



RAFAEL RESENDE RABELO SILVA

**PERFIL METABÓLICO E HORMONAL NO MOMENTO DA
INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL E NO DIAGNÓSTICO DE
GESTAÇÃO DE VACAS *BOS INDICUS* GESTANTES OU NÃO**

LAVRAS – MG

2026

RAFAEL RESENDE RABELO SILVA

**PERFIL METABÓLICO E HORMONAL NO MOMENTO DA INSEMINAÇÃO
ARTIFICIAL E NO DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO DE VACAS *BOS INDICUS*
GESTANTES OU NÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Ciências Veterinárias, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. José Nélío de Sousa Sales
Orientador

LAVRAS – MG

2026

**Ficha Catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração
de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com
dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Silva, Rafael Resende Rabelo.

Perfil metabólico e hormonal no momento da inseminação artificial e no diagnóstico de gestação de vacas *Bos indicus* gestantes ou não / Rafael Resende Rabelo Silva. - 2026.

45 p. : il.

Orientador: José Nélio de Sousa Sales

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2026.
Bibliografia.

1. Biomarcadores. 2. Prenhez. 3. *Bos indicus*. I. Nélio de Sousa Sales, José. II. Universidade Federal de Lavras. III. Título.

RAFAEL RESENDE RABELO SILVA

**PERFIL METABÓLICO E HORMONAL NO MOMENTO DA
INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL E NO DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO DE VACAS
BOS INDICUS GESTANTES OU NÃO**

**METABOLIC (NEFA AND BHB) AND HORMONAL (IGF-1 AND INSULIN)
PROFILE OF *BOS INDICUS* COWS PREGNANT AND NON-PREGNANT
SUBJECTED TO THE TIMED ARTIFICIAL INSEMINATION PROTOCOL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Ciências Veterinárias, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 30 de maio de 2026.

Prof. Dr. José Nelio de Sousa Sales

Prof.^a Dr.^a. Nadja Gomes Alves

Prof. Dr. Luiz Manoel Souza Simões

UFLA

UFLA

Prenhez Consultoria

Prof. Dr. José Nelio de Sousa Sales

Orientador

LAVRAS – MG

2026

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus por ter me dado forças e sabedoria durante todo esse período.

Aos meus pais Adélia e Edmar, por sempre acreditarem em mim e me apoiarem em todas as decisões para que eu me tornasse um profissional de sucesso.

A minha esposa Samantha Naomi, por estar sempre ao meu lado em todos os momentos e me incentivar em cada etapa da minha vida.

Agradeço à toda a minha família, que sempre me apoiou e acreditou no meu potencial.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), pela oportunidade concedida, e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias (PPGCV), pelo acolhimento.

Ao Professor Dr. José Nélio de Sousa Sales, por toda a orientação, profissionalismo, ética, disponibilidade e conhecimentos transmitidos ao longo desses anos. Agradeço o acolhimento como aluno e por cada ensinamento e conselho que foram de suma importância para o meu crescimento profissional.

Agradeço a todos os alunos do Laboratório ZN, Laís, Matheus, Luisa, Marco Antônio, Léo e Lucas, pela amizade, troca de conhecimentos e colaboração nas atividades experimentais durante todo o período do mestrado. Vocês foram essenciais para tornar a jornada mais leve.

A todos os professores do PPGCV, que contribuíram significativamente para a minha formação acadêmica e científica, tanto pela transmissão de conhecimentos quanto pelo apoio técnico e orientação ao longo do desenvolvimento deste trabalho.

Às fazendas que disponibilizaram seus animais, colaboradores e estrutura para a realização deste estudo. Aos laboratórios e veterinários parceiros que apoiaram na execução deste estudo, em especial ao Dr. Bruno Campos de Carvalho, pesquisador da Embrapa Gado de Leite e ao professor Felipe Zandonadi Brandão.

À CAPES, CNPq e FAPEMIG pela concessão da bolsa de estudos durante o mestrado e fomento à pesquisa.

RESUMO

A eficiência reprodutiva é um dos principais fatores relacionados ao desempenho da pecuária de corte, sendo diretamente influenciada pelo estado metabólico e hormonal das fêmeas bovinas. Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar o perfil metabólico e hormonal de vacas *Bos indicus* gestantes ou não submetidas à inseminação artificial em tempo fixo (IATF), por meio de coletas de sangue e de fluido folicular realizadas no momento da IATF, oito dias após a inseminação e no diagnóstico de gestação. Foram utilizadas 125 vacas Nelore lactantes submetidas a protocolo de sincronização da ovulação à base de estrógeno e progesterona. Amostras de sangue foram coletadas no momento da IATF e no diagnóstico de gestação (D40) para análise de glicose, AGNE, BHB, IGF-1 e insulina. Em um subgrupo de animais (n = 20), foi realizada aspiração folicular no D18 para avaliação das concentrações de IGF-1 e insulina no fluido folicular. A análise estatística foi realizada utilizando o SAS. As concentrações séricas de glicose, AGNE, BHB, IGF-1 e insulina foram semelhantes entre vacas gestantes e não gestantes no momento da IATF e no diagnóstico de gestação ($P > 0,05$). Além disso, as concentrações séricas e foliculares de IGF-1 e insulina no D18 também não diferiram entre os grupos experimentais. Concluiu-se que vacas *Bos indicus* gestantes e não gestantes após o protocolo de sincronização da ovulação apresentaram perfil metabólico e hormonal semelhante, não sendo um marcador de fertilidade. Esses resultados reforçam que a fertilidade de vacas *Bos indicus* submetidos à IATF é um processo multifatorial, dependente da interação entre fatores metabólicos, hormonais, fisiológicos e ambientais.

Palavras-chave: biomarcadores; prenhez; *Bos indicus*

ABSTRACT

Reproductive efficiency is one of the main factors associated with beef cattle performance and is directly influenced by the metabolic and hormonal status of females. In this context, the objective of this study was to evaluate the metabolic and hormonal profiles of pregnant and non-pregnant *Bos indicus* cows subjected to timed artificial insemination (TAI), through blood and follicular fluid collections performed at the time of TAI, eight days after insemination, and at pregnancy diagnosis. A total of 125 lactating Nelore cows were subjected to an ovulation synchronization protocol based on estrogen and progesterone. Blood samples were collected at the time of TAI and at pregnancy diagnosis (D40) for analysis of glucose, NEFA, BHB, IGF-1, and insulin. In a subgroup of animals (n = 20), follicular aspiration was performed on D18 to evaluate IGF-1 and insulin concentrations in the follicular fluid. Statistical analyses were performed using SAS software. Serum concentrations of glucose, NEFA, BHB, IGF-1, and insulin were similar between pregnant and non-pregnant cows at the time of TAI and at pregnancy diagnosis ($P > 0.05$). In addition, serum and follicular concentrations of IGF-1 and insulin on D18 also did not differ between experimental groups. It was concluded that pregnant and non-pregnant *Bos indicus* cows after the ovulation synchronization protocol exhibited similar metabolic and hormonal profiles, indicating that these parameters are not reliable fertility markers. These results reinforce that the fertility of *Bos indicus* cows subjected to fixed-time artificial insemination (TAI) is a multifactorial process, dependent on the interaction among metabolic, hormonal, physiological, and environmental factors.

Keywords: biomarkers; pregnancy; *Bos indicus*

INDICADORES DE IMPACTO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o perfil metabólico e hormonal de vacas *Bos indicus* submetidas à inseminação artificial em tempo fixo (IATF), buscando identificar possíveis biomarcadores associados ao sucesso gestacional. Os resultados demonstraram que as concentrações séricas de glicose, ácidos graxos não esterificados (AGNE), β -hidroxibutirato (BHB), insulina e IGF-1, bem como as concentrações foliculares de insulina e IGF-1, não diferiram entre vacas gestantes e não gestantes, indicando que esses parâmetros, nas condições avaliadas, não constituem marcadores confiáveis de fertilidade. Embora não tenham sido identificados biomarcadores preditivos, o estudo gera importante impacto tecnológico ao fornecer evidências científicas que direcionam futuras pesquisas e evitam investimentos em ferramentas diagnósticas com baixa capacidade preditiva. Os resultados contribuem para o aprimoramento dos protocolos de IATF e para a melhor compreensão dos fatores que influenciam a fertilidade em bovinos de corte, reforçando que o sucesso reprodutivo depende da interação entre aspectos metabólicos, hormonais, fisiológicos e ambientais. Do ponto de vista econômico, os conhecimentos gerados podem auxiliar médicos-veterinários, técnicos e produtores rurais na tomada de decisões mais eficientes, favorecendo a otimização dos programas reprodutivos e a utilização racional de recursos financeiros. Socialmente, o trabalho beneficia a cadeia produtiva da bovinocultura de corte ao fortalecer a produção científica nacional e contribuir para a capacitação de profissionais e estudantes envolvidos na pesquisa. O estudo contou com a participação de propriedades rurais parceiras, promovendo integração entre universidade e setor produtivo e apresentando potencial de aplicação em sistemas de produção de bovinos de corte em diferentes regiões do país. Dessa forma, os resultados estão alinhados aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável relacionados à agricultura sustentável, ao crescimento econômico e à produção responsável, contribuindo para o avanço científico e tecnológico da pecuária brasileira.

IMPACT INDICATORS

The present study aimed to evaluate the metabolic and hormonal profile of *Bos indicus* cows subjected to timed artificial insemination (TAI) in order to identify potential biomarkers associated with pregnancy success. The results demonstrated that serum concentrations of glucose, non-esterified fatty acids (NEFA), β -hydroxybutyrate (BHB), insulin, and IGF-1, as well as follicular concentrations of insulin and IGF-1, did not differ between pregnant and non-pregnant cows, indicating that these variables are not reliable fertility biomarkers under the evaluated conditions. Although predictive biomarkers were not identified, the study provides an important technological contribution by generating scientific evidence that helps guide future research and prevents unnecessary investments in diagnostic approaches with limited predictive value. The findings improve the understanding of reproductive physiology in beef cattle and support the refinement of TAI programs by demonstrating that fertility is influenced by multiple metabolic, hormonal, physiological, and environmental factors. Economically, the results may support veterinarians, researchers, and cattle producers in making more efficient reproductive management decisions, contributing to improved productivity and resource allocation. Socially, the research strengthens the Brazilian beef production chain through scientific knowledge generation, professional training, and collaboration between the Federal University of Lavras and partner farms, promoting knowledge transfer to the productive sector. The study is aligned with the United Nations Sustainable Development Goals related to sustainable agriculture, decent work and economic growth, responsible production, and terrestrial ecosystem sustainability.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	ECC, concentração sérica de IGF-1, Insulina, AGNE e BHB no momento da inseminação artificial e no diagnóstico de gestação de vacas Nelore gestantes e não gestantes	37
Tabela 2	ECC, concentração sérica e no fluido folicular de IGF-1 e Insulina no D18 de vacas Nelore gestantes e não gestantes	37

LISTA DE SIGLAS

AGNE	Ácidos graxos não esterificados
BHB	β -hidroxibutirato
BE	Benzoato de estradiol
BEN	Balanço energético negativo
CE	Cipionato de estradiol
D	Dia
DG	Diagnóstico de gestação
ECC	Escore de condição corporal
eCG	Gonadotrofina coriônica equina
FSH	Hormônio folículo estimulante
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofina
IATF	Inseminação artificial em tempo fixo
IGF-1	Fator de crescimento semelhante à Insulina tipo 1
LH	Hormônio luteinizante
mg	Miligramas
P	Significância
P4	Progesterona
PGF2 α	Prostaglandina F2 α
UI	Unidades internacionais

SUMÁRIO

	PRIMEIRA PARTE	11
1	INTRODUÇÃO	11
2	REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1	Anestro pós-parto	14
2.2	Fisiologia do folículo ovariano	15
2.3	Hormônios e metabólitos na reprodução	17
2.3.1	Insulina e IGF-1	17
2.3.2	Glicose	18
2.3.3	β-hidroxibutirato	20
2.3.4	Ácidos graxos não esterificados	21
2.4	Biomarcadores hormonais e metabólicos na predição da fertilidade	22
	REFERÊNCIAS	23
	SEGUNDA PARTE – ARTIGO	29
	ARTIGO - Perfil metabólico e hormonal no momento da inseminação artificial e no diagnóstico de gestação de vacas <i>bos indicus</i> gestantes ou não	30
	TERCEIRA PARTE	43
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	43

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

A eficiência reprodutiva é fator determinante para a sustentabilidade e rentabilidade da pecuária de corte, especialmente no Brasil, onde a raça Nelore (*Bos indicus*) é predominante nos sistemas produtivos devido à sua rusticidade e adaptabilidade ao clima tropical do país. Entretanto, as características produtivas e reprodutivas dessa raça, aliadas ao sistema extensivo de criação, e com baixa detecção de estros, impõem desafios adicionais ao manejo reprodutivo. Nesse contexto, as biotecnologias de reprodução, como a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) permitem a sincronização do estro e a padronização dos partos, além de facilitar o uso de genética superior (Gonçalves et al., 2025). Essa biotecnologia é amplamente utilizada para aumentar os índices reprodutivos e melhorar o desempenho produtivo do rebanho brasileiro (Baruselli et al., 2017).

A IATF permite a sincronização da ovulação sem necessidade de detecção de estro, facilitando o manejo e possibilitando a inseminação de um grande número de animais, o que padroniza a estação reprodutiva e o nascimento dos bezerros (Gonçalves et al., 2025). Atualmente, com o avanço das pesquisas, os protocolos de sincronização da ovulação estão bem estabelecidos na pecuária de corte, promovendo ganhos significativos na eficiência reprodutiva de vacas Nelore (Baruselli et al., 2018).

No entanto, apesar da correta utilização dos protocolos hormonais, as taxas de concepção ainda podem ser variadas demonstrando que existem outros fatores além do manejo hormonal que podem influenciar diretamente a concepção. Dentre esses fatores destacam-se a deficiência nutricional causada pela baixa quantidade e/ou qualidade de forragem ofertada, além de baixa condição corporal e metabólica da fêmea (Baruselli et al., 2012). Tais fatores podem influenciar diretamente a dinâmica folicular, a qualidade oocitária e a sobrevivência embrionária (Constantin et al., 2023).

Em sistemas de produção de bovinos de corte, a fertilidade das matrizes é um dos pilares da eficiência produtiva. No pós-parto imediato, as vacas enfrentam um período crítico caracterizado por altas exigências nutricionais devido à lactação e à necessidade de retorno à ciclicidade reprodutiva. Esse aumento na demanda energética, aliado à baixa ingestão alimentar em sistemas extensivos, resulta frequentemente em balanço energético negativo (BEN), o qual leva à mobilização de reservas corporais, elevação da concentração sérica de ácidos graxos não

esterificados (AGNE) e β -hidroxibutirato (BHB), e redução das concentrações de glicose, insulina e IGF-1 (Constantin *et al.*, 2023).

As alterações no perfil metabólico e hormonal observadas em situações de déficit nutricional, como no pós-parto, impactam diretamente o retorno à ciclicidade. Concentrações elevadas de IGF-1 aumentam a expressão de receptores de FSH e promovem a secreção de estradiol nas células da granulosa, favorecendo o crescimento folicular e a maturação oocitária (Fontes *et al.*, 2021). A insulina participa da captação de glicose e regula o metabolismo energético do oócito, influenciando sua qualidade e viabilidade (Sheetal; Prasad; Gupta, 2018). Já a glicose, essencial para a maturação citoplasmática, deve estar em equilíbrio, pois tanto sua deficiência quanto seu excesso afetam negativamente o desenvolvimento embrionário (Bauman; Bruce Currie, 1980). Esses metabólitos e hormônios também impactam diretamente a competência oocitária e a qualidade embrionária, elementos determinantes para o sucesso da concepção e estabelecimento da gestação. Embriões originados de oócitos maturados sob condições subótimas apresentam menor taxa de clivagem e maior incidência de bloqueio no desenvolvimento, comprometendo o reconhecimento materno da gestação e aumentando o risco de perdas embrionárias precoces (Mann; Lamming, 2001).

Nesse contexto, parâmetros metabólicos e hormonais podem servir como indicadores da capacidade reprodutiva no pós-parto. A avaliação do perfil metabólico no soro e no fluido folicular tem se mostrado ferramenta promissora para a identificação de biomarcadores de fertilidade. O líquido folicular, faz parte do microambiente responsável pela preparação do oócito para a fecundação. O estado metabólico sistêmico interfere no fluido folicular, de modo que a concentração de metabólitos (BHB e AGNE) e hormônios (insulina, glicose e IGF-1) pode se correlacionar com a qualidade oocitária, competência embrionária e sucesso da implantação e da gestação (Catalán *et al.*, 2022).

Dessa forma, análises realizadas no momento da IATF podem revelar desequilíbrios energéticos e hormonais que não seriam detectáveis apenas por observações clínicas ou por exames ultrassonográficos. (Barrera; Naranjo-Gomez; Rondón-Barragán, 2023; Gonçalves *et al.*, 2025).

Assim, o presente estudo teve como objetivo identificar o perfil metabólico e hormonal no momento da IATF (soro), oito dias após a IATF (fluido folicular e soro) e no diagnóstico de gestação (soro) de vacas *Bos indicus* gestantes ou não submetidas ao protocolo de sincronização da ovulação. A hipótese do estudo é que vacas gestantes 30 dias após a IATF, apresentam status metabólico e hormonal diferente de vacas não gestantes. Com isso, os resultados podem contribuir para a compreensão dos fatores metabólicos e hormonais envolvidos no sucesso

reprodutivo, auxiliando no desenvolvimento de novas estratégias de manejo nutricional e reprodutivo.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Anestro pós-parto

O desempenho produtivo na pecuária de corte está diretamente relacionado à eficiência reprodutiva das fêmeas. Para que a vaca produza um bezerro a cada ano, é necessário que a concepção ocorra até 75 dias após o parto. No entanto, muitas vacas apresentam prolongado período de anestro pós-parto influenciado por fatores nutricionais, fisiológicos e pela presença do bezerro (Crowe, 2008; Y. Yavas; J. S. Walton, 2000). Após o parto, aproximadamente após três dias, o FSH volta a ser secretado em níveis fisiológicos.

No entanto, os níveis de LH podem levar até três semanas para se restabelecer. Em vacas com bom escore de condição corporal (ECC), a primeira ovulação pós-parto tende a ocorrer por volta dos 30 dias. Porém, em animais com baixo ECC, esse retorno pode ocorrer acima de 70 dias (Crowe, 2008). O ECC é um indicador do estado nutricional do animal amplamente utilizado para estimar visualmente as reservas de gordura corporal, fornecendo de forma prática, o seu estado energético e nutricional (Lima *et al.*, 2022). A escala mais comumente utilizada é a de (Edmonson *et al.* 1989), na qual as vacas são classificadas de um a cinco pontos, com incrementos de 0,25 ponto, sendo 1 para vacas consideradas muito magras e 5 para vacas obesas (Pfeifer; Da Silva, 2021).

As alterações nos valores de ECC são importantes indicadores de BEN, pois o desequilíbrio energético é um dos elementos que mais interferem no desempenho reprodutivo. Vacas que apresentam ECC elevado no momento do parto têm maior risco de desenvolver doenças metabólicas no período pós-parto, enquanto aquelas com ECC baixo tendem a apresentar menor taxa de prenhez e baixa produção de leite (Petrucelli, 2023). Assim, o valor de ECC que pode ser considerado como o ideal no parto está entre 3,0 e 3,5, pois esse intervalo pode minimizar os efeitos causados pelo BEN, além de reduzir a incidência de cetose e melhorar a recuperação energética, favorecendo desempenho produtivo e reprodutivo da vaca (Stadnik; Atasever; Ducháček, 2017).

A atividade do eixo hipotálamo-hipófise tem papel determinante na duração do anestro fisiológico, uma vez que a retroalimentação negativa dos esteroides (P4) durante a gestação inibe a secreção de FSH e LH, impedindo o desenvolvimento folicular (Sartori; Barros, 2011). Dessa forma, após o parto, o retorno da liberação de FSH e LH ocorra de forma coordenada, promovendo o crescimento final do folículo dominante e a produção de estradiol suficiente para induzir o pico de GnRH e, por consequência, a ovulação (Crowe, 2008).

Grande parte do rebanho bovino no Brasil é mantido em sistema extensivo, onde a qualidade e a disponibilidade das pastagens não são suficientes para suprir as exigências nutricionais de vacas em lactação. Essa limitação nutricional contribui significativamente o BEN, levando à mobilização de reservas corporais e consequentemente aumento de metabólitos como AGNE e BHB (Crowe; Diskin; Williams, 2014). O aumento desses metabólitos associado ao neuropeptídeo Y (NPY), exerce um efeito inibitório sobre a liberação de GnRH no hipotálamo, reduzindo assim a secreção de LH (Hess *et al.*, 2005). Essa alteração no eixo hipotálamo-hipófise tem sido confirmada em estudos que demonstraram a redução dos níveis séricos de LH em vacas submetidas à restrição alimentar (Lucy *et al.*, 1992). Além de afetar diretamente os hormônios reprodutivos, o BEN compromete o funcionamento do eixo endócrino ao reduzir a concentração circulante do fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1), essencial para a transição dos folículos da fase independente para a fase dependente de gonadotrofinas, além de aumentar a sensibilidade dos folículos ao FSH e ao LH, promovendo a proliferação celular e a síntese de estradiol (Grummer; Mashek; Hayirli, 2004; Silva; Figueiredo; Van den Hurk, 2009).

2.2 Fisiologia do folículo ovariano

Na fêmea bovina, o desenvolvimento folicular ocorre de forma cíclica, em um padrão conhecido como ondas foliculares. Em cada onda, um grupo de folículos antrais inicia o crescimento de maneira simultânea. Dentre esses folículos, um é selecionado e passa a ser denominado folículo dominante (FD), enquanto os demais tornam-se subordinados, interrompem o crescimento e entram em processo de regressão (Aerts; Bols, 2010).

A seleção do FD é caracterizada pelo momento em que atinge, em média 6 mm de diâmetro (Gimenes *et al.*, 2008). Esse fenômeno, conhecido como desvio folicular, está associado ao aumento da expressão de receptores de LH nas células da granulosa, além de elevação das concentrações intrafoliculares de estradiol e IGF-1, o qual prepara o folículo que se tornará dominante para responder a concentrações decrescentes de FSH e a liberação tônica de LH (Ginther, 2016; Zeleznik, 2004).

Modelos genéticos associados à alta fecundidade em ruminantes, como mutações no gene *BMPRI1B* (*Bone Morphogenetic Protein Receptor Type 1B*) demonstram que, múltiplos folículos podem adquirir dominância quando apresenta retardo na supressão de FSH, permitindo assim o crescimento e desenvolvimento de mais folículos dominantes (Garcia-Guerra *et al.*, 2018).

Após desvio, o FD segue em crescimento enquanto os folículos subordinados sofrem atresia. O crescimento final do FD até a ovulação é sustentado pela ação do LH, tornando-se a principal gonadotrofina de suporte à medida que a concentração de FSH diminui. O aumento da expressão de receptores de LH nas células da granulosa permite que o FD continue a produzir estradiol, elevando significativamente as concentrações plasmáticas desse hormônio (Fortune *et al.*, 2001). Conforme o folículo atinge o estágio pré-ovulatório, ocorre elevação progressiva nas concentrações de estradiol, induzindo o pico de LH pela hipófise que desencadeia a retomada da meiose do oócito, a luteinização das células foliculares e a ovulação (Sartori *et al.*, 2001).

Após a ovulação, o ambiente folicular assume papel fundamental na determinação da qualidade oocitária. O fluido folicular é considerado crucial para os processos de maturação nuclear e citoplasmática do oócito, por fornecer condições ideais para a expansão das células do complexo cumulos oócito e para a retomada da meiose. Estudos em bovinos apontam que o líquido folicular coletado cerca de 20 h após o pico de LH melhora as taxas de clivagem e a formação de blastocistos *in vitro* em comparação ao uso de meios padrão sem líquido folicular (Romero-Arredondo; G.E. Seidel, 1998). Além disso, fluidos provenientes de folículos grandes (> 10 mm) promovem maior desenvolvimento embrionário do que aqueles oriundos de folículos pequenos, sugerindo que a composição hormonal do líquido folicular é importante para a competência oocitária (Harl *et al.*, 2025).

Além de atuar como um meio nutritivo, o fluido folicular atua como interface bioquímica entre células da granulosa e oócito. A presença de hormônios, citocinas, metabólitos e vesículas extracelulares presentes nesse microambiente regulam o crescimento oocitário, sua habilidade para fertilização e a capacidade de originar embriões viáveis. Estudos com modelos de maturação *in vitro*, suplementados com fluido folicular demonstraram aumento significativo na expansão das células do cúmulo, indução precoce da maturação nuclear e aumento nas taxas de fertilização, evidenciando a interação entre fluido folicular, células foliculares e oócitos (Covelo; Puente; Tartaglione, 2022). Em adição, estudos que investigam a relação entre a composição do fluido folicular e o sucesso reprodutivo indicam que, maiores concentrações de metabólitos energéticos e aminoácidos no fluido do folículo pré-ovulatório estão associadas a maior competência oocitária e melhor qualidade embrionária (Hessock *et al.*, 2023). Esses dados reforçam que a composição bioquímica do fluido folicular no momento da ovulação pode ser um indicativo de sucesso na fertilização e no desenvolvimento embrionário.

Dessa forma, o fluido folicular não apenas contribui para a maturação oocitária, mas também emerge como uma ferramenta promissora para a identificação de biomarcadores reprodutivos sem avaliar diretamente o oócito (Guerreiro *et al.*, 2018).

2.3 Hormônios e metabólitos na reprodução

2.3.1 Insulina e IGF-1

A insulina e o IGF-1 são hormônios essenciais na regulação do metabolismo energético e na função reprodutiva de bovinos. A insulina, secretada pelo pâncreas, regula o metabolismo da glicose, lipídeos e proteínas, promovendo a captação de glicose e atuação anabólica. Em bovinos *Bos indicus*, concentração adequada de insulina está associada à otimização do ciclo folicular e maior taxa de prenhez em programas de IATF (Gobikrushanth *et al.*, 2018). A insulina participa da captação da glicose e regula o metabolismo energético do oócito, influenciando sua qualidade e viabilidade (Sheetal; Prasad; Gupta, 2018). Além disso, estimula o transporte de glicose para as células da granulosa, promovendo a produção de ATP, essencial para a maturação nuclear e citoplasmática do oócito, síntese de proteínas e estabilidade do ambiente intracelular (Grummer; Mashek; Hayirli, 2004). Em concentrações fisiológicas adequadas, a insulina melhora a competência oocitária. No entanto, em níveis elevados ou baixos podem prejudicar a viabilidade embrionária.

O IGF-1 é produzido principalmente no fígado em resposta ao estímulo de GH. Esse fator de crescimento atua em sinergia com a insulina na regulação do recrutamento folicular, maturação de oócitos e desenvolvimento embrionário (Gobikrushanth *et al.*, 2018). Estudos indicam que, o eixo somatotrópico (GH-insulina-IGF-1) de vacas *Bos indicus* apresenta maior resistência às restrições energéticas, o que mantém níveis mais estáveis de insulina e IGF-1, além de melhor taxa de concepção comparado a vacas *Bos taurus* (Fontes *et al.*, 2021).

Em bovinos, insulina e IGF-1 são hormônios que apresentam grande importância no contexto reprodutivo. Os níveis adequados de insulina estão relacionados com melhor ambiente metabólico para o desenvolvimento folicular e ovulação (Velazquez; Spicer; Wathes, 2008). O IGF-1, por sua vez, atua em sinergia com a insulina e as gonadotrofinas na regulação do eixo hipotálamo-hipófise-ovário, sendo fundamental para o crescimento e a dominância folicular, além de estar associado a um maior número de receptores de LH, o que favorece a ovulação e a luteinização (Wiltbank; Gtimen; Sartori, 2002). O IGF-1 aumenta a expressão de receptores de FSH nas células da granulosa, potencializando a resposta dessas células ao estímulo das

gonadotrofinas. Esse mecanismo é essencial para desenvolvimento do FD e produção de estradiol, hormônio necessário para o sucesso ovulatório. Assim, folículos que recebem suporte adequado de IGF-1 apresentam maior taxa de crescimento e viabilidade celular (Silva; Figueiredo; Van den Hurk, 2009).

Em sistemas de produção tropical, no qual a nutrição é frequentemente limitante, as concentrações circulantes de insulina e IGF-1 refletem diretamente o estado nutricional e energético dos animais, o que impacta fortemente a eficiência reprodutiva. Vacas em BEN apresentam concentrações reduzidas desses hormônios, o que compromete a função ovariana e reduz a taxa de concepção (Velazquez, 2023).

Nos ruminantes, os alimentos consumidos passam pelo rúmen, onde sofrem fermentação microbiana, originando ácidos graxos de cadeia curta, que são utilizados como fonte energética primária. Isso ocorre porque os carboidratos ingeridos servem como substrato para a microbiota ruminal (Bauman; Bruce Currie, 1980; Reynolds *et al.*, 1988). Diferentemente dos animais monogástricos, os ruminantes produzem glicose principalmente por meio da gliconeogênese hepática. Em vacas leiteiras de alta produção, que podem chegar a produzir 40 kg de leite por dia, estima-se que cerca de 3 kg de glicose sejam sintetizados diariamente (Aschenbach *et al.*, 2010; Habel; Sundrum, 2020).

2.3.2 Glicose

A glicose desempenha papel central no fornecimento de energia ao cérebro e aos diversos tecidos do organismo animal. Dessa forma, vários processos fisiológicos vitais, como a atividade imunológica, o metabolismo energético, a produção de leite e a função reprodutiva, dependem de sua disponibilidade em níveis adequados (Silva *et al.*, 2022). No entanto, durante o final da gestação e o início da lactação, a exigência por glicose aumenta consideravelmente, tornando-se necessária uma gestão eficiente da utilização desse nutriente pelo fígado, tecido adiposo, musculatura esquelética e demais órgãos maternos (Aldoretta; Hay, 1999; Fiore *et al.*, 2014; Morgante *et al.*, 2012). Com o início da lactação, a demanda por glicose aumenta em cerca de 2,7 vezes em relação ao período pré-lactação. Esse aumento ocorre devido à necessidade de síntese de lactose, o principal componente do leite (Sundrum, 2015). O organismo então prioriza o fornecimento de glicose para a glândula mamária, em detrimento de outros tecidos. Essa priorização ocorre principalmente porque as células da glândula mamária expressam transportadores de glicose independentes da insulina, ao contrário dos tecidos como

o músculo esquelético e o tecido adiposo, cujos transportadores são insulín-dependentes (Bell; Bauman, 1997; Zhao; Glimm; Kennelly, 1993).

A glicose, embora não seja metabolizada diretamente pelo oócito, é convertida em piruvato e lactato pelas células do cumulus e da granulosa, sendo esses metabólitos essenciais para a maturação nuclear e citoplasmática do oócito (Velazquez; Spicer; Wathes, 2008). Portanto, a deficiência de glicose, comum em vacas em BEN, compromete a competência oocitária, reduz a taxa de fecundação e prejudica o desenvolvimento embrionário. Por outro lado, concentrações elevadas de glicose, observado em animais com superalimentação ou em meios de cultivo *in vitro* com hiperglicemia, podem desencadear estresse oxidativo que compromete a integridade do oócito e a viabilidade embrionária (Lonergan *et al.*, 2016). Esses efeitos de hipoglicemia e hiperglicemia podem afetar negativamente os estágios iniciais da reprodução.

Além da qualidade oocitária, a glicose influencia diretamente o crescimento e a funcionalidade dos folículos ovarianos. As células da granulosa utilizam glicose como fonte para produção de estradiol, e a sua restrição está associada à redução da esteroidogênese e à atresia folicular. Já no desenvolvimento embrionário, exerce papel importante na meiose, compactação e formação de blastocistos. No entanto, altas concentrações podem interferir no metabolismo mitocondrial e promover apoptose embrionária precoce, dificultando a implantação e reduzindo as taxas de prenhez (BÓ *et al.*, 2002).

A glicose também modula a liberação de GnRH pelo hipotálamo, e do LH pela hipófise anterior. A hipoglicemia provoca redução dos pulsos de GnRH, inibindo a liberação de LH e retardando a retomada da ciclicidade pós-parto (Hess *et al.*, 2005). O sistema nervoso central interpreta a baixa glicemia como sinal de escassez energética e prioriza funções de sobrevivência, inibindo assim os estímulos reprodutivos. Por isso, os níveis de glicose são cruciais para manter a atividade reprodutiva, garantindo a ovulação e a fertilidade.

Segundo um estudo, vacas Holandesas submetidas à infusão intravenosa de BHB nas duas semanas anteriores e posteriores ao parto apresentaram queda na concentração plasmática de glicose (Zarrin *et al.*, 2017). Os autores atribuíram esse efeito à influência do BHB na regulação do metabolismo glicídico, destacando que a hipoglicemia pós-parto pode estar associada à inibição da gliconeogênese. Nesse contexto, o monitoramento da glicemia surge como uma estratégia útil para avaliar o estado metabólico das vacas, sendo uma ferramenta relevante para identificar a capacidade de adaptação ao BEN.

2.3.3 β -hidroxibutirato

O BHB é um corpo cetônico produzido no fígado a partir da oxidação incompleta de ácidos graxos, sendo considerado um indicador metabólico de mobilização lipídica em períodos de BEN (Chapinal *et al.*, 2012). Em vacas leiteiras, principalmente no período de transição, níveis elevados de BHB demonstra resposta adaptativa insuficiente do animal frente à alta demanda energética do início da lactação (Ospina *et al.*, 2010). Embora o BHB seja amplamente estudado em vacas leiteiras de alta produção, sua avaliação em *Bos indicus*, como o Nelore, também pode ter relevância para a reprodução no pós-parto em programas de IATF.

Concentração sanguínea elevada de BHB em vacas leiteiras está comumente relacionada a doenças características do período de transição, como cetose, retenção de placenta e metrite. A cetose subclínica é frequentemente identificada quando os níveis de BHB ultrapassam 1.000 $\mu\text{mol/L}$ (Leblanc; Leslie; Duffield, 2005; Ospina *et al.*, 2010).

Ao contrário das vacas leiteiras que apresentam altas demandas glicídicas para sustentar a lactação intensa, vacas de corte têm produção significativamente menor de leite. No entanto, o desmame tardio, o baixo ECC ao parto e a demora na recuperação nutricional podem levar à alta mobilização de reservas corporais, resultando no aumento de metabólitos como BHB e AGNE. Essa condição metabólica compromete o retorno à ciclicidade ovariana e a taxa de prenhez (Astessiano *et al.*, 2013; Phillips *et al.*, 2018). Estudos têm demonstrado que elevados níveis de BHB em vacas Nelore no pós-parto estão associados a menor desempenho reprodutivo do animal, pois vacas com maior concentração plasmática de BHB no dia da IATF apresentaram menor taxa de concepção quando comparadas a animais com perfis metabólicos adequados (Phillips *et al.*, 2018). Esse achado reforça a importância do monitoramento metabólico em sistemas de cria extensivos, onde as variações nutricionais são mais marcantes e o desafio reprodutivo é elevado.

Níveis elevados de BHB e AGNE associados ao BEN podem ser detectados também no fluido folicular. Esses metabólitos estão associados à redução da qualidade oocitária, uma vez que induzem estresse oxidativo, disfunção mitocondrial e alterações na comunicação entre o oócito e as células dos cúmulos, comprometendo a competência oocitária para a fertilização e o desenvolvimento embrionário. Esses efeitos negativos podem resultar em menor taxa de concepção e falhas na manutenção da gestação, especialmente em vacas de corte com baixa condição corporal (Alforma *et al.*, 2023).

Além disso, concentrações elevadas de BHB podem refletir um estado de adaptação metabólica ineficiente, no qual o fígado é incapaz de converter os ácidos graxos mobilizados

em glicose de forma eficaz, resultando no acúmulo de corpos cetônicos. Esse cenário, mesmo na ausência de sinais clínicos evidentes, pode prejudicar tanto a qualidade do oócito, quanto a implantação embrionária, interferindo diretamente no sucesso dos protocolos hormonais aplicados em IATF (Astessiano *et al.*, 2013; Staples; Thatcher; Clark, 1990).

2.3.4 Ácidos graxos não esterificados

Os ácidos graxos não esterificados (AGNE) são moléculas de gordura liberadas na corrente sanguínea quando o animal mobiliza suas reservas corporais, especialmente em situações de balanço energético negativo. O aumento das concentrações de AGNE é considerado como importante indicador de estado metabólico da vaca, podendo impactar negativamente a sua fertilidade (Alforma *et al.*, 2023).

Durante o final da gestação e início da lactação, vacas *Bos indicus* podem mobilizar reservas lipídicas, elevando os níveis de AGNE no sangue devido ao BEN. Em estudo foi verificado aumento expressivo nos níveis de AGNE no final da gestação em vacas Nelore submetidas a dietas com 70% das exigências nutricionais. Apesar de as vacas zebuínas apresentarem maior tolerância metabólica do que as vacas taurinas, esse achado demonstra que mesmo em sistemas de cria extensiva, o aumento de AGNE pode ocorrer, refletindo desequilíbrios energéticos com potenciais impactos sobre a reprodução (Ferreira *et al.*, 2021).

Estudos têm demonstrado que valores de AGNE acima de 0,7 mmol/L no pós-parto têm sido associados a maior risco de anestro e à retomada tardia da ciclicidade ovariana. A elevação subclínica do AGNE pode estar relacionada à menor taxa de concepção em protocolos de IATF, especialmente em fêmeas com baixo ECC. Além disso, concentrações elevadas de AGNE estão associadas à inibição do eixo somatotrófico, com redução nos níveis de IGF-1, prolongando o anestro pós-parto e comprometendo a qualidade dos oócitos. (Galindo *et al.*, 2013). Em outro estudo, vacas com ECC moderado e alimentação balanceada apresentaram menores concentrações de AGNE e retomaram o ciclo ovulatório mais precocemente do que vacas magras. Além disso, foi observado que vacas com ganho de peso entre 0,45 e 0,90 kg/dia no pós-parto apresentaram redução significativa nos níveis de AGNE, maior taxa de ovulação e melhor desempenho reprodutivo (Ciccioli *et al.*, 2003).

Dessa forma, a mensuração dos níveis de AGNE no período periparto tem se mostrado uma ferramenta eficiente para identificar precocemente fêmeas com maior risco de falhas reprodutivas. A avaliação dos AGNE, especialmente nas três primeiras semanas após o parto,

permite a adoção de ajustes nutricionais ou de manejo que favoreçam a recuperação metabólica e a retomada da atividade ovariana, otimizando os resultados reprodutivos em vacas de corte.

2.4 Biomarcadores hormonais e metabólicos na predição da fertilidade

Os biomarcadores são parâmetros mensuráveis em fluidos biológicos que refletem o estado fisiológico ou patológico, servindo como indicadores da saúde reprodutiva e do potencial fertilizante dos animais (D'occhio; Baruselli; Campanile, 2019).

A verificação dos níveis de P4 no leite é um importante marcador de presença de corpo lúteo ativo e indireto do estado reprodutivo do animal. Além disso, perfis metabólicos e hormonais, tanto no plasma quanto no fluido folicular, têm sido associados à competência oocitária e às taxas de prenhez em bovinos (Luke *et al.*, 2024; Zachut *et al.*, 2020). Os metabólitos formados pela mobilização de reservas corporais (AGNE e BHB), quando presentes em elevadas concentrações no plasma podem indicar alterações no balanço energético, o que reflete diretamente na redução da fertilidade e taxa de prenhez (Luke *et al.*, 2024). De acordo com (Schiffers *et al.* 2024), desequilíbrios energéticos caracterizados por BHB e AGNE podem comprometer a resposta do folículo ao eixo somatotrófico, reduzindo sua funcionalidade reprodutiva (Schiffers *et al.*, 2024).

Os níveis de glicose são fundamentais para fornecer energia ao oócito, sendo indispensáveis para a sua maturação. A deficiência de glicose indica estado de estresse metabólico, o que pode comprometer a maturação oocitária e o potencial de desenvolvimento embrionário (Pawlak *et al.*, 2024). Já hormônios como insulina e IGF-1 estão relacionadas com o crescimento folicular e qualidade do ambiente intrafolicular. Portanto, quando em níveis adequados favorecem a fertilização e a maturação da gestação (Dai *et al.*, 2022).

REFERÊNCIAS

- AERTS, J. M. J.; BOLS, P. E. J. Ovarian follicular dynamics. A review with emphasis on the bovine species. Part II: Antral development, exogenous influence and future prospects. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 45, n. 1, p. 180–187, 2010.
- ALDORETTA, P. W.; HAY, W. W. Effect of glucose supply on ovine uteroplacental glucose metabolism. **American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, v. 277, n. 4 46-4, p. 947–958, 1999.
- ALFORMA, A. M. P. *et al.* Influence of weaning management at 30, 75 and 180 days of age on non-esterified fatty acids and reproductive performance in beef cows. **J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)**, v. 107, n. 2, p. 407–417, 2023.
- ASCHENBACH, J. R. *et al.* Gluconeogenesis in dairy cows: The secret of making sweet milk from sour dough. **IUBMB Life**, v. 62, n. 12, p. 869–877, 2010.
- ASTESSIONO, A. L. *et al.* Metabolic, productive and reproductive responses to postpartum short-term supplementation in primiparous beef cows. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 42, n. 4, p. 246–253, 2013.
- BARRERA, S. S.; NARANJO-GOMEZ, J. S.; RONDÓN-BARRAGÁN, I. S. Thermoprotective molecules: Effect of insulin-like growth factor type I (IGF-1) in cattle oocytes exposed to high temperatures. **Heliyon**, v. 9, n. 3, 2023.
- BARUSELLI, P. S. *et al.* History, evolution and perspectives of timed artificial insemination programs in Brazil. **Animal Reproduction**, v. 9, n. 3, p. 139–152, 2012.
- BARUSELLI, P. S. *et al.* Review: Using artificial insemination v. natural service in beef herds. **Animal**, v. 12, n. s1, p. s45–s52, 2018.
- BARUSELLI, P. S. *et al.* 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.
- BAUMAN, D. E.; BRUCE CURRIE, W. Partitioning of Nutrients During Pregnancy and Lactation: A Review of Mechanisms Involving Homeostasis and Homeorhesis. **Journal of Dairy Science**, v. 63, n. 9, p. 1514–1529, 1980.
- BELL, A. W.; BAUMAN, D. E. Adaptations of glucose metabolism during pregnancy and lactation. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v. 2, n. 3, p. 265–278, 1997.
- BÓ, G. A. *et al.* The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. **Theriogenology**, v. 57, n. 1, p. 53–72, 2002.
- BROLEZE, D. F. *et al.* Feed efficiency and maternal productivity of *Bos indicus* beef cows. **PLoS ONE**, v. 15, n. 6, p. 1–16, 2020.
- CATALÁN, J. *et al.* Metabolic profiling of preovulatory follicular fluid in jennies. **Research**

in **Veterinary Science**, v. 153, n. August, p. 127–136, 2022.

CHAPINAL, N. *et al.* The association of serum metabolites in the transition period with milk production and early-lactation reproductive performance. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 3, p. 1301–1309, 2012.

CICCIOLI, N. H. *et al.* Influence of body condition at calving and postpartum nutrition on endocrine function and reproductive performance of primiparous beef cows. **Journal of Animal Science**, v. 81, n. 12, p. 3107–3120, 2003.

CONSTANTIN, N. T. *et al.* Predicting Pregnancy Outcome in Dairy Cows: The Role of IGF-1 and Progesterone. **Animals**, v. 13, n. 10, p. 1–12, 2023.

COVELO, I.; PUENTE, M. A.; TARTAGLIONE, C. M. Influence of Follicular Fluid on <i>in Vitro</i> Maturation and Fertilization of Bovine Oocytes. **Open Journal of Animal Sciences**, v. 12, n. 01, p. 118–128, 2022.

CROWE, M. A.; DISKIN, M. G.; WILLIAMS, E. J. Parturition to resumption of ovarian cyclicity: Comparative aspects of beef and dairy cows. **Animal**, v. 8, n. SUPPL. 1, p. 40–53, 2014.

CROWE, M. A. Resumption of ovarian cyclicity in post-partum beef and dairy cows. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 43, n. SUPPL. 5, p. 20–28, 2008.

D'OCCHIO, M. J.; BARUSELLI, P. S.; CAMPANILE, G. Metabolic health, the metabolome and reproduction in female cattle: a review. **Italian Journal of Animal Science**, v. 18, n. 1, p. 858–867, 2019.

DAI, S. *et al.* Effects of IGF-1 on the Three-Dimensional Culture of Ovarian Preantral Follicles and Superovulation Rates in Mice. **Biology**, v. 11, n. 6, p. 1–17, 2022.

EDMONSON, A. J. *et al.* A Body Condition Scoring Chart for Holstein Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 1, p. 68–78, 1989.

FERREIRA, M. F. DE L. *et al.* Effects of parity order on performance, metabolic, and hormonal parameters of grazing beef cows during pre-calving and lactation periods. **BMC Veterinary Research**, v. 17, n. 1, p. 1–15, 2021.

FIORE, E. *et al.* Glucose infusion response on some metabolic parameters in dairy cows during transition period. **Archives Animal Breeding**, v. 57, n. 1, p. 1–9, 2014.

FONTES, P. L. P. *et al.* Effects of nutrient restriction on the metabolic profile of *Bos indicus*-influenced and *B. taurus* suckled beef cows. **Animal**, v. 15, n. 3, p. 100166, 2021.

FORTUNE, J. E. *et al.* Fortune, 2001. **Differentiation of Dominant Versus Subordinate Follicles in Cattle**. v. 654, p. 648–654, 2001.

GALINDO, J. *et al.* Effect of Changes in Body Weight, Body Condition and Back Fat During Last Month of Pregnancy on the Reproductive Efficiency of *Bos indicus* Cows in the Tropics of Costa Rica. **Open Journal of Veterinary Medicine**, v. 03, n. 01, p. 22–28, 2013.

GARCIA-GUERRA, A. *et al.* Mechanisms regulating follicle selection in ruminants: Lessons learned from multiple ovulation models. **Animal Reproduction**, v. 15, n. Irrs, p. 660–679, 2018.

GIMENES, L. U. *et al.* Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. **Theriogenology**, v. 69, n. 7, p. 852–858, 2008.

GINTHER, O. J. The theory of follicle selection in cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 57, p. 85–99, 2016.

GOBIKRUSHANTH, M. *et al.* The relationship between serum insulin-like growth factor-1 (IGF-1) concentration and reproductive performance, and genome-wide associations for serum IGF-1 in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 10, p. 9154–9167, 2018.

GONÇALVES, L. DE P. N. *et al.* Reproductive Efficiency of Nelore Cows in Fixed-Time Artificial Insemination Programs with Early Resynchronization. **Veterinary Sciences**, v. 12, n. 1, 2025.

GRUMMER, R. R.; MASHEK, D. G.; HAYIRLI, A. Dry matter intake and energy balance in the transition period. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice**, v. 20, n. 3 SPEC. ISS., p. 447–470, 2004.

GUÉDON, L. *et al.* Their Relationship To the Resumption of Ovulation. **Theriogenology**, v. 51, p. 1405–1415, 1999.

GUERREIRO, T. M. *et al.* A metabolomic overview of follicular fluid in cows. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 5, n. FEB, p. 1–9, 2018.

HABEL, J.; SUNDRUM, A. Mismatch of glucose allocation between different life functions in the transition period of dairy cows. **Animals**, v. 10, n. 6, p. 1–21, 2020.

HARL, A. W. *et al.* Maturation of bovine cumulus oocyte complexes in follicular fluid with or without estradiol, progesterone or the combination affects cumulus cell expansion and blastocyst development. **PLoS ONE**, v. 20, n. 6, 2025.

HESS, B. W. *et al.* Nutritional controls of beef cow reproduction. **Journal of Animal Science**, v. 83, n. 13, p. 90–106, 2005.

HESSOCK, E. A. *et al.* Metabolite abundance in bovine preovulatory follicular fluid is influenced by follicle developmental progression post estrous onset in cattle. **Front Cell Dev Biol.**, v. 5, n. 11, 2023.

KIM, I. H.; SUH, G. H. Effect of the amount of body condition loss from the dry to near calving periods on the subsequent body condition change, occurrence of postpartum diseases, metabolic parameters and reproductive performance in Holstein dairy cows. **Theriogenology**, v. 60, n. 8, p. 1445–1456, 2003.

LEBLANC, S. J.; LESLIE, K. E.; DUFFIELD, T. F. Metabolic predictors of displaced abomasum in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 1, p. 159–170, 2005.

LIMA, R. A. DE *et al.* How body condition score affects milk production and the metabolic

parameters in postpartum crossbred dairy cows raised in Amazon biome? **Research, Society and Development**, v. 11, n. 6, p. e28511628970, 2022.

LONERGAN, P. *et al.* Embryo development in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 86, n. 1, p. 270–277, 2016.

LUCY, M. C. *et al.* Follicular dynamics, plasma metabolites, hormones and insulin-like growth factor I (IGF-I) in lactating cows with positive or negative energy balance during the preovulatory period. **Reproduction, nutrition, development**, v. 32, n. 4, p. 331–341, 1992.

LUKE, T. D. W. *et al.* Associations between serum health biomarker concentrations and reproductive performance, accounting for milk yield, in pasture-based Holstein cows in southeastern Australia. **Journal of Dairy Science**, v. 107, n. 1, p. 438–458, 2024.

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

MORGANTE, M. *et al.* Response to glucose infusion in pregnant and nonpregnant ewes: Changes in plasma glucose and insulin concentrations. **Comparative Clinical Pathology**, v. 21, n. 5, p. 961–965, 2012.

OSPINA, P. A. *et al.* Associations of elevated nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate concentrations with early lactation reproductive performance and milk production in transition dairy cattle in the northeastern United States. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 4, p. 1596–1603, 2010.

PAWLAK, P. *et al.* Energy metabolism disorders during in vitro maturation of bovine cumulus-oocyte complexes interfere with blastocyst quality and metabolism. **Developmental Biology**, v. 509, n. September 2023, p. 51–58, 2024.

PETRUCCELLI, G. T. **Avaliação da saúde no pós-parto de vacas de leite de alta produção tratadas com suplemento mineral injetável**. [s.l.] Universidade Federal de Lavras (UFLA), 2023.

PFEIFER, L.; DA SILVA, K. **Índice de escore de condição corporal (iECC): Ferramenta para monitorar ECC e aumentar a produtividade em rebanhos leiteiros**. Porto Velho: Embrapa Rondônia, 2021. 11 p. (Embrapa Rondônia. Comunicado Técnico, 415). ISSN 1414-9850. 2021.

PHILLIPS, K. M. *et al.* Plasma metabolomic profiles differ at the time of artificial insemination based on pregnancy outcome, in Bos taurus beef heifers. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–11, 2018.

REYNOLDS, C. K. *et al.* Net Portal-Drained Visceral and Hepatic Metabolism of Glucose, L-Lactate, and Nitrogenous Compounds in Lactating Holstein Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 71, n. 7, p. 1803–1812, 1988.

ROMERO-ARREDONDO, A.; G.E. SEIDEL, J. Effects of follicular fluid on fertilization and embryonic development of bovine oocytes in vitro. **Theriogenology**, v. 49, n. 6, p. 1103–

1112, 1998.

SARTORI, R. *et al.* Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. **Biology of Reproduction**, v. 65, n. 5, p. 1403–1409, 2001.

SARTORI, R. *et al.* Metabolic and endocrine differences between *Bos taurus* and *Bos indicus* females that impact the interaction of nutrition with reproduction. **Theriogenology**, v. 86, n. 1, p. 32–40, 2016.

SARTORI, R.; BARROS, C. M. Reproductive cycles in *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 124, n. 3–4, p. 244–250, 2011.

SCHAMS, D. *et al.* Profiles of LH, FSH and progesterone in postpartum dairy cows and their relationship to the commencement of cyclic functions. **Theriogenology**, v. 10, n. 6, p. 453–468, 1978.

SCHIFFERS, C. *et al.* Association between IGF-1 and IGFBPs in Blood and Follicular Fluid in Dairy Cows Under Field Conditions. **Animals**, v. 14, n. 16, p. 2370, 2024.

SHEETAL, S. K.; PRASAD, S.; GUPTA, H. P. Effect of insulin or insulin-like growth factor-I administration at mid-luteal phase of the estrous cycle during superovulation on hormonal profile of Sahiwal cows. **Veterinary World**, v. 11, n. 12, p. 1736–1741, 2018.

SILVA, A. S. *et al.* Effects of feeding 25-hydroxyvitamin D3 with an acidogenic diet during the prepartum period in dairy cows: Mineral metabolism, energy balance, and lactation performance of Holstein dairy cows. **J Dairy Sci**, v. 105, n. 7, p. 5796–5812, 2022.

SILVA, J. R. V.; FIGUEIREDO, J. R.; VAN DEN HURK, R. Involvement of growth hormone (GH) and insulin-like growth factor (IGF) system in ovarian folliculogenesis. **Theriogenology**, v. 71, n. 8, p. 1193–1208, 2009.

STADNIK, L.; ATASEVER, S.; DUCHÁČEK, J. Effects of body condition score and daily milk yield on reproduction traits of Czech Fleckvieh cows. **Animal Reproduction**, v. 14, n. 2002, p. 1264–1269, 2017.

STAPLES, C. R.; THATCHER, W. W.; CLARK, J. H. Relationship between ovarian activity and energy status during the early postpartum period of high producing dairy cows. **J Dairy Sci.**, v. 73, n. 4, p. 938–47, 1990.

SUNDRUM, A. Metabolic disorders in the transition period indicate that the dairy cows' ability to adapt is overstressed. **Animals**, v. 5, n. 4, p. 978–1020, 2015.

VELAZQUEZ, M. A. Nutritional Strategies to Promote Bovine Oocyte Quality for In Vitro Embryo Production: Do They Really Work? **Veterinary Sciences**, v. 10, n. 10, 2023.

VELAZQUEZ, M. A.; SPICER, L. J.; WATHES, D. C. The role of endocrine insulin-like growth factor-I (IGF-I) in female bovine reproduction. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 35, n. 4, p. 325–342, 2008.

WILTBANK", M. C.; GTIMEN, A.; SARTORI, R. Physiological classification of

anovulatory conditions in cattle. **Theriogenology**, v. 57, n. 01, p. 21–52, 2002.

Y. YAVAS AND J. S. WALTON. 3, 1 Ggg 2000. **Science**, n. 00, 2000.

ZACHUT, M. *et al.* Biomarkers of fitness and welfare in dairy cattle: healthy productivity. **Journal of Dairy Research**, v. 87, n. 1, p. 4–13, 2020.

ZARRIN, M. *et al.* Elevation of blood β -hydroxybutyrate concentration affects glucose metabolism in dairy cows before and after parturition. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 3, p. 2323–2333, 2017.

ZELEZNIK, A. J. The physiology of follicle selection. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 2, p. 1–7, 2004.

ZHAO, F. Q.; GLIMM, D. R.; KENNELLY, J. J. Distribution of mammalian facilitative glucose transporter messenger rna in bovine tissues. **International Journal of Biochemistry**, v. 25, n. 12, p. 1897–1903, 1993.

SEGUNDA PARTE – ARTIGO

Artigo - Redigido conforme norma do periódico científico - Versão preliminar	
Título do artigo:	Perfil metabólico e hormonal no momento da inseminação artificial e no diagnóstico de gestação de vacas <i>bos indicus</i> gestantes ou não
Autores:	Rafael Resende Rabelo Silva Laís Reis Carvalho Matheus Pedroso Vicente Luísa Oliveira Orlandi Marco Antônio Faria Silva Luiz Manoel Souza Simões Bruno Campos de Carvalho Felipe Zandonadi Brandão José Nélío de Sousa Sales
Periódico:	Theriogenology
ISSN	0093-691X
DOI	10.1016/j.theriogenology

**PERFIL METABÓLICO E HORMONAL NO MOMENTO DA INSEMINAÇÃO
ARTIFICIAL E NO DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO DE VACAS *BOS INDICUS*
GESTANTES OU NÃO**

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar o perfil metabólico e hormonal no momento da inseminação artificial em tempo fixo (IATF) e no diagnóstico de gestação de vacas *Bos indicus* gestantes ou não. Foram utilizadas 125 vacas Nelore lactantes submetidas a protocolo de sincronização da ovulação à base de estrógeno e progesterona (D0: 2mg de benzoato de estradiol e 1 dispositivo intravaginal de progesterona; D8: 500µg de cloprostenol sódico, 1mg de cipionato de estradiol e 300UI de eCG; D10: IATF). Amostras de sangue foram coletadas no momento da IATF e no diagnóstico de gestação (D40) para análise de glicose, AGNE, BHB, IGF-1 e insulina. Em um subgrupo de animais (n=20), foi realizada aspiração do folículo dominante no D18 para avaliação das concentrações de IGF-1 e insulina no fluido folicular. Após o diagnóstico de gestação, os animais foram classificados em gestantes e não gestantes. A análise estatística foi realizada utilizando o SAS. As concentrações séricas de glicose, AGNE, BHB, IGF-1 e insulina foram semelhantes entre os dois grupos no momento da IATF e no diagnóstico de gestação ($P>0,05$). Similarmente, as concentrações séricas e foliculares de IGF-1 e insulina no D18 também não diferiram entre os grupos experimentais. Concluiu-se que vacas *Bos indicus* gestantes e não gestantes após o protocolo de sincronização da ovulação apresentam perfil metabólico e hormonal semelhante, não sendo um marcador de fertilidade. Esses resultados reforçam que a fertilidade de vacas *Bos indicus* submetidas à IATF é um processo multifatorial, dependente da interação entre fatores metabólicos, hormonais, fisiológicos e ambientais.

Abstract

The objective of this study was to evaluate the metabolic and hormonal profiles at the time of timed artificial insemination (TAI) and at pregnancy diagnosis in pregnant and non-pregnant *Bos indicus* cows. A total of 125 lactating Nelore cows were subjected to an ovulation synchronization protocol based on estrogen and progesterone (D0: 2mg estradiol benzoate and one intravaginal progesterone device; D8: 500µg sodium cloprostenol, 1mg estradiol cypionate, and 300IU eCG; D10: TAI. Blood samples were collected at the time of TAI and at pregnancy diagnosis (D40) for analysis of glucose, NEFA, BHB, IGF-1, and insulin. In a subgroup of animals (n=20), aspiration of the dominant follicle was performed on D18 to evaluate IGF-1 and insulin concentrations in the follicular fluid. After pregnancy diagnosis, the animals were classified as pregnant or non-pregnant. Statistical analyses were performed using SAS software. Serum concentrations of glucose, NEFA, BHB, IGF-1, and insulin were similar between pregnant and non-pregnant cows at the time of TAI and at pregnancy diagnosis ($P>0.05$). Similarly, serum and follicular concentrations of IGF-1 and insulin on D18 did not differ between the experimental groups. It was concluded that pregnant and non-pregnant *Bos indicus* cows after the ovulation synchronization protocol exhibited similar metabolic and hormonal profiles, indicating that these parameters are not reliable fertility markers. These results reinforce that the fertility of *Bos indicus* cows subjected to FTAI is a multifactorial process, dependent on the interaction among metabolic, hormonal, physiological, and environmental factors.

Keywords: Biomarkers; pregnancy; *Bos indicus*.

1. Introdução

A eficiência reprodutiva é o principal fator relacionado ao sucesso da pecuária de corte, principalmente em sistemas utilizando fêmeas *Bos indicus*. Nesse contexto, a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) tem se consolidado como uma biotecnologia reprodutiva estratégica, pois permite a sincronização da ovulação e inseminação artificial sem a necessidade de observação de estro. Além disso, o protocolo de IATF, retira as fêmeas do anestro pós-parto, aumentando a produção e melhorando a qualidade dos produtos do sistema de cria [1]. A IATF facilita o manejo, permite a inseminação de grande número de animais e padroniza tanto a estação de monta quanto o nascimento dos bezerros [1]. Em função disso, a adoção dessa biotecnologia tem sido crescente no Brasil, especialmente em rebanhos *Bos indicus*, devido aos resultados positivos observados na eficiência reprodutiva [2,3].

No entanto, apesar do avanço e da padronização dos protocolos de IATF, o sucesso da técnica depende de fatores fisiológicos das fêmeas, os quais podem impactar significativamente os resultados reprodutivos. Dentre esses fatores, destaca-se o metabolismo energético, que desempenha papel fundamental na dinâmica folicular, na ovulação e na viabilidade embrionária [4].

Estudos têm demonstrado que, em situações de estresse metabólico, com baixa condição corporal ou balanço energético negativo (BEN), metabólitos (glicose, AGNE, BHB, colesterol) e hormônios ligados ao metabolismo energético (insulina e IGF-1) podem ter alta variação. Essa condição pode interferir, de forma negativa na fertilidade das fêmeas bovinas [5]. Em vacas de leite, o BEN interfere negativamente nos parâmetros reprodutivos [6] devido a mobilização de reservas corporais de energia, que resulta na formação de metabólitos como BHB, AGNE. Esses metabólitos interferem negativamente na liberação de GnRH e, consequentemente, no crescimento folicular [7], na qualidade oocitária e na liberação de hormônios esteroidais [6]. Tal condição metabólica impacta negativamente os resultados reprodutivos e da IATF [3]. Apesar desses conhecimentos serem bem estabelecidos em vacas de leite, ainda são escassos estudos que demonstram esses efeitos negativos em vacas de corte *Bos indicus*.

Dessa forma, o objetivo desse estudo foi avaliar o perfil de metabólico e hormonal no momento da IATF e no diagnóstico de gestação de vacas *Bos indicus* gestantes ou não submetidas à IATF.

2. Material e métodos

2.1. Animais e local do estudo

O experimento foi conduzido em fazenda comercial localizada no centro oeste do estado de Minas Gerais, Brasil. No estudo foram utilizadas 125 vacas da raça Nelore (*Bos indicus*) lactantes, com escore de condição corporal (ECC) médio de $2,81 \pm 0,04$ [8] e pós-parto entre 35 e 45 dias. Os animais foram mantidos em pastejo em *Brachiaria brizantha* e tiveram livre acesso à água e suplementação mineral.

2.2. Delineamento experimental

Os animais foram submetidos a um protocolo de sincronização da ovulação a base de estrógeno e progesterona (P4). No D0, as vacas receberam 2 mg de benzoato de estradiol (EB - Bioestrogen®, Biogénesis Bagó, Brasil) e um dispositivo de 1 g de P4 (Progestar®, Biogénesis Bagó, Brasil). Oito dias depois (D8) as vacas receberam 500 µg de cloprostenol (PGF 2α – Croniben®, Biogénesis Bagó, Brasil), 1 mg de cipionato de estradiol (CE – Croni cip®, Biogénesis Bagó, Brasil) e 300 UI de eCG (Ecegon®, Biogénesis Bagó, Brasil). A IATF foi realizada 48h após a retirada do dispositivo de P4 (D10). O diagnóstico de gestação foi realizado 30 dias após a IATF (D40) utilizando ultrassom Mindray DP-10 POWER com transdutor linear de 5-10MHz (Mindray, China). Nesse momento, as vacas foram alocadas em dois grupos experimentais: gestantes e não gestantes para realização de uma análise retrospectiva com os dados coletados no D10, D18 e D40 para realizar a caracterização metabólica e hormonal de fêmeas gestante e não gestantes.

2.3. Colheita de sangue

Amostras de sangue foram colhidas no dia da IATF (D10), oito dias depois (D18) e no dia do DG (D40). A colheita de sangue foi realizada por punção na veia coccígea utilizando agulha estéril, sendo utilizados dois tubos de 10 mL sem anticoagulante (Vacutainer, Becton-Dickinson e Company, EUA), para obtenção de soro e um tubo de 4 mL contendo fluoreto de sódio para obtenção de plasma. Após a coleta, as amostras foram acondicionadas em caixa térmica com gelo até a sua condução ao laboratório. O soro e o plasma foram separados por centrifugação a $3000 \times g$ (Centrífuga Excelsa Baby, Fanem, Brasil) durante 10 minutos e acondicionado em microtubos estéreis de 2 mL (Tubos Eppendorf 3810X standard, Eppendorf, Alemanha) identificados e armazenados em freezer a -21°C até posterior análise.

2.4. Colheita do fluido folicular

Em um subgrupo de animais ($n = 20$), foi realizada a mensuração e a aspiração do folículo dominante oito dias após a IATF (D18) por ultrassonografia transvaginal. A aspiração foi realizada com transdutor microconvexo 7,5MHz (Mindray DP10, Mindray, China) e linha de aspiração com 80 cm acoplada a agulha 20 G (WTA, Brasil). O sistema de aspiração foi submetido a pressão negativa de 60-70 mmHg por bomba de vácuo (WTA) e o folículo dominante foi puncionado e direcionado para um tubo plástico de 50 mL (TPP, Trasadingen, Suíça). Ao final da aspiração, o volume de líquido folicular foi aferido e armazenado em microtubo plástico de 2 mL (Tubos Eppendorf 3810X standard, Eppendorf, Alemanha) com identificação e armazenados em freezer a -21°C até posterior análise.

2.5. Análises hormonais (IGF-1 e insulina) e de metabólitos (glicose, AGNE e BHB)

Na avaliação metabólica foram analisadas as concentrações de glicose, BHB e AGNE a partir do plasma sanguíneo e glicose do fluido folicular.

As concentrações plasmáticas de glicose foram analisadas em analisador bioquímico automático (Randox, modelo RX Daytona, FURUNA Electric Co. LTD, Nishinomiya, Japão) utilizando kit comercial (Randox Laboratories LTD, Contry Antrim, United Kingdom, Glicose: código GL3815) e os resultados expressos em mg/dL.

Para determinação das concentrações de BHB foi utilizado kit comercial analítico (D-3-hidroxibutirato, Randox Laboratories LTD, Contry Antrim, United Kingdom). As análises foram realizadas utilizando espectrofotômetro de microplacas (EON, BioTek Instruments, Winooski, VT, USA) em comprimento de onda de 340 nm, acoplado ao software de análise Gen5® e expressos em mmol/mL.

A quantificação das concentrações de AGNE foi realizada por método enzimático colorimétrico, utilizando kit comercial analítico (NEFA, Randox Laboratories Ltd., County Antrim, United Kingdom). As amostras foram processadas em espectrofotômetro de microplacas (EON, BioTek Instruments, Winooski, VT, USA), com leitura e análise dos dados realizadas por meio do software Gen5®. As leituras foram realizadas por espectrofotometria a 550nm, em microplacas de 96 poços e foram expressas em mmol/mL.

As concentrações de IGF-1 e insulina foram quantificadas por radioimunoensaio utilizando kits comerciais específicos (Backman Coulter IGF-1 A15729 e Insulin IRMA KIT IM3210).

As análises foram realizadas no Laboratório da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, Minas Gerais e no Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, RJ.

2.6. Análises estatísticas

A análise estatística foi realizada com auxílio do software Statistical Analysis System for Windows®. As variáveis contínuas (concentrações de glicose, BHB, AGNE, insulina e IGF-1) foram testadas quanto à normalidade dos resíduos pelo procedimento UNIVARIATE (transformados quando necessário) e submetidos ao teste de Bartlett para avaliar a homogeneidade das variâncias. Os dados que não atenderam as primícias da análise de variância foram transformados (log10). Após essa avaliação, o procedimento GLIMMIX com ajuste de Tukey foi utilizado para verificar diferenças entre as médias dos grupos. Os valores das concentrações hormonais e metabólicas foram expressos como média $\pm$ EPM. Diferenças foram consideradas significativas quando $P \leq 0,05$ e valores de P entre 0,05 e 0,1 foram consideradas tendência.

3. Resultados

3.1. Análises hormonais (IGF-1 e insulina) e de metabólitos (glicose, AGNE e BHB) no sangue

O ECC foi semelhante entre os grupos (Não gestantes: $2,74 \pm 0,04$ e gestantes: $2,72 \pm 0,06$; $P=0,89$). De forma similar, não foi observado diferença entre os grupos tanto na IATF quanto no dia do diagnóstico de gestação para as concentrações plasmáticas de glicose ($P=0,91$ e $P=0,61$), de IGF-1 (somente no DG: $P=0,15$), de insulina ($P=0,69$ e $P=0,15$), de AGNE ($P=0,36$ e $P=0,70$) e de BHB ($P=0,91$ e $P=0,50$). No entanto, foi verificada tendência de maior concentração de IGF-1 na IATF em vacas não gestantes ($P=0,09$). As concentrações desses hormônios e metabólitos estão apresentadas na tabela 1. Além disso, verificou-se baixa correlação positiva no momento da IATF entre as concentrações de IGF-1 e insulina ($r=0,35$; $P<0,01$) e baixa correlação negativa entre IGF-1 e AGNE ($r=0,26$; $P<0,05$). Para as demais variáveis avaliadas não foram observadas correlações ($P>0,10$).

Tabela 1: ECC, concentração sérica de IGF-1, Insulina, AGNE e BHB no momento da inseminação artificial e no diagnóstico de gestação de vacas Nelore gestantes e não gestantes.

	Gestante	Não Gestante	P
ECC	2,72 ± 0,06	2,74 ± 0,04	0,89
IATF			
Glicose (mg/dL)	74,6 ± 10,7	74,7 ± 11,3	0,91
AGNE (mmol/L)	0,42 ± 0,03	0,46 ± 0,03	0,36
BHB (mmol/L)	0,74 ± 0,04	0,76 ± 0,04	0,91
Insulina (μIU/mL)	10,0 ± 0,6	12,8 ± 1,1	0,09
IGF-1 (ng/mL)	102,8 ± 7,3	102,4 ± 8,1	0,69
Diagnóstico de gestação			
Glicose (mg/dL)	74,4 ± 9,9	75,4 ± 11,5	0,61
AGNE (mmol/L)	0,32 ± 0,02	0,33 ± 0,02	0,70
BHB (mmol/L)	0,65 ± 0,05	0,69 ± 0,04	0,50
Insulina (μIU/mL)	13,5 ± 1,0	16,8 ± 1,8	0,15
IGF-1 (ng/mL)	64,4 ± 4,6	78,0 ± 6,4	0,15

3.2. Análises hormonais (IGF-1 e insulina) no fluido dolicular

As concentrações de IGF-1 e insulina no fluido folicular (P=0,66 e P=0,24) e no soro (P=0,38 e P=0,38) foram semelhantes entre os grupos experimentais. Os resultados referentes às concentrações séricas e foliculares de IGF-1 e insulina no D18 estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: ECC, concentração sérica e no fluido folicular de IGF-1 e Insulina no D18 de vacas Nelore gestantes e não gestantes.

	Gestante	Não Gestante	P
Soro			
Insulina (μIU/mL)	14,1 ± 1,3	16,5 ± 2,0	0,38
IGF-1 (ng/mL)	134,94 ± 16,9	181,14 ± 32,5	0,38
Fluido Folicular			
Insulina (μIU/mL)	5,1 ± 0,74	4,3 ± 1,1	0,24
IGF-1 (ng/mL)	114,9 ± 12,0	115,9 ± 26,7	0,66

4. Discussão

A hipótese inicial de que haveria diferenças no perfil metabólico e hormonal entre vacas gestantes ou não, no momento da IATF e no diagnóstico de gestação foi rejeitada, pois não foram observadas diferenças significativas entre os grupos para os metabólitos e hormônios avaliados, não sendo marcadores de fertilidade em vacas *Bos indicus* no pós-parto recente.

No estudo, a glicose e os principais metabólitos da mobilização de gordura foram semelhantes entre os grupos experimentais. As concentrações séricas de glicose encontradas em ambos os grupos permaneceram dentro da faixa fisiológica para bovinos de corte, descrita entre 45 e 75 mg/dL [9,10], indicando adequada condição energética dos animais. Esse achado pode ser explicado pela baixa variação da glicemia em ruminantes, uma vez que mecanismos homeostáticos (gliconeogênese hepática) contribuem para manutenção dos níveis sanguíneos de glicose [11]. A glicose exerce papel fundamental no metabolismo energético e na função reprodutiva, atuando como importante fonte energética para células ovarianas e embrionárias [12]. Alterações em sua disponibilidade podem comprometer a qualidade oocitária e o desenvolvimento embrionário inicial [13,14]. Durante a foliculogênese, a glicose é metabolizada pelas células da granulosa e do cumulus para produção de piruvato e lactato, metabólitos energéticos essenciais ao desenvolvimento oocitário, que são posteriormente utilizados pelo oócito como fonte energética. Além disso, a disponibilidade adequada de glicose contribui para síntese de ATP, manutenção da atividade mitocondrial e regulação dos processos de divisão celular, fatores indispensáveis para a maturação nuclear e citoplasmática do oócito [15]. A glicose também participa da esteroidogênese folicular, influenciando a produção de hormônios ovarianos importantes para o crescimento folicular e manutenção da atividade reprodutiva [16]. Entretanto, a ausência de diferenças nos níveis séricos de glicose nesse estudo indica que esse metabólito não apresentou associação direta com a fertilidade, não sendo marcador de fertilidade em vacas *Bos indicus* de corte quando avaliado no momento da IATF e no diagnóstico de gestação.

Os AGNE e o BHB são metabólitos produzidos durante a mobilização de reservas energéticas [17]. Concentrações elevadas desses metabólitos geralmente indicam intensificação da lipólise e maior ocorrência de BEN, condição que pode comprometer a qualidade oocitária, o ambiente folicular e o desenvolvimento embrionário [10,18]. No entanto, os valores observados nesse estudo não indicam mobilização lipídica acentuada, uma vez que concentrações séricas $\geq 0,7$ mmol/L para AGNE e $\geq 1,2$ mmol/L para BHB são consideradas indicativas de BEN acentuado [19,20,21].

Elevadas concentrações de BHB podem interferir na função reprodutiva por alterar a dinâmica folicular, o ambiente uterino e o desenvolvimento embrionário [22,23]. Da mesma forma, concentrações elevadas de AGNE podem exercer efeitos deletérios sobre o eixo hipotálamo-hipófise-gonadal, reduzindo a pulsatilidade do GnRH e, conseqüentemente, a secreção de LH, comprometendo o crescimento folicular e a competência oocitária [24]. Além dos efeitos endócrinos, o excesso desses metabólitos pode induzir lipotoxicidade celular, disfunção mitocondrial e aumento da produção de espécies reativas de oxigênio nas células ovarianas, favorecendo o estresse oxidativo e apoptose celular. Essas alterações podem prejudicar a maturação oocitária, a qualidade do ambiente folicular e o desenvolvimento embrionário inicial, reduzindo as taxas de prenhez [6]. No entanto, no presente estudo, não foram observadas diferenças significativas nas concentrações de AGNE e BHB entre os grupos experimentais, sugerindo que os animais provavelmente não estavam em condições de BEN acentuado para desencadear alterações metabólicas e reprodutivas relevantes. Dessa forma, os resultados sugerem que as concentrações desses metabólitos permaneceram em níveis compatíveis com a manutenção da função reprodutiva. Além disso, verificou-se redução das concentrações de AGNE e BHB entre o momento da inseminação artificial e o diagnóstico de gestação, indicando provável melhora do status energético dos animais ao longo do período experimental. Menores concentrações desses metabólitos estão associadas à redução da mobilização lipídica e melhor equilíbrio energético, refletindo menor dependência das reservas corporais como fonte de energia [25].

De forma semelhante, as concentrações hormonais de insulina e IGF-1 não diferiram entre vacas gestantes ou não após a IATF. O IGF-1 desempenha importante papel na regulação da função ovariana, atuando na proliferação e diferenciação das células da granulosa e da teca, na esteroidogênese, no crescimento folicular e no desenvolvimento embrionário inicial [26,27]. Esse hormônio também atua aumentando a afinidade do FSH ao seu receptor, o que favorece o crescimento folicular [28].

O IGF-1 também participa da regulação da viabilidade das células foliculares, reduzindo a apoptose das células da granulosa e favorecendo a manutenção funcionalidade folicular. A preservação dessas células é fundamental para adequada nutrição e suporte metabólico ao oócito durante a foliculogênese. Além disso, o IGF-1 exerce efeitos positivos sobre a competência oocitária e desenvolvimento embrionário inicial, uma vez que estimula vias relacionadas à proliferação celular, síntese proteica e metabolismo energético, contribuindo para manutenção da atividade mitocondrial, maturação oocitária e desenvolvimento embrionário precoce [29].

A insulina, por sua vez, também possui importante ação sobre a fisiologia reprodutiva, atuando em sinergia com o IGF-1 sobre a função das células da granulosa e o metabolismo folicular [25,28]. Em condições fisiológicas, a insulina estimula a captação e utilização de glicose pelas células ovarianas, favorecendo a produção de energia necessária para crescimento folicular, síntese de esteroides ovarianos, maturação oocitária e competência do oócito [30]. Entretanto, alterações em suas concentrações podem provocar efeitos negativos sobre a reprodução, uma vez que quadros de hiperinsulinemia estão associados a alterações no ambiente folicular, comprometimento da qualidade oocitária e redução da fertilidade [31].

Apesar dos importantes efeitos fisiológicos do IGF-1 e insulina sobre a fisiologia reprodutiva, vacas gestantes e não gestantes apresentaram concentrações semelhantes desses hormônios, tanto no soro quanto no fluido folicular. Esses resultados sugerem que, nas condições avaliadas neste estudo, tais hormônios não apresentaram associação direta com a fertilidade e não sendo marcadores de fertilidade das vacas *Bos indicus* submetidas à IATF. Dessa forma, esses resultados reforçam que a fertilidade em bovinos é um processo multifatorial, dependente da interação entre fatores metabólicos, hormonais, fisiológicos e ambientais, não podendo ser explicada apenas pelas concentrações isoladas de metabólitos e hormônios.

Concluiu-se que vacas *Bos indicus* gestantes e não gestantes após o protocolo de sincronização da ovulação apresentam perfil metabólico e hormonal semelhante, não sendo um marcador de fertilidade. Esses resultados reforçam que a fertilidade de vacas *Bos indicus* submetidas à IATF é um processo multifatorial, dependente da interação entre fatores metabólicos, hormonais, fisiológicos e ambientais, não podendo ser determinada apenas por um único parâmetro metabólico ou hormonal.

5. REFERÊNCIAS

- [1] GONÇALVES, L. P. N. et al. Reproductive efficiency of Nelore cows in fixed-time artificial insemination programs with early resynchronization. *Veterinary Sciences*. 2025;12(1):27.
- [2] BARUSELLI, P. S. et al. Timed artificial insemination: current challenges and recent advances in reproductive efficiency in beef and dairy herds in Brazil. *Animal Reproduction*. 2017;14(3):558–571.
- [3] BARUSELLI, P. S. et al. Using artificial insemination versus natural service in beef herds. *Animal*. 2018;12(s1):s45–s52.
- [4] DISKIN, M. G.; KENNY, D. A. Optimising reproductive performance of beef cows and replacement heifers. *Animal*. 2014;8(1):27–39.

- [5] BUTLER, W. R. Energy balance relationships with follicular development, ovulation, and fertility in postpartum dairy cows. *Livestock Production Science*. 2003;83(1):211–218.
- [6] LEROY, J. L. M. R. et al. Nutrient prioritization in dairy cows early postpartum: mismatch between metabolism and fertility. *Reproduction in Domestic Animals*. 2008;43(2):96–103.
- [7] HESS, B. W. et al. Nutritional controls of beef cow reproduction. *Journal of Animal Science*. 2005;83(suppl 13):90–106.
- [8] AYRES, H. et al. Validation of body condition score as a predictor of subcutaneous fat in Nelore cows. *Livestock Science*. 2009;123(2–3):175–179.
- [9] MORAIS, A. A. et al. Análise comparativa entre glicosímetros portáteis e método laboratorial para a dosagem de glicemia em bovinos. *Pubvet*. 2021;15(08):1-5.
- [10] KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. *Clinical biochemistry of domestic animals*. Academic Press. 2008.
- [11] Young, J.W. Gluconeogenesis in Cattle: Significance and Methodology. *Journal of Dairy Science*. 1997, 60(1), 1–15.
- [12] LUCY, M. C.; BUTLER, S. T.; GARVERICK, H. A. Endocrine and metabolic mechanisms linking postpartum glucose with early embryonic and foetal development in dairy cows. *Reproduction, Fertility and Development*. 2014; 26:74–82.
- [13] BUTLER, W. R. Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. *Livestock Production Science*. 2003; 83:211–218.
- [14] LEROY, J. L. M. R. et al. Dietary fat supplementation and the consequences for oocyte and embryo quality in cattle. *Reproduction in Domestic Animals*. 2014; 49:100–107.
- [15] ZHANG YR, et al. Mitochondrial Quality Control in Bovine Oocyte Maturation: Mechanisms, Challenges and Prospects for Enhancing Reproductive Efficiency. *Animals*, 2025,15(13):2000.
- [16] TAO X, et al. PDK4 is critical for metabolic regulation and progesterone production in bovine granulosa cells. *Biology of Reproduction*. 2025, 114(3):952–969.
- [17] CROWE, M. A.; DISKIN, M. G.; WILLIAMS, E. J. Parturition to resumption of ovarian cyclicity: Comparative aspects of beef and dairy cows. *Animal*. 2014,8(SUPPL. 1):40–53.
- [18] GARNSWORTHY, P. C. et al. Nutrition, metabolism, and fertility in dairy cows: dietary energy source and ovarian function. *Journal of Dairy Science*. 2008; 91:3814–3823.
- [19] DE SOUZA, C.M.S. Expressão de pd-1 e ctla-4 em linfócitos t e sua relação com o período periparturiente e citologia endometrial no periodo pós-parto em vacas leiteiras. 2023. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias, Areia, PB, Brasil.
- [20] DUFFIELD, T. F. et al. Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health

and production. *Journal of Dairy Science*. 2009, 92(2):571–580.

[21] OETZEL, G. R. Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2004, 20(3):651–674.

[22] GROSS, J. J. et al. Metabolic challenges in lactating dairy cows and their assessment via indicators in milk. *Animal*. 2019;13(S1): s75–s81.

[23] MEČIONYTĖ, I. et al. Association between blood β -hydroxybutyrate concentration and reproductive performance in dairy cows. *Animals*. 2022;12(4):481.

[24] DISKIN, M. G.; MORRIS, D. G. Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. *Reproduction in Domestic Animals*. 2008;43(2):260–267.

[25] SANTOS, J. E. P. et al. Applying nutrition and physiology to improve reproduction in dairy cattle. *Theriogenology*. 2021;150:226–238.

[26] SHIMIZU, T. Molecular and cellular mechanisms for the regulation of ovarian follicular growth in cattle. *Journal of Reproduction and Development*. 2016; 62:323–329.

[27] LIU, Z. et al. Molecular mechanisms regulating bovine ovarian follicular selection. *Molecular Reproduction and Development*. 2009; 76:110–120.

[28] ARMSTRONG, D.G. et al. Expression of mRNA encoding IGF-I, IGF-II and type 1 IGF receptor in bovine ovarian follicles. 2000;165(1):101-13.

[29] RISOLIA, P. H. et al. The role of insulin-like growth factor-I on developmental competence of bovine oocytes exposed to heat shock. *Biology of Reproduction*. 2011;85(Suppl 1):330.

[30] SHEETAL, S. K. et al. Effect of insulin or insulin-like growth factor-I administration at mid-luteal phase of the estrous cycle during superovulation on hormonal profile of Sahiwal cows. *Veterinary World*. 2018;11(12):1736–1741.

[31] FONTES, P. L. P. et al. Effects of nutrient restriction on the metabolic profile of *Bos indicus*-influenced and *B. taurus* suckled beef cows. *Animal*. 2021;15(3):100166, 2021.

TERCEIRA PARTE

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste estudo demonstraram que as concentrações séricas de glicose, AGNE, BHB, IGF-1 e insulina, bem como as concentrações de IGF-1 e insulina no fluido folicular, não diferiram entre vacas *Bos indicus* gestantes e não gestantes submetidas à inseminação artificial em tempo fixo. Dessa forma, nas condições experimentais avaliadas, esses metabólitos e hormônios não se mostraram biomarcadores capazes de predizer o sucesso da gestação.

Os achados reforçam que a fertilidade em vacas *Bos indicus* é um fenômeno complexo e multifatorial, resultante da interação entre fatores metabólicos, hormonais, fisiológicos, nutricionais, genéticos e ambientais. Assim, a avaliação isolada desses parâmetros pode não ser suficiente para explicar as diferenças individuais na capacidade reprodutiva das fêmeas.

Embora não tenham sido observadas diferenças entre os grupos, os resultados contribuem para o avanço do conhecimento sobre a fisiologia reprodutiva de vacas Nelore submetidas à IATF, fornecendo informações relevantes para a interpretação do perfil metabólico e hormonal dessas fêmeas em condições de campo. Além disso, os dados obtidos auxiliam na compreensão dos mecanismos envolvidos na fertilidade e podem servir como base para futuras investigações.