

Ocorrência de perdas embrionárias e fetais associadas ao uso de biotecnologias reprodutivas em bovinos

Embryonic and fetal losses associated with the use of reproductive biotechnologies in cattle

Pérdidas embrionarias y fetales asociadas con el uso de biotecnologías reproductivas en ganado vacuno

DOI: 10.54033/cadpedv21n13-394

Originals received: 11/22/2024

Acceptance for publication: 12/16/2024

Luiz Gustavo Bruno Siqueira

PhD em Biologia Molecular e Celular Animal
Instituição: Embrapa Gado de Leite (EMBRAPA)
Endereço: Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil
E-mail: luiz.siqueira@embrapa.br

Rafael Augusto da Anunciação

Mestre em Reprodução Animal
Instituição: Universidade de Alfenas (UNIFENAS)
Endereço: Alfenas, Minas Gerais, Brasil
E-mail: anunciacaoveterinario@gmail.com

André Lopes Cirino

Graduando em Medicina Veterinária
Instituição: Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF)
Endereço: Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil
E-mail: andre.lopes@estudante.ufjf.br

João Gabriel Viana Grázia

Doutor em Ciência Animal
Instituição: Apoyar Biotech Ltda. (APOYAR)
Endereço: Alta Floresta, Mato Grosso, Brasil
E-mail: jvgvrazia@gmail.com

Luany Alves Galvão Martinhao

Mestre em Biologia Animal
Instituição: Universidade de Brasília (UnB)
Endereço: Brasília, Distrito Federal, Brasil
E-mail: luany.galvao@gmail.com

Luiz Sérgio Almeida Camargo

Doutor em Medicina Veterinária
Instituição: Embrapa Gado de Leite (EMBRAPA)
Endereço: Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil
E-mail: luiz.camargo@embrapa.br

João Henrique Moreira Viana

Doutor em Ciência Animal
Instituição: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (EMBRAPA)
Endereço: Brasília, Distrito Federal, Brasil
E-mail: henrique.viana@embrapa.br

RESUMO

O estabelecimento e manutenção da gestação em bovinos de leite e corte tem grande impacto sobre a eficiência reprodutiva dos rebanhos e sustentabilidade produtiva e econômica. A ocorrência de perdas gestacionais, por sua vez, representa altos custos e prejuízo financeiro, além de comprometer a produtividade das fazendas. Neste contexto, as causas multifatoriais que levam à ocorrência de perdas embrionárias e fetais devem ser foco de atenção e estudos tem demonstrado quais os principais fatores de risco envolvidos, incluindo o uso de tecnologias de reprodução assistida (ART). Estratégias de manejo e conforto animal tem auxiliado na diminuição de perdas gestacionais após a inseminação artificial em tempo fixo (IATF), principalmente em rebanhos leiteiros de alta produção. Já no caso da produção *in vitro* de embriões, melhorias nos sistemas de cultivo podem ser promissoras para que sejam produzidos embriões de melhor qualidade que não só produzam uma prenhez, mas que sejam capazes de levar a gestação a termo, com o nascimento de bezerros saudáveis. Mesmo assim, são comuns estudos que reportam maior ocorrência de perdas embrionárias e fetais após a transferência de embriões produzidos *in vitro* quando comparados à gestação de IATF. Este artigo discute os principais mecanismos relacionados às perdas embrionárias e fetais em bovinos e potenciais estratégias para mitigar a sua ocorrência.

Palavras-chave: Programação Fetal. Embrião. IATF. Gestação. Eficiência Reprodutiva.

ABSTRACT

The establishment and maintenance of pregnancy in dairy and beef cattle have a significant impact on the reproductive efficiency of herds and on productive and economic sustainability. Therefore, the occurrence of pregnancy losses represents high costs and financial losses, as well as compromising farm productivity. In this context, the multifactorial causes leading to embryonic and fetal losses should be a focus of attention and studies have shown the main risk factors involved, including the use of assisted reproductive technologies (ART). Management and animal welfare strategies have helped reducing pregnancy losses after timed artificial insemination (TAI), especially in high-producing dairy herds. In the case of *in vitro* embryo production, improvements in culture systems may be

promising for producing higher-quality embryos that not only achieve pregnancy but are also capable of carrying the pregnancy to term, resulting in the birth of healthy calves. Nevertheless, studies commonly report a higher incidence of embryonic and fetal losses after the transfer of *in vitro*-produced embryos compared with TAI pregnancies. This manuscript discusses the main mechanisms related to embryonic and fetal losses in cattle and potential strategies to mitigate their occurrence.

Keywords: Fetal Programming. Embryo. TAI. Pregnancy. Reproductive Efficiency.

RESUMEN

El establecimiento y mantenimiento de la gestación en bovinos de leche y de carne tiene un gran impacto en la eficiencia reproductiva de los rebaños y en la sostenibilidad productiva y económica. La ocurrencia de pérdidas gestacionales, a su vez, representa altos costos y perjuicios financieros, además de comprometer la productividad de las granjas. En este contexto, las causas multifactoriales que conducen a pérdidas embrionarias y fetales deben ser objeto de atención, y estudios han demostrado cuáles son los principales factores de riesgo involucrados, incluido el uso de tecnología de reproducción asistida (TRA). Estrategias de manejo y bienestar animal han ayudado a disminuir las pérdidas gestacionales después de la inseminación artificial en tiempo fijo (IATF), principalmente en rebaños lecheros de alta producción. En el caso de la producción *in vitro* de embriones, mejoras en los sistemas de cultivo pueden ser prometedoras para producir embriones de mejor calidad que no solo logren una preñez, sino que sean capaces de llevar la gestación a término, con el nacimiento de terneros sanos. Aun así, son comunes los estudios que reportan una mayor ocurrencia de pérdidas embrionarias y fetales después de la transferencia de embriones producidos *in vitro* en comparación con la gestación de IATF. Este artículo discute los principales mecanismos relacionados con las pérdidas embrionarias y fetales en bovinos y las potenciales estrategias para mitigar su ocurrencia.

Palabras clave: Programación Fetal. Embrión. IATF. Gestación. Eficiencia Reproductiva.

1 INTRODUÇÃO

A eficiência reprodutiva em rebanhos bovinos está estreitamente relacionada com o sucesso na atividade e retorno econômico, garantindo a sustentabilidade e viabilidade da produção de gado de corte ou leite. Em fazendas leiteiras, particularmente, os principais problemas relacionados à reprodução são prolongados intervalos parto-concepção, baixa eficiência de

detecção de estro, reduzidas taxas de concepção e prenhez, e intervalo de partos acima do ideal (Lucy, 2001). Nesse contexto, tão importante quanto o estabelecimento de uma nova prenhez é a manutenção da gestação até que chegue a termo, com o nascimento de um bezerro (a) viável e saudável.

A ocorrência de perdas embrionárias ou fetais após o estabelecimento da gestação afeta negativamente os indicadores técnicos da fazenda e também leva a prejuízos econômicos. O custo estimado de uma perda de prenhez pode chegar a duas vezes o valor médio de uma nova prenhez (De Vries, 2006), ou seja, o impacto financeiro da ocorrência de perdas gestacionais em rebanhos leiteiros pode comprometer a lucratividade da atividade. Além disso, tanto em gado de leite quanto gado de corte, a perda de prenhez aumenta o risco de descarte involuntário da matriz, o que pode representar um alto custo para a operação. Em gado de leite, o risco estimado de perda gestacional tem sido associado à categoria animal (risco 3,6 vezes maior em vacas multíparas em lactação comparado a novilhas), ocorrência de doenças no pós-parto, estresse por calor, e efeito de touro utilizado na inseminação artificial (IA) (López-Gatius, 2012; Albaaj *et al.*, 2023).

Em bovinos, perdas gestacionais podem ser classificadas como precoces (até o 27º dia de gestação) ou tardias (após o 28º dia de gestação) (Wiltbank *et al.*, 2016; Pohler *et al.*, 2020). Outros autores classificam como mortalidade embrionária precoce (0 a 16 dias após a IA) ou tardia (17 a 42 dias pós-IA) e mortalidade fetal precoce (42 a 120 dias pós-IA) ou tardia (120 a 260 dias pós-IA) (Szelényi *et al.*, 2023). Independentemente do tipo de classificação, há evidências de que a maior parte das perdas gestacionais ocorre nas primeiras semanas após a fecundação, por falha no desenvolvimento inicial do embrião (Inskeep e Dailey, 2005; Albaaj *et al.*, 2023). Neste mesmo contexto, Berg *et al.* (2022) estudaram o desenvolvimento embrionário inicial em vacas sob pastejo e observaram que os maiores percentuais de falhas no estabelecimento de uma eventual gestação ocorrem na primeira semana de desenvolvimento, majoritariamente devido a falhas na fertilização (15,8%) e interrupção do desenvolvimento embrionário antes do estágio de mórula (10,3%).

Dentre os principais fatores que podem afetar o percentual de perdas

gestacionais estão os de origem genética, como a ocorrência de haplótipos letais no rebanho, consanguinidade, e o melhoramento visando a sobrevivência embrionária (seleção para DPR); e fatores não-genéticos, que incluem idade materna, as concentrações de progesterona (P4) durante o crescimento folicular antes da IA/ovulação, no momento da IA e no início do diestro, nutrição e balanço energético negativo, ingestão de matéria seca, e ocorrência de doenças infecciosas ou metabólicas no pós-parto (Inskeep e Dailey, 2005 e López-Gatius, 2012). Por exemplo, estudo recente que avaliou o efeito de doenças (inflamação) e/ou distúrbios metabólicos no pós-parto sobre as chances de perdas de gestação indicou que fêmeas diagnosticadas com doença uterina (metrite) até os 15 dias pós-parto tiveram maiores percentuais de perdas gestacionais precoces e tardias quando foram inseminadas após o período de espera voluntário. Ainda, vacas com maiores concentrações circulantes de ácidos graxos não esterificados (NEFA) dois dias após o parto tinham maior chance de mortalidade embrionária tardia e fêmeas com escore de condição corporal (ECC) $\leq 2,5$ aos 63 dias pós-parto exibiram maior chance de mortalidade embrionária entre 29 e 33d de gestação (Bruinjé *et al.*, 2024).

A ocorrência de perdas embrionárias precoces e tardias em bovinos tem causas multifatoriais e grande impacto na produtividade de rebanhos leiteiros e de corte. Neste cenário, estudos que identifiquem as principais causas e mecanismos associados à ocorrência de perdas gestacionais tem grande potencial de contribuir para avanços em produtividade e eficiência de sistemas de produção em bovinos. Não obstante, a crescente adoção de tecnologias de reprodução assistida (ART) para a multiplicação de animais de superior mérito genético indica que o acompanhamento de dados de eficiência deve ser prioridade. O principal motivo de preocupação são as taxas frequentemente mais elevadas de perdas gestacionais quando se utilizam essas ARTs. Houve avanços significativos no uso e aplicação destas biotécnicas reprodutivas na produção animal, porém com muita ênfase nas taxas de gestação subsequente, mas não na manutenção das mesmas e nos nascimentos de animais saudáveis.

Os objetivos deste artigo de revisão são elencar os principais fatores associados à ocorrência de perdas gestacionais em bovinos, demonstrar os

mecanismos envolvidos e descrever possíveis estratégias de mitigação dessas perdas.

2 FATORES DE RISCO PARA PERDAS GESTACIONAIS EM BOVINOS SUBMETIDOS À BIOTECNOLOGIAS REPRODUTIVAS

2.1 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO

O custo diário de uma vaca em lactação não-gestante após o período de espera voluntário aumenta à medida em que se aumenta o número de dias em aberto (período de serviço) devido às perdas na produção de leite, produção de bezerros, gastos com tratamentos, entre outros fatores (De Vries, 2006; Cattaneo *et al.*, 2015). O uso de protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) tem proporcionado melhorias no desempenho reprodutivo e produtivo dos rebanhos, por meio da redução do intervalo de partos e do ganho genético.

Uma questão a ser considerada em relação a falhas e/ou perdas gestacionais é se o corpo lúteo perde a função e leva à morte do embrião ou a morte do embrião por alguma anormalidade acarreta na consequente lise do corpo lúteo. Portanto, avaliações da função luteal na gestação inicial são úteis para identificar animais não-gestantes precocemente, particularmente utilizando ultrassonografia Doppler para avaliar o fluxo sanguíneo luteal (Siqueira *et al.*, 2013). Há também evidências que desmonstram a efetividade da mensuração de proteínas associadas à gestação (PAGs) no leite ou no plasma como um método de identificar fêmeas não gestantes precocemente (após os 25d de gestação) ou mesmo predizer o risco de ocorrência de perdas embrionárias com base nos valores de PAGs (Santos *et al.*, 2023; Yang *et al.*, 2024)

O diagnóstico de gestação precoce seguido de re-inseminação reduz o intervalo entre inseminações (Stevenson, 2005) com potencial melhoria da eficiência reprodutiva do rebanho como um todo (Fricke *et al.*, 2003). Desta forma, a integração da ultrassonografia Doppler para diagnóstico super-precocemente de gestação (Siqueira *et al.*, 2013) junto a decisões rápidas de manejo para animais não-gestantes, tal qual a ressincronização para IATF, fazem parte de

estratégias otimizadas de manejo reprodutivo intensivo (Fricke e Lamb, 2005). Neste contexto, há de se considerar que o estabelecimento e manutenção da gestação em bovinos dependem da presença de um CL funcional e ativo, produzindo P4 (Mann and Lamming, 2001; Parr *et al.*, 2012). O período crítico de reconhecimento materno da gestação acontece em torno de 14 a 18 dias após o estro, momento em que o Interferon-tau produzido pelo embrião deve agir para prevenir a luteólise e possibilitar a manutenção da gestação (Thatcher *et al.*, 1986; Roberts *et al.*, 1990).

O diagnóstico superprecoce de gestação por meio da avaliação do fluxo sanguíneo no corpo lúteo (CL), utilizando ultrassonografia Doppler aos 20 dias após a IATF, proporciona a identificação da maioria dos animais não-gestantes e a redução do intervalo entre IATFs em cerca de 10 dias (Siqueira *et al.*, 2013). Quando se utiliza esse tipo de diagnóstico, contudo, observa-se uma proporção considerável de diagnósticos falsos-positivos. Dentro estes, estima-se que 1/3 seja devido à perda embrionária precoce (entre 20 e 30 dias de gestação) (Pugliesi *et al.*, 2023). No caso de rebanhos leiteiros, nos quais as taxas de gestação são geralmente baixas (~30%) e uma proporção considerável dos animais encontra-se não gestante aos 20 dias após a IATF, esta estratégia pode proporcionar ganhos de eficiência reprodutiva ainda maiores do que aqueles obtidos em rebanhos de corte, com impactos financeiros significativos. Estudo de meta-análise com mais de 17.000 registros de IAs em vacas leiteiras lactantes observou uma média geral de 11,7% de perda gestacional entre o primeiro diagnóstico de gestação (DG) aos ~30 d e o segundo DG aos ~60 d. Ainda, a ocorrência de perdas gestacionais foi maior em vacas múltiparas (13,4%) comparado à primíparas (9,5%) (Wiltbank *et al.*, 2018). Já em vacas em lactação utilizadas como receptoras de embrião, primíparas apresentaram uma tendência ($P=0,08$) de maior taxa de perdas gestacionais (20,7%) comparadas às vacas múltiparas (14,7%) (Madureira *et al.*, 2022).

Em ordem de ocorrência, aparentemente vacas leiteiras em lactação são as mais propensas à ocorrência de perdas embrionárias ou fetais até o final do primeiro trimestre da gestação, possivelmente por fatores inerentes aos sistemas de criação de fazendas de leite de alta produção e, principalmente, por estarem

mais susceptíveis aos efeitos do estresse por calor sobre os mecanismos fisiológicos de estabelecimento e manutenção da prenhez (Wiltbank *et al.*, 2016). Novilhas leiteiras tem taxas de perdas gestacionais relativamente baixas comparadas à vacas em lactação múltiparas (López-Gatius, 2012), enquanto em gado de corte *B. indicus* as maiores taxas de perdas são observadas em novilhas submetidas à IATF em idade precoce ou convencional comparadas à vacas primíparas ou múltiparas, chegando a atingir quase um terço (28,4%) de perdas entre o primeiro diagnóstico de gestação (30 dias) e o parto em novilhas precoces (Prado *et al.* 2024).

Vacas de corte *B. indicus* aparentemente apresentam maiores taxas de mortalidade fetal (60 a 150 dias de gestação) do que embrionária (30 a 60 dias de gestação), i.e., a ocorrência de perdas gestacionais é mais frequentemente observada em fases mais avançadas da gestação (após o segundo mês) (Prado *et al.*, 2024). Os fatores que influenciaram a ocorrência de perdas gestacionais entre o primeiro diagnóstico de gestação (~35 d) e o parto em gado de corte *B. indicus* foram paridade e expressão de estro no momento da IATF, com maiores perdas observadas em primíparas comparadas a múltiparas (14,0 vs 8,9%, respectivamente) e em fêmeas que não apresentaram estro na IATF em relação a fêmeas que tiveram estro (13,5 vs 9,7%, respectivamente). Presença de CL no início do protocolo, ECC, e manipulações hormonais no protocolo de IATF não afetaram a ocorrência de perdas gestacionais (Consentini *et al.*, 2022).

2.2 PRODUÇÃO IN VITRO DE EMBRIÕES

O embrião pré-implantação é sensível à estímulos vindos do microambiente no qual se encontra e pode modificar a sua função em resposta ao ambiente artificial de cultivo *in vitro*. Eventos celulares e moleculares importantes para o desenvolvimento subsequente acontecem neste período, entre eles a reprogramação epigenética (demetilação e metilação de novo; Santos e Dean, 2004), diferenciação da massa celular interna que dará origem aos folhetos embrionários e diferenciação dos tecidos extra-embrionários (placentação). Esse conjunto de eventos, incluindo possíveis alterações,

adaptações ao microambiente, e modificações celulares e moleculares é chamado de programação do desenvolvimento embrionário e/ou fetal.

A produção *in vitro* de embriões (PIVE) tem sido associada à elevadas taxas de perdas embrionárias, desenvolvimento fetal anormal, e alterações da placenta e anexos em humanos e animais (van Wagtendonk-de Leeuw *et al.*, 1998; Wang *et al.*, 2006; Farin *et al.*, 2006). No caso específico da PIVE, a maior incidência de perdas embrionárias está associada à ocorrência de aneuploidia/mixoploidia (Viuff *et al.*, 1999), reprogramação epeigenética anormal (Chen *et al.*, 2015), erros na diferenciação celular ou no alongamento do concepto, implantação e placentação (Speckhart *et al.*, 2023), função placentária anormal (Grazul-Bilska *et al.*, 2010) e desenvolvimento fetal alterado (Bertolini *et al.*, 2002; Bloise *et al.*, 2014).

O uso da PIVE tem grande importância no Brasil, país que se destaca como o segundo maior produtor global de embriões *in vitro* (Viana, 2023), para o melhoramento genético e multiplicação de animais superiores. Contudo, há relatos recorrentes de perdas embrionárias precoces, abortamentos e mortalidade perinatal elevada, o que é um gargalo para uma maior expansão no uso desta técnica. Estudos da década de 1990 já demonstravam maior incidência de problemas em gestações de PIVE comparadas à de embriões *in vivo*, tais quais maior taxa de abortamentos (acima de 60 dias de gestação), defeitos congênitos, maior porcentagem de bezerros com peso ao nascimento acima do normal, e maior mortalidade perinatal (Kruip e den Dass, 1997; Holm e Callesen, 1998). Evidências indicam ainda que as consequências podem persistir até a vida adulta (Siqueira *et al.*, 2017; Lafontaine *et al.*, 2023), o que impacta também os programas de melhoramento genético, em função das possíveis alterações fenotípicas. Assim, o desenvolvimento de estratégias de mitigação dos efeitos adversos da PIVE sobre o desenvolvimento fetal e perdas gestacionais, como avanços técnicos no cultivo *in vitro*, foram foco de estudos nas últimas duas décadas pelo seu grande potencial de contribuir para uma maior eficiência da técnica.

Mesmo com avanços significativos nos sistemas de PIVE, composição dos meios, práticas laboratoriais, e avaliação da qualidade embrionária, estudos

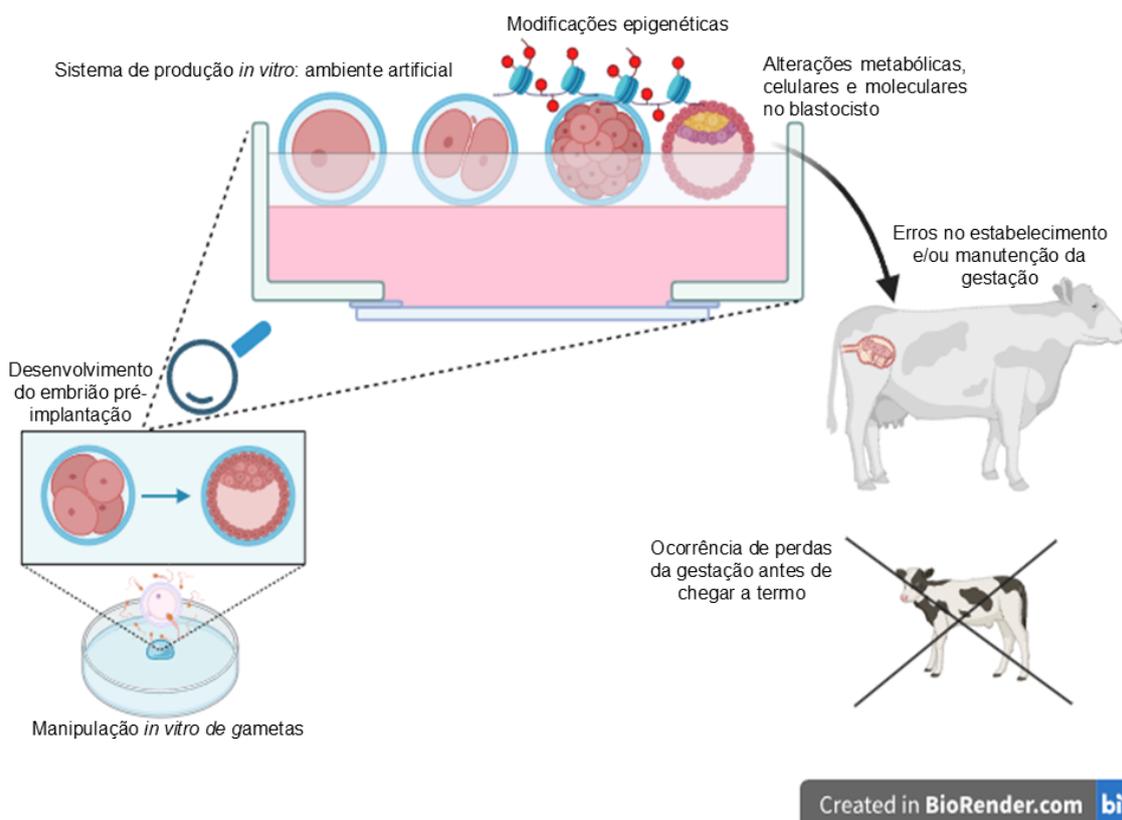
recentes ainda apontam para tendência semelhante em relação às perdas gestacionais de embriões PIVE. Pohler *et al.* (2016) utilizaram análises de glicoproteínas associadas à gestação (PAGs) para avaliar perdas de gestação entre o primeiro (no dia 31) e o segundo diagnóstico de gestação (no dia 59) e observaram uma taxa de 16,5% de perdas em gestação de PIVE e 10% em gestações de IATF. Uma meta-análise de estudos que avaliaram perdas gestacionais após transferência de embriões durante 10 anos, em raças de corte e leite, reportaram perda gestacionais entre DG1 e DG2 de 15,6% para embriões PIV e 17,0% para embriões in vivo coletados após superovulação (Wiltbank *et al.*, 2018). Mais recentemente, em vacas leiteiras em lactação criadas sob pastejo, foram identificadas perdas gestacionais entre os dias 32 e 62 de 15,1% em gestações de PIVE comparado a 4,7% em gestações de IATF (Crowe *et al.*, 2024). Neste estudo, ainda se observou diferenças nas taxas de perdas em função da raça do embrião PIVE, com maiores perdas observadas em embriões de raças de corte, frescos (17,3%) ou congelados (18,5%) e de raças de leite congelados (19,2%) comparados à embriões de raças de leite frescos (6,0%).

2.3 OUTROS FATORES QUE INTERFEREM NAS PERDAS GESTACIONAIS

A idade da doadora de embriões apresenta associação quadrática com a probabilidade de perda gestacional entre 30 e 60d de gestação, já a qualidade e estágio de desenvolvimento embrionário podem afetar a ocorrência de perdas gestacionais (maior em embriões de menor qualidade e em blastocistos eclodidos comparados à blastocistos e blastocistos expandidos) (Wiltbank *et al.*, 2016). Quanto à fatores relacionados às receptoras, existe evidência de que a manifestação de cio ao protocolo de IATF ou TETF diminui a incidência de perdas gestacionais (Pereira *et al.*, 2016). Escore de condição corporal baixo em receptoras também pode aumentar as chances de perdas gestacionais (Wiltbank *et al.*, 2016) e a repetição de receptoras pode ser outro fator que interfere na incidência de perdas gestacionais, i.é., menores perdas gestacionais são observadas após a 1ª TE comparado às chances de perdas após a 2ª ou 3ª TE (Wiltbank *et al.*, 2016). Por fim, receptoras da raça Holandês, em lactação,

apresentaram uma tendência à maiores taxas de perdas gestacionais comparadas à receptoras de raças de aptidão para corte (Factor, 2021).

Figura 1. Mecanismos prováveis que associam o uso de biotecnologias reprodutivas a perdas embrionárias e fetais em bovinos



Fonte: Created in BioRender.com

3 POTENCIAIS ESTRATÉGIAS PARA REDUZIR PERDAS EMBRIONÁRIAS E FETAIS

Estratégias que visam diminuir a ocorrência de perdas embrionárias precoces e tardias, tanto em fêmeas inseminadas por IATF quanto em receptoras transferidas com embriões PIVE ou *in vivo*, envolvem ações para melhorias na função luteal e, indiretamente, aumento das concentrações de P4 circulante. A justificativa fisiológica seria uma ação positiva da P4 durante a fase de alongamento do conceito, auxiliando na produção de interferon tau e no reconhecimento materno da gestação (Bishop *et al.*, 2022). Estudos que suplementaram P4 após a ovulação, contudo, encontraram resultados

controversos em termos de perdas gestacionais (Monteiro Jr., *et al.*, 2015).

Outros estudos avaliaram potenciais efeitos positivos do tratamento com GnRH ou hCG sobre a função luteal no início e meio do diestro. Niles *et al.* (2019) observou um aumento consistente da concentração de P4 em fêmeas tratadas com 2000 UI de hCG no dia 7 após a IA ou no dia da TE (dia 7) que perdurou pelo menos até os 67 dias de gestação. Foi observada também uma redução na ocorrência de perdas gestacionais nos animais tratados com hCG. Já o tratamento com GnRH 5 dias após a ovulação aumentou o volume do CL entre 12 e 33 dias após a IA, aumentou a concentração de P4 entre os dias 12 e 21 após a ovulação, e reduziu a probabilidade de perda embrionária em receptoras transferidas com blastocistos expandidos produzidos *in vitro* (García-Guerra *et al.*, 2020). Mesmo com alguns resultados promissores, ainda são necessários estudos adicionais para avaliar o real impacto destes tipos de estratégias sobre a proporção de perdas gestacionais e o custo-benefício de tais intervenções.

4 CONCLUSÕES

Com base nas evidências de diferentes estudos, maiores taxas de perdas gestacionais são observadas em fêmeas leiteiras submetidas à IATF ou TE, quando comparadas às fêmeas de corte. A ocorrência de perdas gestacionais ainda é pouco mensurada e registrada em gado de corte, mas há dados que indicam a ocorrência maior de perdas em fases mais avançadas da gestação (após os 60 dias) e efeitos de paridade e expressão de estro ao protocolo de IATF. Melhorias no manejo, ambiência, sanidade e status fisiológico podem aliviar perdas de gestação, principalmente quando o período pós-parto não apresenta grandes desafios (p.ex. doenças clínicas e distúrbios metabólicos). A receptora pode afetar as taxas de perdas gestacionais após a TE, mas o principal fator ainda é o embrião. Nesse sentido, melhorias nas condições de produção *in vitro*, qualidade dos gametas e seleção de embriões com maior potencial de desenvolvimento podem contribuir para a diminuição de perdas de gestações geradas por tecnologias de embriões. No caso de embriões produzidos *in vitro*, há vasta evidência de erros na programação do desenvolvimento ainda no período

pré-implantação e o mecanismo provável envolve modificações epigenéticas e alterações no metabolismo e competência do embrião. Por fim, ainda há resultados controversos para potenciais intervenções estratégicas (GnRH, suplementação com P4, hCG, etc.) que possam mitigar a ocorrência de perdas gestacionais após IATF ou TE, mas o refinamento de protocolos para situações específicas de desafio às receptoras (ECC, manejo, temperamento) podem resultar em menores taxas de perda gestacional não-infecciosa. Uma das maiores limitações de estudos que buscam identificar a ocorrência de perdas embrionárias e fetais em bovinos é a escassez de dados reprodutivos e diagnósticos precoces. Futuros trabalhos poderão identificar estratégias adicionais de manejo e intervenções práticas passíveis de serem realizadas para que se alcance uma diminuição significativa das taxas de perdas gestacionais em bovinos, principalmente em rebanhos leiteiros.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro da Fundação de Amparo a Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) Projeto APQ-02126-21, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e INCT Reprodução Animal (Processo 406866/2022-8) e Embrapa (Projeto SEG 10.22.00.159.00.00).

REFERÊNCIAS

ALBAAJ, A., DUROCHER, J., LEBLANC, S.J., DUFOUR, S. Meta-analysis of the incidence of pregnancy losses in dairy cows at different stages to 90 days of gestation. **J Dairy Sci Commun**, 4, p. 144-148, 2023.

BERG, D. K., LEDGARD, A., DONNISON, M., MCDONALD, R., HENDERSON, H.V., MEIER, S., JUENGEL, J.L., BURKE, C.R. The first week following insemination is the period of major pregnancy failure in pasture-grazed dairy cows. **J Dairy Sci**, 105, p. 9253-9270, 2022. doi: 10.3168/jds.2021-21773

BERTOLINI, M., MASON, J.B., BEAM, S.W., CARNEIRO, G.F., SWEEN, M.L., KOMINEK, D.J., MOYER, A.L., FAMULA, T.R., SAINZ, R.D., ANDERSON, G.B. Morphology and morphometry of in vivo-and in vitro-produced bovine concepti from early pregnancy to term and association with high birth weights. **Theriogenology**, 58, p. 973–994, 2002.

BISHOP, C.V., SELVARAJ, V., TOWNSON, D.H., PATE, J.L., WILTBANK, M.C. History, insights, and future perspectives on studies into luteal function in cattle. **J Anim Sci**, 100, p.skac143, 2022.

BLOISE, E., FEUER, S.K., RINAUDO, P.F. Comparative intrauterine development and placental function of ART concepti: implications for human reproductive medicine and animal breeding. **Hum Reprod Update**, 20, p. 822–839, 2014.

BRUINJÉ, T.C., MORRISON, E.I., RIBEIRO, E.S., RENAUD, D.L., LEBLANC, S.J. Associations of inflammatory and reproductive tract disorders postpartum with pregnancy and early pregnancy loss in dairy cows. **J Dairy Sci**, 107(3), p. 1630-1644, 2024. doi: 10.3168/jds.2023-23976

CATTANEO, L., BAUDRACCO, J., LAZZARINI, B., ORTEGA, H. Methodology to estimate the cost of delayed pregnancy for dairy cows. An example for Argentina. **R Bras Zootec**, 44, p. 226-229, 2015.

CHEN, Z., HAGEN, D.E., ELSIK, C.G., JI, T., MORRIS, C.J., MOON, L.E., RIVERA, R.M. Characterization of global loss of imprinting in fetal overgrowth syndrome induced by assisted reproduction. **Proc Natl Acad Sci USA**, 112, p. 4618–4623, 2015.

CONSENTINI, C.E.C., ALVES, R.L.O.R., SILVA, M.A., GALINDEZ, J.P.A., MADUREIRA, G., LIMA, L.G., GONÇALVES, J.R.S., WILTBANK, M.C., SARTORI, R. What are the factors associated with pregnancy loss after timed artificial insemination in *Bos indicus* cattle? **Theriogenology**, 196, p. 264-269, 2023.

CROWE, A.D., SÁNCHEZ, J.M., MOORE, S.G., MCDONALD, M., RODRIGUES, R., MORALES, M.F., ORSI DE FREITAS, L., RANDI, F., FURLONG, J., BROWNE, J.A., RABAGLINO, M.B., LONERGAN, P., BUTLER, S.T. Fertility in seasonal-calving pasture-based lactating dairy cows following timed artificial insemination or timed embryo transfer with fresh or frozen in vitro-produced embryos. **J Dairy Sci**, 107, p. 1788-1804, 2024

DE VRIES, A. Economic value of pregnancy in dairy cattle. **J Dairy Sci**, 89, p. 3876-85, 2006.

FACTOR, Luana. **Efeito da receptora (vaca Holandesa em lactação ou vaca mestiça de corte) sobre o desempenho produtivo e reprodutivo de bezerras Holandesas geradas por fertilização in vitro**. 2021. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10131/tde-20122021-111142/>.

FARIN, P.W., PIEDRAHITA, J.A., FARIN, C.E. Errors in development of fetuses and placentas from in vitro-produced bovine embryos. **Theriogenology**, 65, p. 178–191, 2006.

FRICKE, P.M, LAMB, G.C. Potential applications and pitfalls of reproductive ultrasonography in bovine practice. **Vet Clin North Am Food Anim Pract**, 21, p. 419-36, 2005.

FRICKE, P.M., CARAVIELLO, D.Z., WEIGEL, K.A., WELLE, M.L. Fertility of dairy cows after resynchronization of ovulation at three intervals following first timed insemination. **J Dairy Sci**, 86, p. 3941-50, 2003.

GARCÍA-GUERRA, A., SALA, R.V., CARRENHO-SALA, L., BAEZ, G.M., MOTTA, J.C.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**, 141, p. 202-210, 2020.

GRAZUL-BILSKA, A.T., BOROWICZ, P.P., JOHNSON, M.L., MINTEN, M.A., BILSKI, J.J., WROBLEWSKI, R., REDMER, D.A., REYNOLDS, L.P. Placental development during early pregnancy in sheep: vascular growth and expression of angiogenic factors in maternal placenta. **Reproduction**, 140, p. 165–174, 2010.

HOLM, P., CALLESEN, H. In vivo versus in vitro produced bovine ova: similarities and differences relevant for practical application. **Reprod Nutr Dev**, 38, p. 579–594, 1998.

INSKEEP, E.K., DAILEY, R.A. Embryonic death in cattle. **Vet Clin North Am Food Anim Pract**, 21, p. 437-461, 2005.

KRUIP, T.A.M., DEN DAAS, J.H.G. In vitro produced and cloned embryos: effects on pregnancy, parturition and offspring. **Theriogenology**, 47, p. 43–52, 1997.

LÓPEZ-GATIUS, F. Factors of a noninfectious nature affecting fertility after artificial insemination in lactating dairy cows: A review. **Theriogenology**, 77, p. 1029-41, 2012.

LUCY, M.C. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? **J Dairy Sci**, 84, p. 1277-93, 2001.

MADUREIRA, A. M. L., BURNETT, T.A., MARQUES, J.C.S., MOORE, A.L., BORCHARDT, S., HEUWIESER, W., GUIDA, T.G., VASCONCELOS, J.L.M.,

BAES, C.F., CERRI, R.L.A. Occurrence and greater intensity of estrus in recipient lactating dairy cows improve pregnancy per embryo transfer. **J Dairy Sci**, 105(1), p.877-888, 2022. doi: 10.3168/jds.2021-20437.

MANN, G.E., LAMMING, G.E. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. **Reproduction**, 121, p. 175-80, 2001.

MONTEIRO JR, P.L., NASCIMENTO, A.B., PONTES, G.C., FERNANDES, G.O., MELO, L.F., WILTBANK, M.C., SARTORI, R. Progesterone supplementation after ovulation: effects on corpus luteum function and on fertility of dairy cows subjected to AI or ET. **Theriogenology**, 84, p. 1215-24, 2015.

NILES, A.M., FRICKE, H.P., CARVALHO, P.D., WILTBANK, M.C., HERNANDEZ, L.L., FRICKE, P.M. Effect of treatment with human chorionic gonadotropin 7 days after artificial insemination or at the time of embryo transfer on reproductive outcomes in nulliparous Holstein heifers. **J Dairy Sci**, 102, p. 2593-2606, 2019.

PARR, M.H., MULLEN, M.P., CROWE, M.A., ROCHE, J.F., LONERGAN, P., EVANS, A.C., DISKIN, M.G. Relationship between pregnancy per artificial insemination and early luteal concentrations of progesterone and establishment of repeatability estimates for these traits in Holstein-Friesian heifers. **J Dairy Sci**, 95, p. 2390-96, 2012.

PEREIRA, M.H.C., WILTBANK, M.C., VASCONCELOS, J.L.M. Expression of estrus improves fertility and decreases pregnancy losses in lactating dairy cows that receive artificial insemination or embryo transfer. **J Dairy Sci**, 99, p. 2237-2247, 2016.

POHLER, K.G., FRANCO, G.A., REESE, S.T., SMITH, M.F. Physiology and pregnancy of beef cattle. *In: Animal Agriculture*, Academic Press, p.37-55, 2020.

POHLER, K.G., PEREIRA, M.H.C., LOPES, F.R., LAWRENCE, J.C., KEISLER, D.H., SMITH, M.F., VASCONCELOS, J.L.M., GREEN, J.A. Circulating concentrations of bovine pregnancy-associated glycoproteins and late embryonic mortality in lactating dairy herds. **J Dairy Sci**, 99(2), p. 1584-1594, 2016.

PRADO, C.P., COOKE, R.F., MUNHOZ, A.K., MUNHOZ, S.K., DE SOUSA, M.C.G., DA SILVA, V.M.P. POHLER, K.G., VASCONCELOS, J.L.M. Characterizing pregnancy losses in *Bos indicus* beef females receiving a fixed-timed artificial insemination protocol. **Theriogenology** 215, p. 144-150, 2024.

PUGLIESI, G., SILVA, A.G., VIANA, J.H.M., SIQUEIRA, L.G.B. Review: Current status of corpus luteum assessment by Doppler ultrasonography to diagnose non-pregnancy and select embryo recipients in cattle. **Animal**, Suppl 1, p. 100752, 2023.

ROBERTS, R.M., FARIN, C.E., CROSS, J.C. Trophoblast proteins and maternal recognition of pregnancy. **Oxf Rev Reprod Biol**, 12, p. 147-80, 1990.

SANTOS, A., MINELA, T., BRANEN, J., PURSLEY, J.R. Time to increase in pregnancy-specific protein B following artificial insemination is a direct determinant of subsequent pregnancy loss in lactating dairy cows. **J Dairy Sci**, 106(5), p. 3734-3747, 2023. doi: 10.3168/jds.2022-22553

SANTOS, F., DEAN, W. Epigenetic reprogramming during early development in mammals. **Reproduction**, 127, p. 643–651, 2004.

SIQUEIRA, L.G., AREAS, V.S., GHETTI, A.M., FONSECA, J.F., PALHAO, M.P., FERNANDES, C.A.C., VIANA, J.H. Color Doppler flow imaging for the early detection of nonpregnant cattle at 20 days after timed artificial insemination. **J Dairy Sci**, 96, p. 6461-72, 2013.

SIQUEIRA, L.G.B., DIKMEN, S., ORTEGA, M.S., HANSEN, P.J. Postnatal phenotype of dairy cows is altered by in vitro embryo production using reverse X-sorted semen. **J Dairy Sci**, 100(7), p. 5899-5908, 2017. doi: 10.3168/jds.2016-12539

SPECKHART, S.L., OLIVER, M.A., EALY, A.D. Developmental hurdles that can compromise pregnancy during the first month of gestation in cattle. **Animals (Basel)**, 13, p. 1760, 2023.

STEVENSON, J.S. Breeding strategies to optimize reproductive efficiency in dairy herds. **Vet Clin North Am Food Anim Pract**, 21, p. 349-65, 2005.

SZELÉNYI, Z., SZENCI, O., BODÓ, S., KOVÁCS, L. Noninfectious causes of pregnancy loss at the late embryonic/early fetal stage in dairy cattle. **Animals** 13 (3390), p.1-11, 2023. <https://doi.org/10.3390/ani13213390>

THATCHER, W.W., BAZER, F.W., SHARP, D.C., ROBERTS, R.M. Interrelationships between uterus and conceptus to maintain corpus luteum function in early pregnancy: sheep, cattle, pigs and horses. **J Anim Sci**, 62, p. 25-46, 1986.

VAN WAGTENDONK-DE LEEUW, A.M., AERTS, B.J., DEN DAAS, J.H. Abnormal offspring following in vitro production of bovine preimplantation embryos: a field study. **Theriogenology**, 491, p. 883–894, 1998.

VIANA, J.H.M. 2022 Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals: The main trends for the world embryo industry still stand. **Embr Tech Newsl**, 41, p. 20-38, 2023.

VIUFF, D., RICKORDS, L., OFFENBERG, H., HYTTEL, P., AVERY, B., GREVE, T., OLSAKER, I., WILLIAMS, J.L., CALLESEN, H., THOMSEN, P.D. A high proportion of bovine blastocysts produced in vitro are mixoploid. **Biol Reprod**, 60, p. 1273-8, 1999.

WANG, J.X., NORMAN, R.J., WILCOX, A.J. Incidence of spontaneous abortion among pregnancies produced by assisted reproductive technology. **Hum Reprod**, 19, p. 272–277, 2004.

WILTBANK, M.C., BAEZ, G.M., GARCIA-GUERRA, A., TOLEDO, M.Z., MONTEIRO, P.L., MELO, L.F., OCHOA, J.C., SANTOS, J.E., SARTORI, R. Pivotal periods for pregnancy loss during the first trimester of gestation in lactating dairy cows. **Theriogenology**, 86(1), p. 239-53, 2016.

WILTBANK, M.C., MEZERA, M.A., TOLEDO, M.Z., DRUM, J.N., BAEZ, G.M., GARCÍA-GUERRA, A., SARTORI, R. Physiological mechanisms involved in maintaining the corpus luteum during the first two months of pregnancy. Proceedings of the **10th International Ruminant Reproduction Symposium** (IRRS); Foz do Iguaçu, PR, Brazil, Sep. 16 to 20th, 2018.

YANG, M-K., YEH, R-H., LEE, C-J., YEH, Y-H., CHEN, Y-H., BANHAZI, T., TU, P-A. Pregnancy maintenance and fetal loss assessment in Holstein cows through analyzing pregnancy-associated glycoproteins in milk.

Theriogenology, 15:217, p. 11-17, 2024. doi:
10.1016/j.theriogenology.2024.01.010