, v.7, p.153–163, 2000.

KOTWICA, J.; REKAWIECKI, R.; DURAS, M. Stimulatory influence of progesterone on its own synthesis in bovine corpus luteum. **Bulletin-Veterinary Institute in Pulawy**, v. 48, n. 2, p. 139-146, 2004.

LEWIS, S. E.M.; AITKEN, R.J. DNA damage to spermatozoa has impacts on fertilization and pregnancy. **Cell and Tissue Research**, v. 322, n. 1, p.33-41, 2005.

LIRA, S.A.; CHAVES NETO, A. Coeficientes de correlação para variáveis ordinais e dicotômicas derivados do coeficiente linear de Pearson. **Ciência & Engenharia**, v. 15, n. 1/2, p. 45-53, 2006.

MANN, G.E; LAMMING, G.E. The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 34, n. 3-4, p. 269-274, 1999.

MARTINS, T.; PUGLIESI, G.; SPONCHIADO, M.; CARDOSO, B.O.; DA SILVA, K.R.; CELEGHINI, E.C.C.; BINELLI, M. Supplementation with long-acting progesterone in early diestrus in beef cattle: II. Relationships between follicle growth dynamics and luteolysis. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 68, p. 1-10, 2019.

MARTINS, T.; PUGLIESI, G.; SPONCHIADO, M.; CARDOSO, B.O.; SILVA, K.R.; CELEGHINI, E.C.; BINELLI, M. Supplementation with long-acting progesterone in early



diestrus in beef cattle: I. effect of artificial insemination on onset of luteolysis. **Domestic Animal Endocrinology**, v.67, p. 63-70, 2019.

MCCRACKEN, J.A.; CUSTER, E.E.; LAMSA, J.C. Luteolysis: a neuroendocrine-mediated event. **Physiological Reviews**, v. 79, n. 2, p. 263-323, 1999.

MCNAMARA, J.P. Body condition: Effects on Health, Milk Production, and Reproduction. **Encyclopedia of Dairy Science**. 2ª Edição. J. W. London, UK: Elsevier Lta, 2011.

MENEGHETTI, M.; SA FILHO, O.G.; PERES, R.F.G.; LAMB, G.C.; VASCONCELOS, J.L.M. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: basis for development of protocols. **Theriogenology** v.72, n. 2, p. 179–189, 2009.

PFEIFER, L.F.M., CASTRO, N. A.; NEVES, P. M. A.; CESTARO, J. P.; SIQUEIRA, L. G. B. Development and validation of an objective method for the assessment of body condition scores and selection of beef cows for timed artificial insemination. **Livestock Science**, v. 197, p. 82-87, 2017.

PFEIFER, L.F.M.; VARELA, A.S.; JÚNIOR, J.A.S.F.; SCHNEIDER, A.; CORRÊA, M.N.; DIONELLO, N.J.L. Efeito da condição corporal avaliada no diagnóstico de gestação sobre o momento da concepção e taxa de prenhez em vacas de corte. **Acta Scientiae Veterinariae**. v. 35, n. 3, p. 303- 307, 2007.

PUGLIESI, G.; SANTOS, F.B.; LOPES, E.; NOGUEIRA, É.; MAIO, J.R.G.; BINELLI, M. Improved fertility in suckled beef cows ovulating large follicles or supplemented with long-acting progesterone after timed-AI. **Theriogenology**, v. 85, n. 7, p. 1239-1248, 2016.

RANDEL, R.D. Nutrition and postpartum rebreeding in cattle. **Journal of Animal Science**, v. 68, n. 3, p. 853-862, 1990.

REKAWIECKI, R.; NOWIK, M.; KOTWICA, J. Stimulatory effect of LH, PGE2 and progesterone on StAR protein, cytochrome P450 cholesterol side chain cleavage and 3 $\beta$  hydroxysteroid dehydrogenase gene expression in bovine luteal cells. **Prostaglandins & Other Lipid Mediators**, v. 78, n. 1-4, p. 169-184, 2005.

SÁ FILHO, M.F.; CRESPILO, A.M.; SANTOS, J.E.P.; PERRY, J.A.; BARUSELLI, P.S. Ovarian follicle diameter at timed insemination and estrous response influence like lihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone or progestin-based protocols in suckled *Bos indicus* cows. **Animal Reproduction Science**. v. 120, n. 1-4, p. 23-30, 2010.

SONOHATA, M.M.; OLIVEIRA, C.A.L.; CANUTO, N.G.D.; ABREU, U.G.P.A.; FERNANDES, D.D. Escore de condição corporal e desempenho reprodutivo de vacas no Pantanal do Mato Grosso do Sul/ Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**., v. 10, n. 4, p. 988-998, 2009.

TEAM, R. C. A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. **Available online: [www. r-project. org](http://www.r-project.org) (accessed on 14 Febuary 2019)**, 2014.

TORRES, H.A.L.; TINEO, J.S.A.; RAIDAN, F.S.S. Influência do escore de condição corporal na probabilidade de prenhez em bovinos de corte. **Archivos de Zootecnia**, v. 64, n. 247, p. 255-259, 2015.

URREGO, R.; RODRIGUEZ-OSORIO, N.; NIEMANN, H. Epigenetic disorders and altered gene expression after use of assisted reproductive technologies in domestic cattle. **Epigenetics**, v. 9, n. 6, p. 803–815, 2014.

VAN DER HORST, P.H.; WANG, Y.; VAN DER ZEE, M.; BURGER, C.W.; BLOK, L.J. Interaction between sex hormones and WNT/ $\beta$ -catenin signal transduction in endometrial physiology and disease. **Molecular and cellular endocrinology**, v. 358, n. 2, p. 176-184, 2012.

WALTNER, S.S.; McNAMARA, J.P.; HILLERS, J.K. Relationships of body condition score to production variables in high producing holstein dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 11, p. 3410-3419, 1993.

VAN CLEEFF, J.; DROST, M.; THATCHER, W.W. Effects of postinsemination progesterone supplementation on fertility and subsequent estrous responses of dairy heifers. **Theriogenology**, v. 36, n. 5, p. 795-807, 1991.

WARD, F.; RIZOS, D.; CORRIDAN, D.; QUINN, K.; BOLAND, M.; LONERGAN, P. Paternal influence on the time of first embryonic cleavage post insemination and the implications for subsequent bovine embryo development in vitro and fertility in vivo. **Molecular Reproduction and Development**, v. 60, n. 1, p. 47-55, 2001.

WILLIAMS, G.L. Suckling as a regulator of postpartum rebreeding in cattle: a review. **Journal of Animal Science**, v.68, n.3, p.831-852, 1990.

WILTBANK, J.N.; HAWK, H.W.; KIDDER, K.; BLACK, W.G.; ULBERG, L.C.; CASIDA, L.E. Effect of progesterone therapy on embryo survival in cows of lowered fertility. **Journal of Dairy Science**, v. 39, n. 4, p. 456-461, 1956.

WILTBANK, M.; LOPEZ, H.; SARTORI, R.; SANGSRITAVONG, S.; GÜMEN, A. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. **Theriogenology**, v. 65, n. 1, p. 17-29, 2006.

YAN, L.; ROBINSON, R.; SHI, Z.; MANN, G. Efficacy of progesterone supplementation during early pregnancy in cows: A meta-analysis. **Theriogenology**, v. 85, n. 8, p. 1390-1398, 2016.

## 4 CAPÍTULO III

### **EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM PROGESTERONA INJETÁVEL, SETE DIAS APÓS A IATF, SOBRE O DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO E FETAL DE FÊMEAS NELORE.**

#### **RESUMO**

O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da suplementação de progesterona (P4) injetável, 7 dias após a inseminação artificial em tempo fixo (IATF), em matrizes Nelores sobre o desenvolvimento embrionário, fetal e pós-natal. Para tanto, 119 fêmeas Nelores que ficaram gestantes após protocolo de IATF foram divididas em dois tratamentos, de acordo com o escore de condição corporal, ciclicidade e presença de bezerro ao pé: Grupo P4 (GP4 = 60) no qual as fêmeas receberam 150mg de P4 injetável de longa ação (Sincrogest® Injetável, Ourofino, Cravinhos/SP), via intramuscular, em dose única, no sétimo dia após a IATF; Grupo Controle (GC = 59) no qual as fêmeas não receberam nenhuma suplementação após a IATF. Amostras de sangue foram coletadas nos dias 17 e 30 após a IATF, para determinação da concentração de P4. A mensuração embrionária foi realizada aos 30 dias de gestação com o auxílio da ultrassonografia, pela mensuração do comprimento crânio-caudal (CRL - crown-to-rump length). Para mensuração fetal, foi utilizado o diâmetro torácico (DTO) avaliado com auxílio da ultrassonografia aos 45 dias de gestação, tomando-se a medida da distância máxima entre as extremidades laterais da caixa torácica. O desenvolvimento pós-natal foi avaliado pelo peso registrado ao nascimento. Os dados foram submetidos à análise de correlação linear de Pearson, regressão logística binária e ajuste de modelo para análise de variância através do teste de Wald. A estatística de teste para a significância dos coeficientes foi realizada pelo teste z. As variáveis quantitativas foram comparadas pelo teste t de Student, a 5% de probabilidade. Não foi observada diferença na dosagem de P4 entre o grupo suplementado ou não com P4 injetável 17 ou 30 dias após a IATF ( $P=0,73$  e  $0,62$ , respectivamente). Não foi observada significância na correlação entre a aplicação de P4LA no D7 e a concentração de P4 nos dias 17 e 30 assim como com o tamanho do embrião (CRL). Não houve diferença significativa entre o desenvolvimento embrionário, fetal e pós-natal dos grupos suplementados ou não com P4LA pós-IATF ( $P=0,71$ ;  $0,09$ ;  $0,64$ , respectivamente). Conclui-se que a suplementação com progesterona injetável 7 dias após a IATF não interferiu no desenvolvimento embrionário, fetal e pós-natal de matrizes Nelores.

**Palavras-Chave:** Progestágeno, Gado de corte, Mensuração embrionária, Desenvolvimento fetal, Ultrassonografia.

## ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the effect of injectable progesterone (P4) supplementation, 7 days after timed artificial insemination (TAI), in Nellore cows on embryonic, fetal and postnatal development. Therefore, 119 Nellore females that became pregnant after the TAI protocol were divided into two treatments according to the score of body condition, cyclicity and calf presence: Group P4: (GP4 = 60) in which the females received 150mg of Long-acting injectable P4 (Sincrogest® Injectable, Ourofino, Cravinhos/SP), intramuscularly, in a single dose, on the seventh day after TAI; Control Group: (CG = 59) in which females did not receive any supplementation after TAI. Blood samples were collected on days 17 and 30 after TAI to determine the P4 concentration. Embryonic measurement was performed at 30 days of gestation with the aid of ultrasonography, by measuring the craniocaudal length (CRL - crown-to-rump length). For fetal measurement, the thoracic diameter (TOD) was used, evaluated with the aid of ultrasonography at 45 days of gestation, taking the measure of the maximum distance between the lateral ends of the rib cage. Postnatal development was assessed by the weight recorded at birth. Data were submitted to Pearson linear correlation analysis, binary logistic regression and model adjustment for analysis of variance using the Wald test. The test statistic for the significance of the coefficients was performed by the z test. Quantitative variables were compared using Student's t test at 5% probability. There was no difference in P4 dosage between the group supplemented or not with injectable P4, 17 or 30 days after TAI ( $P=0.73$  and  $0.62$ , respectively). There was no significant correlation between P4LA application on D7 and P4 concentration on days 17 and 30, as well as with embryo size (CRL). There was no significant difference between embryonic, fetal and postnatal development of groups supplemented or not with P4LA post-TAI ( $P=0.71$ ;  $0.09$ ;  $0.64$ , respectively). It is concluded that supplementation with injectable progesterone 7 days after TAI did not interfere in the embryonic, fetal and postnatal development of Nellore cows.

**Keywords:** Progestin, beef cattle, embryo measurement, fetal development, ultrasound.

## 4.1 INTRODUÇÃO

A busca por melhores índices produtivos dos rebanhos vem se intensificando cada vez mais, uma vez que a eficiência do sistema está diretamente ligada à sua lucratividade. Para isso é necessária alta eficiência reprodutiva dos animais. Em busca dessa melhora, a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) vem sendo cada vez mais disseminada, principalmente entre os rebanhos de corte e junto busca-se o aprimoramento contínuo desta ferramenta. No Brasil teve um aumento da utilização dessa biotécnica em 4,1% no ano de 2021, totalizando 16.576.549 matrizes de corte inseminadas nesse ano (ASBIA 2021).

Tratamentos hormonais realizados após a IATF estão sendo cada vez mais utilizados, no intuito de obter melhores taxas de gestação e diminuir as perdas gestacionais, porém muitos estudos ainda se fazem necessários para avaliar a eficiência desses protocolos e suas consequências. A utilização de progesterona após a IATF vem se intensificando, atendendo essas premissas (COUTO et al., 2019). No entanto, os resultados ainda são bem variados, sendo encontrados resultados nulos, positivos e até mesmo negativos, correlacionados principalmente com o momento da suplementação de P4 (YAN et al., 2016).

O endométrio uterino é o responsável pela secreção e transporte de substâncias denominadas histiotrofo, que auxiliam o processo de alongamento do conceito por meio de efeitos na proliferação e migração do trofotoderma, fixação e adesão ao epitélio luminal do endométrio uterino (SPENCER et al. 2007; BAZER et al. 2011). É bem descrito como a progesterona tem ação em modificar o transcriptoma endometrial e os efeitos resultantes sobre a capacidade do útero de estimular o processo de alongamento (SPENCER et al., 2016; LONERGAN et al., 2016). O efeito estimulatório indireto da P4 no alongamento do trofoblasto, via endométrio, é indiscutível, sendo resultado da expressão gênica em células do endométrio que levam a mudanças na composição do fluido luminal uterino (ULF) no qual é exposto o embrião em desenvolvimento (FORDE et al., 2012; FAULKNER et al., 2013). Assim, a hipótese do presente estudo é de que a suplementação com P4LA, sete dias após a IATF (diestro inicial), será capaz de melhorar o ambiente uterino e estimular não só o alongamento do conceito, mas também o desenvolvimento embrionário e fetal.

## 4.2 MATERIAL E MÉTODOS

O presente projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Uso de Animais (CEUA) do Instituto de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (nº 6993220319).

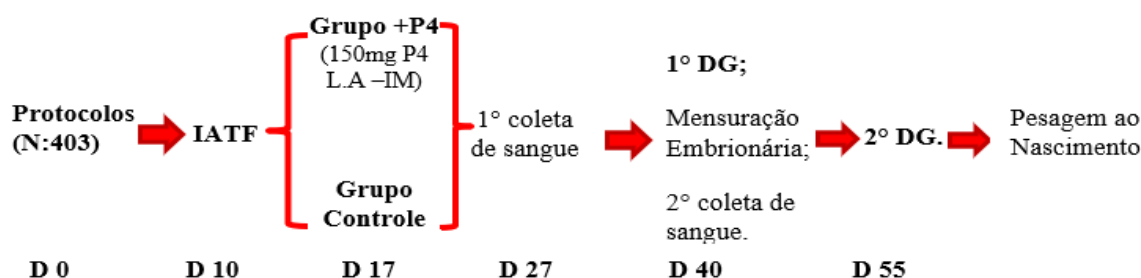
### 4.2.1 Local e período

O experimento foi realizado em fazenda comercial de gado de corte (Fazenda Reunidas Ingaíba), localizada no município de Mangaratiba-RJ e teve início em novembro de 2018, com término em janeiro de 2020.

### 4.2.2 Animais e delineamento experimental

Para esse experimento, foram selecionadas de modo aleatório 119 matrizes gestantes (vacas e novilhas) provenientes do Experimento I, onde foram realizados 403 protocolos de sincrominzação da ovulação. Todos os animais haviam sido submetidos ao mesmo protocolo, para posterior realização da inseminação artificial em tempo fixo (IATF), conforme descrito no item (4.4.3 do Capítulo I). Após a IATF, os animais foram divididos em dois tratamentos de acordo com o escore de condição corporal, ciclicidade e presença de bezerro ao pé, de maneira que cada tratamento apresentasse a mesma proporção de animais de cada variável.

- **Grupo P4 (GP4; n=60):** as fêmeas receberam 150 mg de progestágeno injetável de longa ação (Sincrogest® Injetável, Ourofino, Cravinhos/SP), via intramuscular, em dose única, no sétimo dia após a IATF.
- **Grupo Controle (GC; n=59):** as fêmeas não receberam nenhuma suplementação hormonal após a IATF.



**Figura 12.** Representação esquemática dos procedimentos experimentais utilizados para avaliar o efeito da suplementação de progesterona (P4) injetável de longa ação, 7 dias após a inseminação artificial em tempo fixo (IATF), sobre o desenvolvimento embrionário e fetal de fêmeas Nelore. IM = intramuscular; DG = Diagnóstico de gestação.

### 4.2.3 Dosagem de progesterona

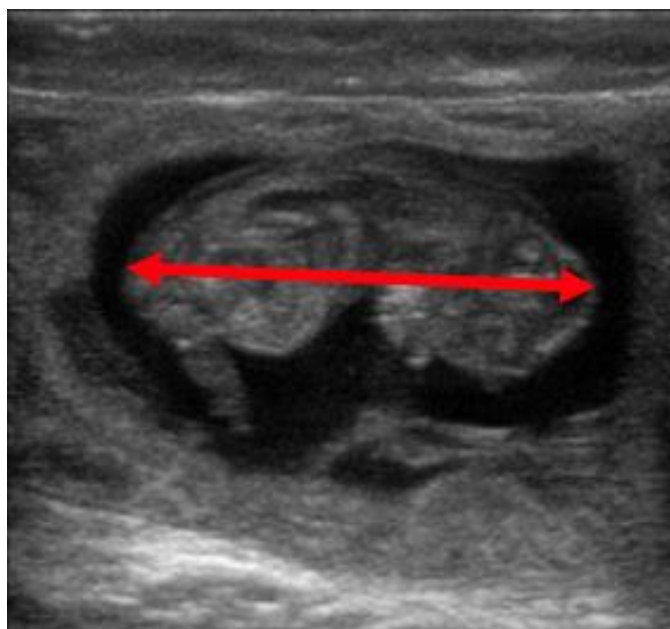
Amostras de sangue foram coletadas de 36 fêmeas de modo aleatório (novilhas e vacas com bezerros ao pé) nos dias 27 e 40 após o início do protocolo de sincrinização da ovulação (Figura 12), ou seja, 10 dias após a aplicação de P4 e no dia da primeira avaliação ultrassonográfica para mensuração embrionária, respectivamente. As amostras de sangue foram utilizadas para determinação da concentração de P4 (MARTINS et al., 2019; STRATMAN et

al., 2016). Para tanto, 10 ml de sangue foram coletados da artéria coccígea em tubos vacutainer heparinizados. As amostras de sangue foram centrifugadas a 1500 x g por 15 minutos, sendo o plasma separado, armazenado em tubos identificados esterilizados e mantidos a -20°C até o momento do ensaio. As concentrações P4 foram determinadas por radioimunoensaio (RIE) utilizando kits comerciais (ImmuChem, MP Biomedicals, Santa Ana, Califórnia, EUA) aproximadamente 60 dias após a coleta. A sensibilidade e o coeficiente intra-ensaio foram de 0,05ng/ml e 11%, respectivamente. Todos os dados estavam dentro do ponto máximo e mínimo da curva.

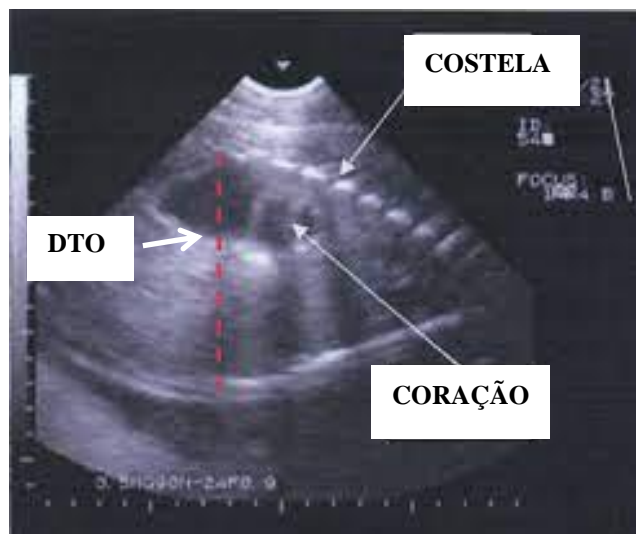
#### 4.2.4 Avaliação ultrassonográfica de medida embrionária, fetal e pesagem ao nascimento

A mensuração embrionária foi realizada aos 30 dias de gestação, com o auxílio do aparelho de ultrassonografia (Mindrey DP200, Frequência 7,5Mhz) sendo produzidas medidas de 119 fêmeas gestantes. Como parâmetro de desenvolvimento embrionário, foi mensurado o comprimento crânio-caudal (CRL - crown-to-rump length), que é a distância determinada por uma linha entre a parte anterior do crânio (osso occipital) até a base da cauda (primeira vértebra coccígea, conforme ilustrado na Figura 13) em metodologia adaptada de Oosthuizen et al. (2018).

O diâmetro torácico (DTO) foi avaliado aos 45 dias de gestação tomando-se a medida da distância máxima entre as extremidades laterais da caixa torácica (ou seja, entre as vértebras e o esterno, conforme ilustrado na Figura 14), seguindo a metodologia descrita por Hunnam et al. (2009). A mensuração do DTO foi realizada em apenas 17 fêmeas que já haviam sido utilizadas para determinação do CRL, devido à dificuldade da medida e o tempo excessivamente longo para realização da mesma, uma vez que o trabalho foi realizado em uma propriedade comercial.



**Figura 13.** Imagem ultrassonográfica de feto bovino apresentando o comprimento crânio-caudal (CRL - crown-to-rump length) definido como a distância entre a parte anterior do crânio até a base da cauda. (Fonte: <https://www.vetmed.wisc.edu>).



**Figura 14.** Imagem ultrassonográfica de feto bovino apresentando medida relacionada ao diâmetro torácico fetal – DTO (Fonte: Hunnam et al., 2009).

Também foi avaliado o peso ao nascimento dos bezerros. A pesagem ao nascimento foi realizada com auxílio da fita de pesagem a campo no dia do nascimento do neonato, a mesma sendo realizada pelos funcionários da fazenda.

#### **4.2.5 Análise estatística**

As variáveis quantitativas (CRL (mm); P4 D17 ( $\text{mg L}^{-1}$ ); P4 D30 ( $\text{mg L}^{-1}$ ); DTO (mm); Peso ao nascimento (Kg)) foram comparadas pelo teste t de Student, a 5% de probabilidade. Previamente, homocedasticidade das variâncias foi avaliada através do teste de Bartlett. Todas as análises estatísticas foram realizadas no software R.



### 4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

É possível observar na Tabela 4 que não houve diferença significativa entre os grupos suplementados ou não com P4LA, sete dias após a IATF, tanto para o desenvolvimento embrionário, quanto na dosagem de progesterona aos 17 e 30 dias após a IATF.

**Tabela 4.** Comprimento crânio-caudal (CRL) aos 30 dias; concentração de progesterona (P4) aos 17 e 30 dias pós-IATF, diâmetro torácico (DTO) aos 45 dias e peso ao nascimento dos bezerros em vacas que receberam ou não suplementação de progesterona (P4), sete dias após a inseminação artificial em tempo fixo.

Variáveis	Com P4	Sem P4	Valor de P
CRL (mm)	15,96 ± 2,57	16,52 ± 1,45	0,59
P4 D17 (mg L <sup>-1</sup> )	5,81 ± 1,90	5,43 ± 2,46	0,73
P4 D30 (mg L <sup>-1</sup> )	4,60 ± 1,58	4,05 ± 2,53	0,62
DTO (mm)	13,83 ± 1,85	12,04 ± 2,09	0,09
Peso nascimento (Kg)	39,94 ± 3,99	40,64 ± 4,91	0,64

O fato de não ter sido observada diferença na concentração de progesterona no 17º dia, entre os grupos tratados ou não com P4LA, pode estar relacionada a presença de apenas a concentração residual da P4 exógena (<1,2 ng / mL) 10 dias após a sua aplicação, uma vez que o pico de P4 ocorre 48 horas após sua aplicação (6,54 ng / mL) e entra em declínio até 96 horas, e depois se mantém estável em níveis residuais até 240 horas (MOROTTI et al., 2018). E ainda, a suplementação de P4LA, 7 dias após a IATF, provavelmente não afetou o desenvolvimento do CL, e consequentemente não interferiu nas concentrações de P4 até o 30º dia de gestação. Esses resultados podem estar relacionados ao momento da suplementação de P4LA (7º dias após a IATF), que não teria sido suficiente para induzir a luteólise precoce ou alterar o ambiente uterino para levar a um maior desenvolvimento embrionário.

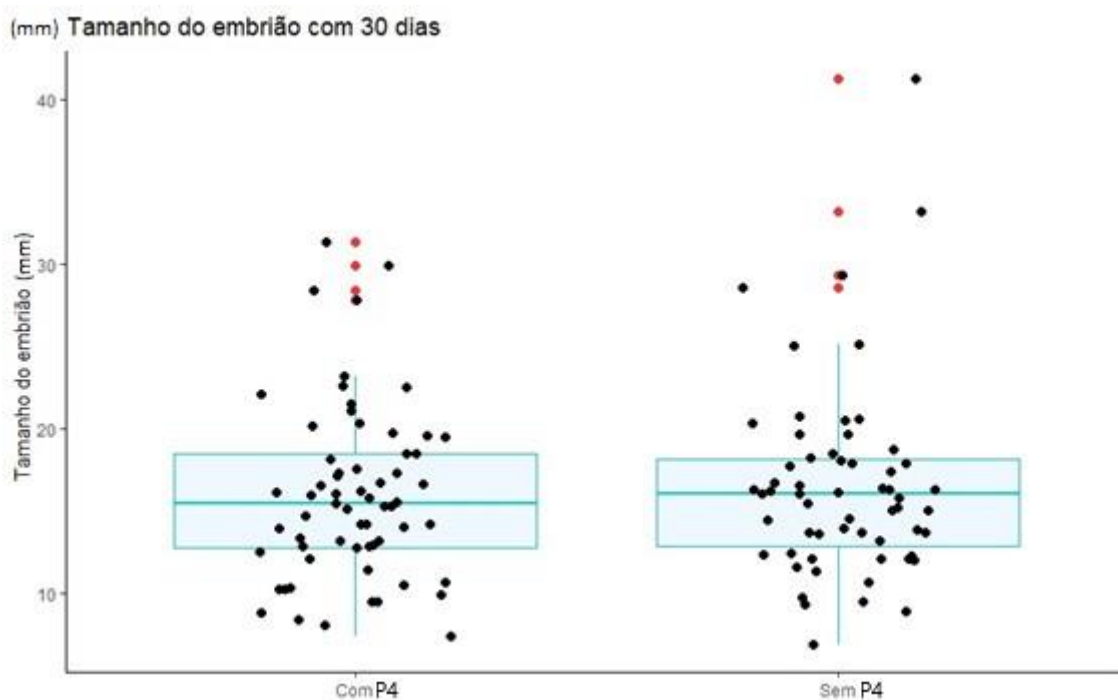
Em bovinos, a P4 atua nas células do epitélio luminal uterino fazendo uma regulação negativa de seus próprios receptores. Desta forma, a P4 permite a regulação positiva de receptores de estrógeno (ER) que induzem a expressão de receptores de ocitocina (OXTR) e, portanto, estimulam a produção de PGF<sub>2</sub> α e consequentemente a ocorrência da luteólise (McCRACKEN et al., 1999). Alguns estudos mostraram que o dia da suplementação de P4 pode induzir a luteólise precoce, devido a aceleração da regulação negativa dos receptores de progesterona nas células do epitélio luminal do útero, levando a uma aceleração da expressão de genes endometriais associados à síntese de PGF<sub>2</sub>α, especificamente RE1 e OXTR (PARR et al., 2014; PARR et al., 2017; BATISTA et al., 2019). Além de estar relacionado a uma provável diminuição dos níveis de LH normalmente liberado nessa fase, que é essencial para o estímulo da esteroidogênese e formação de uma massa luteal desenvolvida, sendo assim a P4 por si só, pode fazer uma inibição da sua função e prejudicar o desenvolvimento precoce do CL (BATISTA et al., 2019).

O'Hara et al. (2013), ao suplementarem novilhas com dispositivo intravaginal de P4, 3-7 dias após a IATF, reportaram peso do CL e concentração de P4, 16 dias após a IATF, menores nos animais suplementados, e associaram seus resultados à indução da luteólise precocemente. Eles relataram ainda, que os animais suplementados com progesterona tiveram embriões mais alongados e maior produção de interferon-T (IFNT) que os animais não suplementados. No entanto, esse aumento da produção de IFNT, proporcionado pelo maior alongamento do conceito, não foi suficiente para superar a sinalização luteolítica causada pela suplementação

de P4 no início do diestro. Sendo assim, conclui-se que a luteólise precoce causada pela suplementação de P4 no final do metaestro e início do diestro foi prejudicial e comprometeu a fertilidade das vacas suplementadas (MARTINS et al., 2019).

Os resultados do presente estudo estão de acordo com os reportados por Yan et al. (2016), no qual os autores observaram que a suplementação de progesterona se mostrou eficiente ao aumenta da taxa de prenhez quando realizada entre os dias 3 e 7 pós-inseminação, prejudicial antes do dia 3 por induzir a luteólise precoce e sem efeito do dia 7 em diante. Essas variações de resultados podem estar diretamente relacionadas à pulsatilidade do LH nessa fase inicial, uma vez que existe uma relação inversa entre a concentração de P4 e o pulso de LH, onde o CL em desenvolvimento primário depende dos receptores de LH nas células da teca e granulosa, tornando-o assim muito vulnerável a variação hormonal (IRELAND & ROCHE, 1982; NISWENDER et al., 1994). Ou seja, quando a suplementação com P4 exógena ocorre precocemente (entre 3-5 dias), pode ocorrer uma alteração na pulsatilidade do LH, afetando assim o desenvolvimento do CL inicial e consequentemente sua produção de P4.

A suplementação mais tardia da P4 (após o 7º dia) pode ser o fator responsável por não haver diferença no desenvolvimento embrionário entre os grupos tratados ou não com P4LA, como mostrado na Figura 15.



**Figura 15.** Gráfico box plot demonstrando a distribuição dos tamanhos embrionários (comprimento crânio-caudal) mensurados aos 30 dias de gestação nos grupos suplementados ou não com progesterona, 7 dias após a IATF. Não foi observada diferença estatística entre os grupos. (N=119)

Não foi observada diferença no desenvolvimento embrionário dos animais suplementados ou não com P4LA após a IATF no presente estudo. Esse fato pode estar relacionado ao aumento tardio da P4, uma vez que a preparação do sistema materno envolve diretamente as concentrações circulantes de P4 (FORDE et al., 2011). Para a expressão de genes, secreção de produtos proteicos, transporte ativo de outras moléculas que proporcionam o alongamento do conceito é necessário que haja uma regulação negativa do receptor nuclear de progesterona (PGR) no epitélio luminal e depois glandular (SPENCER & HANSEN, 2015).

Segundo Geary et al. (2016), há evidência que em bovinos, a P4 induz a expressão de vários genes, especificamente no epitélio endometrial, que depois são estimulados por fatores do embrião, por exemplo, interferon- $\tau$  (IFNT) e prostaglandinas (PGs). O que resulta em uma mudança no ambiente e no fluido luminal uterino que promove a sobrevivência, alongamento e implantação do embrião para o estabelecimento da prenhez. Sendo assim, baixas concentrações de P4 circulante durante a fase luteal precoce podem levar à alteração da expressão gênica nas células endometriais uterinas, crescimento subótimo do embrião e redução nas taxas de prenhez (FORDE et al., 2011).

Alguns estudos demonstraram que o aumento da P4 no diestro inicial alterou a comunicação materno-embrião e mostraram que um ambiente com altas concentrações de P4 são consistentes com o alongamento do conceito. Além disso, foi reportado que a abundância de lipídios no fluido luminal uterino (ULF) no dia 14 pós-inseminação, em resposta ao aumento da P4 onde, 47% dos lipídios identificados estão ligados a biogênese da membrana do conceito, sugerindo que as secreções ULF auxiliam diretamente no desenvolvimento da membrana do conceito (VAN MEER et al., 2008; VAN MEER & DE KROON 2011). Essas informações combinadas sugerem que o suprimento de lipídios maternos durante a janela de alongamento é principalmente voltado para a biogênese da membrana do conceito (SIMINTIRAS et al., 2019). Shorten et al. (2018) ao acompanharem a variação na concentração de progesterona e crescimento embrionário do 7° ao 15° de gestação, comprovaram por análises morfométricas de embriões, modelos matemáticos e avaliações genômicas que a progesterona é um dos fatores mais importantes para o crescimento embrionário, pelo estímulo do endométrio no início da gestação. E ainda concluíram que ao dobrar as concentrações de progesterona, obtém-se um aumento de 33% na taxa de crescimento embrionário. Esses mesmos autores definiram ainda, um modelo para estimar o tempo de variação entre o aumento da progesterona circulante e o aumento da competência uterina ( $4,75 \pm 0,16$  d). Considerando as informações acima, é possível especular também que o aumento da progesterona no diestro inicial tenha efeito somente sobre o alongamento embrionário, não estendendo esse efeito até os 30 dias de crescimento do embrião, explicando o fato de não ter sido observada diferença entre o desenvolvimento embrionário dos animais tratados ou não com P4LA.

Em relação ao desenvolvimento fetal (diâmetro torácico – DTO), a suplementação de P4 também não teve efeito, quando comparamos os grupos suplementados ou não com P4LA ( $P = 0,09$ ), como demonstrado na tabela 4, pela avaliação do diâmetro torácico aos 45 dias de gestação.

Os resultados do presente estudo estão de acordo com os reportados por Stratman et al. (2020) os quais também não encontraram correlação significativa entre o desenvolvimento embrionário, fetal e a progesterona circulante de vacas e novilhas, quando acompanhadas por mensuração ultrassonográfica entre os dias 33 e 45 de gestação. Esses autores afirmaram que esses resultados não invalidam os resultados de estudos anteriores com enfoque semelhante, que indicam que existe um efeito da progesterona no crescimento embrionário, sendo que a maioria dos estudos sobre o desenvolvimento embrionário e progesterona foi realizado durante o início da gestação, nas primeiras duas semanas após a IA (SPENCER et al., 2016; FORDE & LONERGAN, 2017).

Programação fetal é o termo que se refere à ação que o ambiente uterino causa na saúde e no bem-estar da progênie. Os efeitos dessa programação fetal no neonato podem ser mediados por modificações epigenéticas que regulam a expressão gênica na placenta e no feto (VICKARYOUS & WHITELAW, 2005). Em relação aos fatores regulatórios maternos, já foram detectados receptores de estrogênio e progesterona nos placentômios, sugerindo assim que esses hormônios tenham um papel de reguladores locais do crescimento caruncular, diferenciação e funções destas estruturas (SCHULER et al., 2008). E ainda, foi detectado RNA da *melanoprotease Trombospondina 1* (*ADAMTS1*) altamente responsivo às concentrações de

P4, no endométrio e tecidos placentários, sugerindo que o *ADAMTS1* pode atuar como um regulador chave das funções endometriais, regulando os processos de remodelação ou de desenvolvimento da matriz extracelular (MEC) ou ambos, necessários para a implantação e o desenvolvimento da placenta em bovinos, melhorando o desenvolvimento embrionário e fetal (MISHRA et al., 2013). No entanto, nenhum outro trabalho foi realizado acompanhando o desenvolvimento embrionário e fetal de animais suplementados com progesterona no diestro inicial. Nesse sentido, mais estudos são necessários para avaliar até onde se estende os efeitos do crescimento embrionário/fetal pela suplementação de progesterona e se a variação no dia suplementação também interfere nesses resultados.

#### **4.4 CONCLUSÕES**

A suplementação com progesterona injetável de longa ação, 7 dias após a IATF, não interfere no desenvolvimento embrionário, fetal e pós-natal de matrizes Nelore.

#### 4.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BATISTA, E.O.S.; CARDOSO, B.O.; OLIVEIRA, M.L.; CUADROS, F.D.C.; MELLO, B.P.; SPONCHIADO, M.; MONTEIRO, B.M.; PUGLIESI, G.; BINELLI, M. Supplemental progesterone induces temporal changes in luteal development and endometrial transcription in beef cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 68, p. 126-134, 2019.
- BAZER, F.W.; SPENCER, E.T.; BURGHARDT R.C. Uterine receptivity to implantation of blastocysts in mammals. **Front Biosci (Schol Ed)**, v. 3, n. 2, p. 745-767, 2011.
- COUTO, S.R.B. COUTO, S.R.B.; GUERSON, Y.B.; FERREIRA, J.E.; SILVA, O.R.; SILENCIATO, L.N.; BARBERO, R.P.; MELLO, M.R.B. Impact of supplementation with long-acting progesterone on gestational loss in Nelore females submitted to TAI. **Theriogenology**, v. 125, p. 168-172, 2019.
- FAULKNER, S; ELIA, G.; PADRAIC, O.; MICHAEL, D.; DERMOT, M. Composition of the bovine uterine proteome is associated with stage of cycle and concentration of systemic progesterone. **Proteomics**, v. 13, n. 22, p. 3333-3353, 2013.
- FORDE, N.; BELTMAN, M.E.; LONERGAN, P.; DISKIN, M.; ROCHE, J.F.; CROWE, M.A. Oestrous cycles in Bos taurus cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 124, n. 3-4, p. 163-169, 2011.
- FORDE, N.; MEHTA, J. P.; MINTEN, M.; CROWE, M. A.; ROCHE, J. F.; SPENCER, T. E.; LONERGAN, P. Effects of low progesterone on the endometrial transcriptome in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 87, n. 5, p. 124, 1-11, 2012.
- FORDE, N.; LONERGAN, P. Interferon-tau and fertility in ruminants. **Reproduction**, v. 154, n. 5, p. F33-F43, 2017.
- GEARY, T. W.; BURNS, G. W.; MORAES, J. G. N.; MOSS, J. I.; DENICOL, A. C.; DOBBS, K. B.; ORTEGA, M. S.; HANSEN, P. J.; WEHRMAN, M. E.; NEIBERGS, H.; O'NEIL, E.; BEHURA, S.; SPENCER, T. E. Identification of beef heifers with superior uterine capacity for pregnancy. **Biology of Reproduction**, v. 95, n. 2, p. 47, 1-12, 2016.
- HUNNAM, J.C.; PARKINSON, T.J.; LOPEZ-VILLALOBOS, N.; MCDUGALL, S. Association between gestational age and bovine fetal characteristics measured by transcutaneous ultrasound over the right flank of the dairy cow. **Australian Veterinary Journal**, v.87, n.9, p.379-383, 2009.
- IRELAND, J.J.; ROCHE, J.F. Effect of progesterone on basal LH and episodic LH and FSH secretion in heifers. **Reproduction**, v. 64, n. 2, p. 295-302, 1982.
- LIRA, S.A.; CHAVES NETO, A. Coeficientes de correlação para variáveis ordinais e dicotômicas derivados do coeficiente linear de Pearson. **Ciência & Engenharia**, v.15, n. 1-2, p.45-53, 2006.
- LONERGAN, P.; FORDE, N.; SPENCER, T. Role of progesterone in embryo development in cattle. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 28, n. 2, p. 66-74, 2016.

MARTINS, T.; PUGLIESI, G.; SPONCHIADO, M.; CARDOSO, B.O.; SILVA, K.R.; CELEGHINI, E.C.; BINELLI, M. Supplementation with long-acting progesterone in early diestrus in beef cattle: II. Relationships between follicle growth dynamics and luteolysis. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 68, p.1-10, 2019.

MCCRACKEN, J.A.; CUSTER, E.E.; LAMSA, J.C. Luteolysis: a neuroendocrine-mediated event. **Physiological Reviews**, v. 79, n. 2, p. 263-323, 1999.

MISHRA, B.; KOSHI, K.; KIZAKI, K.; USHIZAWA, K.; TAKAHASHI, T.; HOSOE, M.; SATO, T.; ITO, A.; HASHIZUME, K. Expression of ADAMTS1 mRNA in bovine endometrium and placenta during gestation. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 45, n.1, p. 43-48, 2013.

MOROTTI, F.; DE CAMPOS, J.T.; LUNARDELLI, P.A.; COSTA, C.B.; BERGAMO, L.Z., BARREIROS, T.R.R.; SENEDA, M.M. Injectable progesterone in timed artificial insemination programs in beef cows. **Animal Reproduction**, v.15, n. 1, p.17, 2018.

NISWENDER, G.D.; JUENGEL, J.L.; MCGUIRE, W.J.; BELFIORE, C.J.; WILTBA. N.K.M.C. Luteal function: the estrous cycle and early pregnancy. **Biology of Reproduction**, v. 50, n. 2, p. 239-247, 1994.

O'HARA, L.; FORDE, N.; CARTER, F.; RIZOS, D.; MAILLO, V.; EALY, A. D.; KELLY, A. K.; RODRIGUEZ, P.; ISAKA, N.; EVANS, A. C. O.; LONERGAN, P. Paradoxical effect of supplementary progesterone between Day 3 and Day 7 on corpus luteum function and conceptus development in cattle. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 26, n.2, p. 328-336, 2013.

OOSTHUIZEN, N.; FONTES, P.L.P.; HENRY, D.D.; CIRIACO, F.M.; SANFORD, C.D.; CANAL, L.P.; MORAES, G.V.; DILORENZO, N.; CURRIN, J.F.; CLARK, S.; WHITTIER, W.D.; MERCADANTE, V.R.G.; LAMB, G.C. Administration of recombinant bovine somatotropin prior to fixed-time artificial insemination and the effects on fertility, embryo, and fetal size in beef heifers. **Journal of Animal Science**, v.96, n. 5, p.1894-1902, 2018.

PARR, M.H.; CROWE, M.A.; LONERGAN, P.; EVANS, A.C.O.; RIZOS, D.; DISKIN, M.G. Effect of exogenous progesterone supplementation in the early luteal phase post-insemination on pregnancy per artificial insemination in Holstein–Friesian cows. **Animal Reproduction Science**, v. 150, n.1-2, p. 7-14, 2014.

PARR, M.H.;SCULLY, S.; LONERGAN, P.; EVANS, A.C.O.; CROWE, M.A.; DISKIN, M.G. Establishment of critical timing of progesterone supplementation on corpus luteum and embryo development in beef heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 180, p. 1-9, 2017.

SCHULER, G.; GREVEN, H.; KOWALEWSKI, M.; DÖRING, B.; ÖZALP, G.; HOFFMANN, B. Placental steroids in cattle: hormones, placental growth factors or by-products of trophoblast giant cell differentiation? **Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes**, v. 116, n.7, p. 429-436, 2008.

SHORTEN, P.R.; LEDGARD, A.M.; DONNISON, M.; PFEFFER, P.L.; MCDONALD, R.M.; BERG, D.K. A mathematical model of the interaction between bovine blastocyst

developmental stage and progesterone-stimulated uterine factors on differential embryonic development observed on Day 15 of gestation. **Journal of Dairy Science**, v.101, n.1, p.736-751, 2018.

SIMINTIRAS, C.A.; SÁNCHEZ, J.M.; MCDONALD, M.; LONERGAN, P. Progesterone alters the bovine uterine fluid lipidome during the period of elongation. **Reproduction**, v.157, n. 4, p 399-411, 2019.

SPENCER, T.E.; JOHNSON, G.A.; BAZER, F.W.; BURGHARDT, R.C.; PALMARINI, M. Pregnancy recognition and conceptus implantation in domestic ruminants: roles of progesterone, interferons and endogenous retroviruses. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 19, n.1, p. 65-78, 2007.

SPENCER, T.E.; HANSEN, T.R. Implantation and establishment of pregnancy in ruminants. In **Regulation of Implantation and Establishment of Pregnancy in Mammals**, p. 105-135, 2015.

SPENCER, T.E.; FORDE, N.; LONERGAN, P. The role of progesterone and conceptus-derived factors in uterine biology during early pregnancy in ruminants I. **Journal of Milk Science**, v.99, n. 7, p.5941-5950, 2016.

STRATMAN, T.J.; MOORE, S.G.; LAMBERSON, W.R.; KEISLER, D.H.; POOCK, S.E.; LUCY, M.C. Growth of the conceptus from day 33 to 45 of pregnancy is minimally associated with concurrent hormonal or metabolic status in postpartum dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 68, p. 10-18, 2016.

STRATMAN, T.J.; POOCK, S.E.; MOORE, S.G.; LUCY, M.C. Growth of the conceptus from days 33 to 45 of pregnancy is similar for heifers and lactating cows and not associated with circulating glucose, insulin, IGF1 or progesterone concentrations. **Animal Reproduction Science**, v. 216, p. 106463, 2020.

VAN MEER, G.; VOELKER, D.R.; FEIGENSON, G.W. Membrane lipids: where they are and how they behave. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v.9, n. 2, p. 112-124, 2008.

VAN MEER, G.; DE KROON, A.I.P.M. Lipid map of the mammalian cell. **Journal of cell science of Cell Science**, v. 124, n.1, p.5-8, 2011.

VICKARYOUS, N.; WHITELOW, E. The role of early embryonic environment on epigenotype and phenotype. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 17, n. 3, p. 335-340, 2005.

YAN, L.; ROBINSON, R.; SHI, Z.; MANN, G. Efficacy of progesterone supplementation during early pregnancy in cows: A meta-analysis. **Theriogenology**, v. 85, n.8, p. 1390-1398, 2016.



## **5 CONCLUSÕES GERAIS**

Conclui-se que a utilização de progesterona de longa ação 7 dias após a IATF em fêmeas Nelores não se mostrou uma estratégia eficaz para melhorar a eficiência reprodutiva e diminuir perdas gestacionais, além de não ter efeito sobre o desenvolvimento embrionário, fetal e pós-natal.