

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 01/02/2024.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA (UNESP)
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS (FCAT)
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA ANIMAL
CAMPUS DE DRACENA

Dayane Colhados Cabrini

Médica Veterinária

**ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO ADICIONADO AO MEIO
DE CULTIVO DE OÓCITOS E EMBRIÕES BOVINOS
PRODUZIDOS *IN VITRO* ALTERA A SECREÇÃO DE
PROSTAGLANDINA F2 α E E2**

Dracena - SP

2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA (UNESP)
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS (FCAT)
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA ANIMAL
CAMPUS DE DRACENA

Dayane Colhados Cabrini

Médica Veterinária

**ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO ADICIONADO AO MEIO
DE CULTIVO DE OÓCITOS E EMBRIÕES BOVINOS
PRODUZIDOS *IN VITRO* ALTERA A SECREÇÃO DE
PROSTAGLANDINA F2 α E E2**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas - UNESP, Câmpus de Dracena, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia Animal.

Orientadora: Profa. Dra. Claudia Maria Bertan Membrive
Coorientadora: Dra. Mariângela Bueno Cordeiro Maldonado

Dracena - SP

2023

FICHA CATALOGRÁFICA
Desenvolvida pela Seção Técnica de Biblioteca e Documentação
Campus de Dracena

C117a

Cabrini, Dayane Colhados.

Ácido linoleico conjugado adicionado ao meio de cultivo de Oócitos e embriões bovinos produzidos in vitro altera a secreção de prostaglandina F2 α e E2 / Dayane Colhados Cabrini. -- Dracena: [s.n.], 2023.

80 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Dracena. Área do conhecimento: Produção Animal, 2023.

Orientador: Claudia Maria Bertan Membrive

Co-orientadora: Mariângela Bueno Cordeiro Maldonado

1. Ácidos graxos. 2. Ácidos graxos Ômega-6. 3. Oócito. 4. Embrião. 5. Prostaglandinas. Título.

Bibliotecário Fábio S. Rosas
CRB 8/6665

IMPACTO ESPERADO NA SOCIEDADE

No que se refere aos dezessete objetivos preconizados pela Organização das Nações Unidas até 2030, o Brasil busca aumentar o número de bezerros geneticamente superiores nascidos, assim tem empregado a produção *in vitro* de embriões (PIVE). O uso de CLA nos meios de cultivo da PIVE pode gerar embriões mais competentes em estabelecerem a prenhez.

EXPECTED IMPACT ON SOCIETY

With regard to the seventeen aims established by the United Nations Organization until 2030, Brazil seeks to increase the number of genetically superior calves born, thus it has used in vitro embryo production (IVEP). The use of CLA in IVEP culture medium can generate embryos that are more competent in establishing pregnancy.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**TÍTULO DA
DISSERTAÇÃO:**

**ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO ADICIONADO AO MEIO DE CULTIVO
DE OÓCITOS E EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS *IN*
VITRO ALTERA A SECREÇÃO DE PROSTAGLANDINA F2a E
E2"**

AUTORA: DAYANE COLHADOS CABRINI

ORIENTADORA: CLAUDIA MARIA BERTAN MEMBRIVE

COORDINADORA: MARIÂNGELA BUENO CORDEIRO MALDONADO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Ciência e Tecnologia Animal, pela Comissão Examinadora:



Profa. Associada CLAUDIA MARIA BERTAN MEMBRIVE (Participação Virtual)

Departamento de Produção Animal / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas - Unesp - Câmpus de Dracena



Profa. Dra. JAQUELINE DALBELLO BILLER (Participação Virtual)

Departamento de Produção Animal / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena - FCAT - UNESP



Documento assinado digitalmente

CALIE CASTILHO SILVESTRE

Data: 01/08/2023 18:32:13-0300

Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Profa. Dra. CALIÊ CASTILHO (Participação

Departamento de Clínica de Reprodução Animal / UNOESTE - Presidente Prudente, SP

Dracena, 01 de agosto de 2023

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

Dayane Colhados Cabrini, nascida em 26 de maio de 1995, na cidade de Ourinhos - SP. Em 2015, ingressou no curso de Medicina Veterinária na Universidade de Marília (UNIMAR), tendo concluído em dezembro de 2019. Durante a graduação, realizou estágio curricular no Laboratório de Fertilização *In Vitro* Central Senepol, sediado na cidade de Marília - SP, onde foi contratada e exerceu a função de auxiliar de laboratório de 2020 a 2022. Em agosto de 2021, ingressou no Mestrado acadêmico em Ciência e Tecnologia Animal pela FCAT (UNESP), em Dracena - SP, sob orientação da Profa. Dra. Claudia Maria Bertan Membrive. Em 2022, foi contratada como técnica de laboratório na Canto Porto Exportação de Embriões (CPEX), na cidade de Mogi Mirim - SP. Atualmente trabalha na equipe de expansão da multinacional Vytelle. De 2020 até o momento, produziu aproximadamente 25.000 embriões bovinos *in vitro*.

DEDICATÓRIA

Este trabalho é dedicado aos meus pais, **Sérgio Ricardo Boechat Cabrini** e **Maria Eliane Gonçalves Colhados Cabrini**, e a todos que me ofereceram oportunidades e apoio para que eu alcançasse meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a **Deus**, assim como a minha família e amigos por acreditarem nos meus sonhos e me darem forças para realizá-los.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Animal**, da Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas - FCAT, UNESP Câmpus de Dracena e Ilha Solteira, pela oportunidade oferecida.

A **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** pelo apoio ao Programa.

Aos **Professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Animal**, da UNESP Câmpus de Dracena e Ilha Solteira, pelos ensinamentos e formação.

A minha orientadora **Profa. Dra. Claudia Maria Bertan Membrive**, por ser uma constante fonte de motivação e incentivo ao longo de todo o projeto.

A minha coorientadora, **Dra. Mariângela Bueno Cordeiro Maldonado**, pós-doutoranda junto ao Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências e Letras, UNESP Câmpus de Assis, pelo auxílio nos experimentos e pela imensa colaboração científica na realização deste estudo.

Ao **Prof. Dr. Guilherme Pugliesi**, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, pelo auxílio na realização das mensurações por ELISA para a quantificação da PGF2 α e PGE2.

A **Ms. Isabella Rio Feltrin**, doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia e Biotecnologia, do Instituto de Biociências, da UNESP Câmpus de Botucatu, pela imensa colaboração na análise estatística dos dados.

Ao **Prof. Dr. Alan Ealy**, do Department of Animal and Poultry Sciene da Virginia Tech, pela imensa colaboração científica ao grupo. Agradeço por dividir suas experiências e tornar nossos estudos mais relevantes.

Ao **Prof. Dr. Vitor Mercadante**, do Department of Animal and Poultry Sciene da Virginia Tech, pela colaboração científica ao projeto.

A **Central Senepol LAB FIV**, agradeço pelas oportunidades, por todo carinho e por estimularem o meu desenvolvimento acadêmico e profissional.

A **Canto Porto Exportação de Embriões (CPEX)**, em especial ao Dr. Rodrigo Camponogara Bohrer, pelo apoio para a realização do mestrado.

Ao **Laboratório de Investigação da Fisiologia do Endométrio e do Embrião (LIFE)** e a **todos os seus integrantes**. Agradeço o apoio e principalmente por todo trabalho desenvolvido.

RESUMO

A $\text{PGF2}\alpha$ foi reconhecida como a principal molécula luteolítica em fêmeas ruminantes, sendo secretada quando há insucesso no reconhecimento materno fetal (RMF). A PGE2 , sintetizada pelo endométrio materno e células trofoblásticas do conceito, determina efeitos anti-luteolíticos e luteotróficos que favorecem o RMF. Alguns ácidos graxos específicos podem alterar a biossíntese de $\text{PGF2}\alpha$ e PGE2 , dentre estes o ácido linoleico conjugado (CLA). A hipótese é que a suplementação com CLA durante a maturação *in vitro* de oócitos (MIV) e cultivo *in vitro* de embriões (CIV) ou somente durante a CIV, estimula nos oócitos durante a MIV e nos embriões durante a CIV a menor síntese de $\text{PGF2}\alpha$, maior síntese de PGE2 , maior razão $\text{PGE2}/\text{PGF2}\alpha$ e maior taxa de blastocistos produzidos no D7 e D9 (D0 = dia da fertilização), sendo tal efeito dose dependente. Objetivou-se com este estudo determinar os efeitos de diferentes concentrações de CLA (0, 50, 100 e 150 μM) na MIV e CIV, onde a mesma concentração foi utilizada durante a MIV e CIV (Experimento 1) ou somente na CIV (Experimento 2,) nas concentrações de $\text{PGF2}\alpha$ e PGE2 e a razão $\text{PGE2}/\text{PGF2}\alpha$ no meio de cultivo ao término da MIV (após 24 horas de cultivo) e da CIV (após 9 dias de cultivo), assim como a taxa de produção de blastocisto no D7 e D9. O uso do CLA na MIV e CIV, para todas às concentrações testadas, promoveu uma menor secreção de $\text{PGF2}\alpha$ ($P < 0,0001$) e PGE2 ($P = 0,0034$), embora não tenha afetado a razão $\text{PGE2}/\text{PGF2}\alpha$ ($P = 0,1902$). Quando o CLA foi utilizado apenas na CIV, para todas às concentrações testadas, promoveu uma menor secreção de $\text{PGF2}\alpha$ ($P = 0,0005$) e PGE2 ($P = 0,0046$), embora não tenha afetado a razão $\text{PGE2}/\text{PGF2}\alpha$ ($P = 0,9087$). Quanto a produção de blastocistos no D7, o CLA utilizado na MIV e CIV em todas as doses testadas não aumentou taxa de produção blastocisto no D7 e quando o CLA foi utilizado apenas na CIV a concentração de 150 μM de CLA diminuiu a taxa de blastocistos no D9, quando comparada a concentração de 50 μM . Conclui-se que a suplementação com CLA, em todas as doses testadas, durante a MIV e CIV ou exclusivamente na CIV diminui nos embriões a secreção de PGE2 e $\text{PGF2}\alpha$ embora não tenha alterado a razão $\text{PGE2}/\text{PGF2}\alpha$. O uso de CLA na CIV na concentração de 150 μM diminui a taxa de blastocisto eclodido no D9 comparado a concentração de 50 μM .

Palavras chaves: Ácidos graxos. Ácidos graxos Ômega-6. Oócito. Embrião. Prostaglandinas.

ABSTRACT

PGF2 α was recognized as the main luteolytic molecule in female ruminants, being secreted when there is failure in maternal-fetal recognition (MFR). PGE2 synthesized by the maternal endometrium and conceptus trophoblastic cells, determines anti-luteolytic and luteotrophic effects that favor MFR. Some specific fatty acids can alter the biosynthesis of PGF2 α and PGE2, among them conjugated linoleic acid (CLA). The hypothesis is that supplementation with CLA during in vitro oocyte maturation (IVM) and in vitro embryo culture (IVC) or only during IVC stimulates in oocytes during IVM and in embryos during IVC a lower synthesis of PGF2 α , higher PGE2 synthesis, higher PGE2/PGF2 α ratio and higher rate of blastocysts produced on D7 and D9 (D0 = fertilization day), such effect being dose dependent. Thus, the aim of this study was to determine the effects of different concentrations of CLA (0, 50, 100 and 150 μ M) on IVM and IVC, where the same concentration was used during IVM and IVC (Experiment 1) or only in IVC (Experiment 2), in the concentrations of PGF2 α and PGE2 and the PGE2/ PGF2 α ratio in the culture medium at the end of IVM (after 24 hours of culture) and IVC (after 9 days of culture), as well as the rate of blastocyst production on D7 and D9. The use of CLA in IVM and CIV, for all concentrations tested, promoted a lower secretion of PGF2 α ($P < 0.0001$) and PGE2 ($P = 0.0034$), although it did not affect the PGE2/ PGF2 α ratio ($P = 0.1902$). When CLA was used only in IVC, for all concentrations tested, it promoted a lower secretion of PGF2 α ($P = 0.0005$) and PGE2 ($P = 0.0046$), although it did not affect the PGE2/ PGF2 α ratio ($P = 0.9087$). As for the production of blastocysts on D7, the CLA used in IVM and CIV at all tested doses did not increase the blastocyst production rate on D7 and when CLA was used only in CIV, the concentration of 150 μ M of CLA decreased the rate of blastocysts on D9 compared to 50 μ M concentration. It is concluded that supplementation with CLA, at all doses tested, during IVM and IVC or exclusively in IVC decreases the secretion of PGE2 and PGF2 α in the embryos, although it did not alter the PGE2/ PGF2 α ratio. The use of CLA in IVC at a concentration of 150 μ M decreases the rate of hatched blastocysts on D9 compared to a concentration of 50 μ M.

Keywords: Fatty Acids. Omega-6 fatty acids. Oocyte. Embryo. Prostaglandins.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Mecanismos envolvidos na regressão funcional e estrutural do corpo lúteo (Painel A) e na manutenção estrutural e funcional do corpo lúteo, durante o reconhecimento materno fetal (Painel B). A célula endometrial secreta pulsos de alta amplitude de $\text{PGF2}\alpha$ que ao chegar na célula esteroidogênica luteal, determina a luteólise funcional e estrutural do corpo lúteo. A luteólise funcional é caracterizada falência na produção de progesterona e a estrutural pelo desencadeamento dos mecanismos apoptóticos na célula luteal. Na presença do conceito secretando IFNT de maneira competente, ocorre a inibição da secreção de alta amplitude de $\text{PGF2}\alpha$, que se mantém em níveis basais. O IFNT ainda estimula a secreção de PGE2 , esta que ao chegar na célula luteal, impede qualquer ação da $\text{PGF2}\alpha$, além de promover aumento na vascularização do corpo lúteo e aumento a síntese de progesterona além de desfavorecer os mecanismos apoptóticos no corpo lúteo..... 29
- Figura 2 - Desenho esquemático representando a síntese de prostaglandinas na célula endometrial. A síntese de $\text{PGF2}\alpha$ e PGE2 na célula endometrial é determinada da seguinte forma: a enzima fosfolipase A2 (PLA2) libera o ácido araquidônico (AA) da membrana para o citosol, este pode ser convertido pela PTGS1 e/ou PTGS2 em PGH2 . A PGH2 é convertida pelas enzimas PTGES1, 2 ou 3 em PGE2 . A PGH2 é convertida pelas enzimas AKR1B1, AKR1C3 e/ou AKR1C4 em $\text{PGF2}\alpha$. Ainda existe a possibilidade de a PGE2 ser convertida em $\text{PGF2}\alpha$ pela ação da enzima CBR1..... 31
- Figura 3 - Representação esquemática ilustrando a síntese de prostaglandinas no embrião e conceito. Acredita-se que o ácido linoleico conjugado pode alterar a síntese de prostaglandina das seguintes formas: A) aumentando a disponibilidade de AA na membrana, que é a principal matéria prima para síntese de prostaglandinas e/ou B) alterando as enzimas que norteiam a síntese de $\text{PGF2}\alpha$ (AKR1B1, AKR1C3 e AKR1C4) e PGE2 (PTGES1, PTGES2 e PTGES3) e/ou C) e a alterando a enzima que converte a PGE2 em $\text{PGF2}\alpha$ (CBR1)..... 36
- Figura 4 - Delineamento do Experimento Piloto A. Oócitos foram selecionados para compor um dos dois grupos de tratamento: Meio MIV com 10% de SFB + Meio CIV com 2,5% de SFB (**Grupo SFB MIV e CIV**; n = 136); ou Meio MIV sem SFB + Meio CIV com 2,5% de SFB (**Grupo SFB CIV**; n = 135). O cultivo de oócitos e embriões foram realizados em placas de 4 poços (Nunc) contendo 500 μL do meio correspondente a cada tratamento. Ao término da MIV (24 horas após) e da CIV (9 dias após) o meio foi recuperado e armazenado em criotubos para posterior análise por ELISA. No D7 e D9 (D0= dia a fertilização) foi determinada a taxa de blastocisto (número de blastocisto / número de oócitos cultivados x 100). Foram utilizados de 11 a 22 oócitos em cada tratamento para cada repetição, e no total foram realizadas 8 repetições, assim o número experimental de oócitos apresentado por grupo refere-se ao número total de oócitos considerando todas as repetições..... 43
- Figura 5 - Delineamento do Experimento Piloto B. Oócitos foram selecionados para compor um dos dois grupos de tratamento: Meio MIV sem DMSO e sem SFB + Meio CIV sem DMSO e com 2,5% de SFB (**Grupo sem DMSO**; n = 135); ou Meio MIV com 0,15% DMSO sem SFB + Meio CIV com 0,15% DMSO e 2,5% de SFB (**Grupo com DMSO**; n = 135). O cultivo de oócitos e embriões foram realizados em placas de 4 poços (Nunc) contendo 500 μL do meio correspondente a cada tratamento. Ao término da MIV (24 horas após) e da CIV (9 dias após) o meio foi recuperado e armazenado em criotubos para posterior análise por ELISA. No D7 e D9 (D0= dia a fertilização) foi determinada a taxa de blastocisto (número de blastocisto / número de oócitos cultivados x 100). Foram utilizados de 11 a 22 oócitos em cada tratamento para cada repetição, e no total foram realizadas 8 repetições,

assim o número experimental de oócitos apresentado por grupo refere-se ao número total de oócitos considerando todas as repetições.....	45
Figura 6 - Delineamento do Experimento 1. Oócitos foram selecionados para compor quatro grupos de tratamento: Meio MIV sem CLA com 0,15% de DMSO + Meio CIV sem CLA com 0,15% de DMSO (Grupo CLA 0 μM; n = 136); Meio MIV contendo 50 μM de CLA + Meio CIV contendo 50 μM de CLA (Grupo CLA 50 μM; n = 135); Meio MIV contendo 100 μM de CLA + Meio CIV contendo 100 μM de CLA (Grupo CLA 100 μM; n = 135) e Meio MIV contendo 150 μM de CLA + Meio CIV contendo 150 μM de CLA (Grupo CLA 150 μM; n = 135). O cultivo de oócitos e embriões foram realizados em placas de 4 poços (Nunc) contendo 500 μL do meio correspondente a cada tratamento. Ao término da MIV (24 horas após) e da CIV (9 dias após) o meio foi recuperado e armazenado em criotubos para posterior análise por ELISA. No D7 e D9 (D0= dia a fertilização) foi determinada a taxa de blastocisto (número de blastocisto / número de oócitos cultivados x 100). Foram utilizados de 11 a 22 oócitos em cada tratamento para cada repetição, e no total foram realizadas 8 repetições, assim o número experimental de oócitos apresentado por grupo refere-se ao número total de oócitos considerando todas as repetições.....	47
Figura 7 - Delineamento do Experimento 2. Oócitos foram selecionados para compor quatro grupos de tratamento: Meio MIV sem CLA e sem DMSO + Meio CIV sem CLA com 0,15% de DMSO (Grupo CLA 0 μM; n = 131); Meio MIV sem CLA e sem DMSO + Meio CIV contendo 50 μM de CLA (Grupo CLA 50 μM; n = 131); Meio MIV sem CLA e sem DMSO + Meio CIV contendo 100 μM de CLA (Grupo CLA 100 μM; n = 132) e Meio MIV sem CLA e sem DMSO + Meio CIV contendo 150 μM de CLA (Grupo CLA 150 μM; n = 130). O cultivo de oócitos e embriões foram realizados em placas de 4 poços (Nunc) contendo 500 μL do meio correspondente a cada tratamento. Ao término da MIV (24 horas após) e da CIV (9 dias após) o meio foi recuperado e armazenado em criotubos para posterior análise por ELISA. No D7 e D9 (D0= dia a fertilização) foi determinada a taxa de blastocisto (número de blastocisto / número de oócitos cultivados x 100). Foram utilizados de 12 a 28 oócitos em cada tratamento para cada repetição, e no total foram realizadas 8 repetições, assim o n experimental apresentado por grupo refere-se ao número total de oócitos considerando todas as repetições.....	49
Figura 8 - Experimento Piloto A - Concentração de PGF2α e PGE2 no meio de cultivo de oócitos durante a MIV. Média $\pm$ erro padrão das concentrações de PGF2α, PGE2 e a razão PGE2/PGF2α em ng/mL; mensurada por ELISA, em meio de cultivo de oócitos bovinos cultivados por 24 horas em meio MIV sem SFB (SFB CIV; n=135) ou em meio MIV suplementado com 10% e SFB (Grupo SFB MIV e CIV; n=136).....	53
Figura 9 - Experimento Piloto A - Concentração de PGF2α e PGE2 no meio de cultivo de embriões durante a CIV. Média $\pm$ erro padrão das concentrações de PGF2α, PGE2 e a razão PGE2/PGF2α em ng/mL; mensurada por ELISA em embriões com 9 dias de cultivo, produzidos com e Meio MIV com 10% de SFB + Meio CIV com 2,5% de SFB (Grupo SFB MIV e CIV) ou Meio MIV sem SFB + Meio CIV com 2,5% de SFB (Grupo SFB CIV).....	55
Figura 10 - Experimento Piloto A - Experimento Piloto A - Produção de blastocisto no D7. Média + erro padrão da taxa de blastocisto sete dias após a fertilização (D7) com e Meio MIV com 10% de SFB + Meio CIV com 2,5% de SFB (Grupo SFB MIV e CIV) ou Meio MIV sem SFB + Meio CIV com 2,5% de SFB (Grupo SFB CIV)	56
Figura 11 - Experimento Piloto B - Concentração de PGF2α e PGE2 no meio de cultivo de oócitos durante a MIV. Média $\pm$ erro padrão das concentrações de PGF2α, PGE2 e a razão PGE2/PGF2α em ng/mL; mensurada por ELISA, em meio de cultivo de oócitos bovinos	

cultivados por 24 horas em meio MIV sem DMSO (Grupo sem DMSO ; n=135) ou com 0,15% de DMSO (Grupo SFB com DMSO ; n=135).....	57
Figura 12 - Experimento Piloto B - Concentração de PGF2 α e PGE2 no meio de cultivo de embriões durante a CIV. Média $\pm$ erro padrão das concentrações de PGF2 α , PGE2 e a razão PGE2/PGF2 α em ng/mL; mensurada por ELISA em embriões com 9 dias de cultivo, produzidos em Meio MIV sem DMSO e sem SFB + Meio CIV sem DMSO e com 2,5% de SFB (Grupo sem DMSO); ou Meio MIV com 0,15% DMSO sem SFB + Meio CIV com 0,15% DMSO e 2,5% de SFB (Grupo com DMSO)	59
Figura 13 - Experimento Piloto B - Produção de blastocisto no D7. Média $\pm$ erro padrão da taxa de blastocisto sete dias após a fertilização (D7) produzidos em Meio MIV sem DMSO e sem SFB + Meio CIV sem DMSO e com 2,5% de SFB (Grupo sem DMSO); ou Meio MIV com 0,15% DMSO sem SFB + Meio CIV com 0,15% DMSO e 2,5% de SFB (Grupo com DMSO).....	60
Figura 14 - Experimento 1 - Concentração de PGF2 α e PGE2 no meio de cultivo de oócitos durante a MIV. Média $\pm$ erro padrão das concentrações de PGF2 α , PGE2 e a razão PGE2/PGF2 α em ng/mL; mensurada por ELISA no meio de oócitos cultivados por 24 horas em meio MIV sem CLA com 0,15% de DMSO (Grupo CLA 0 μM ; n = 136); Meio MIV contendo 50 μ M de CLA (Grupo CLA 50 μM ; n = 135); Meio MIV contendo 100 μ M de CLA (Grupo CLA 100 μM ; n = 135) e Meio MIV contendo 150 μ M de CLA (Grupo CLA 150 μM ; n = 135).....	61
Figura 15 - Experimento 1 - Concentração de PGF2 α e PGE2 no meio de cultivo de embriões durante a CIV. Média $\pm$ erro padrão das concentrações de PGF2 α , PGE2 e a razão PGE2/PGF2 α em ng/mL; mensurada por ELISA no meio de embriões 9 dias após a fertilização (D9; término da CIV) provenientes de meio MIV sem CLA com 0,15% de DMSO + Meio CIV sem CLA com 0,15% de DMSO (Grupo CLA 0 μM); Meio MIV contendo 50 μ M de CLA + Meio CIV contendo 50 μ M de CLA (Grupo CLA 50 μM); Meio MIV contendo 100 μ M de CLA + Meio CIV contendo 100 μ M de CLA (Grupo CLA 100 μM) e Meio MIV contendo 150 μ M de CLA + Meio CIV contendo 150 μ M de CLA (Grupo CLA 150 μM).....	63
Figura 16 - Experimento 1 - Produção de blastocisto no D7. Média $\pm$ erro padrão da taxa de blastocisto 7 dias após a fertilização (D7) provenientes de meio MIV sem CLA com 0,15% de DMSO + Meio CIV sem CLA com 0,15% de DMSO (Grupo CLA 0 μM); Meio MIV contendo 50 μ M de CLA + Meio CIV contendo 50 μ M de CLA (Grupo CLA 50 μM); Meio MIV contendo 100 μ M de CLA + Meio CIV contendo 100 μ M de CLA (Grupo CLA 100 μM) e Meio MIV contendo 150 μ M de CLA + Meio CIV contendo 150 μ M de CLA (Grupo CLA 150 μM).....	64
Figura 17 - Experimento 2 - Concentração de PGF2 α e PGE2 no meio de cultivo de oócitos durante a MIV. Média $\pm$ erro padrão das concentrações de PGF2 α , PGE2 e a razão PGE2/PGF2 α em ng/mL; mensurada por ELISA no meio de oócitos cultivados por 24 horas sem CLA mas que posteriormente foram tratados na CIV com as referidas concentrações (0, 50, 100 e 150 μ M).....	65
Figura 18 - Experimento 2 - Concentração de PGF2 α e PGE2 no meio de cultivo de embriões durante a CIV. Média $\pm$ erro padrão das concentrações de PGF2 α , PGE2 e a razão PGE2/PGF2 α em ng/mL; mensurada por ELISA no meio de embriões 9 dias após a fertilização (D9; término da CIV) provenientes de Meio MIV sem CLA + Meio CIV sem CLA (Grupo CLA 0 μM); Meio MIV sem CLA + Meio CIV contendo 50 μ M de CLA (Grupo CLA	

50 μM); Meio MIV sem CLA + Meio CIV contendo 100 μM de CLA (**Grupo CLA 100 μM**) e Meio MIV sem CLA + Meio CIV contendo 150 μM de CLA (**Grupo CLA 150 μM**)..... 67

Figura 19 - Experimento 2 - Produção de blastocisto no D7 e D9. Média $\pm$ erro padrão da taxa de blastocisto no D7 e taxa de blastocisto eclodido no D9 (D0 = dia da fertilização) provenientes de Meio MIV sem CLA + Meio CIV sem CLA (**Grupo CLA 0 μM**); Meio MIV sem CLA + Meio CIV contendo 50 μM de CLA (**Grupo CLA 50 μM**); Meio MIV sem CLA + Meio CIV contendo 100 μM de CLA (**Grupo CLA 100 μM**) e Meio MIV sem CLA + Meio CIV contendo 150 μM de CLA (**Grupo CLA 150 μM**)..... 68

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C	Graus Celsius
μM	Micromolar
μL	Microlitro
AA	Ácido araquidônico
AGs	Ácidos graxos
AGPI	Ácidos graxos poliinsaturados
AL	Ácido linoleico
AKR1B1	Enzima PGF sintase B1
AKR1C3	Enzima PGF sintase C3
AKR1C4	Enzima PGF sintase C4
Ca	Cálcio
CIV	Cultivo <i>in vitro</i>
CL	Corpo Lúteo
CLA	Ácido linoleico conjugado
COX-2	Cicloxygenase-2
DHA	Ácido docosahexanóico
DMSO	Dimetilsulfóxido
ELISA	Ensaio de imunoabsorção enzimática
EPA	Ácido eicosapentanóico
FATP	Proteína transportadora de ácidos graxos
FIV	Fertilização <i>in vitro</i>
FU	Fluído uterino
IA	Inseminação artificial
IATF	Inseminação artificial em tempo fixo
IETS	Sociedade Internacional de Transferência de Embriões
IFNT	Interferon-tau
IFNR	Receptores de interferon-tau
ISGF3	Fator Gênico 3 Estimulado por Interferon
LA	Ácido linoleico
LH	Hormônio luteinizante
MII	Meiose II

MIV	Maturação <i>in vitro</i>
AO	Ácido oleico
ONU	Organização das Nações Unidas
OT	Ocitocina
P4	Progesterona
PIVE	Produção de embriões <i>in vitro</i>
PG	Prostaglandina
PGE2	Prostaglandina E2
PGF2α	Prostaglandina F ₂ alfa
PGH2	Prostaglandina H2
PGIs	Enzimas PGIs sintases
PGI2	Prostaglandina I ₂
PGs	Prostaglandinas
PKA	Proteína quinase A
PKC	Proteína quinase C
PLA2	Fosfolipase A ₂
PTGDS	Enzima PGD sintase
PGD2	Prostaglandina D2
PTGES	Enzimas PGEs sintases
PTGE1	Enzima PGE sintase 1
PTGE2	Enzima PGE sintase 2
PTGE3	Enzima PGE sintase 3
PTGER	Receptor de prostaglandina E
PTGFR	Receptor de prostaglandina F
PTGIs	Enzimas PGIs sintases
PTGS1	Prostaglandina-endoperóxido sintase 1
PTGS2	Prostaglandina-endoperóxido sintase 2
RMF	Reconhecimento materno-fetal
SFB	Soro fetal bovino
SLCO2A1	Proteína transportadora de membrana
TETF	Transferência de embriões em tempo fixo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	24
2.1 Mortalidade Embrionária Precoce em Fêmeas Bovinas	24
2.2 Mecanismos Fisiológicos Envolvidos no Reconhecimento Materno-Fetal	26
2.3 Biossíntese e Secreção de Prostaglandinas	30
2.4 Uso de Ácidos Graxos Específicos Como Moduladores da Síntese de Prostaglandinas	31
2.5 Metabolismo Lipídico na Célula	34
2.6 Síntese de Prostaglandina no Embrião	36
2.7 Uso de Ácidos Graxos Específicos Como Promotores da Melhor Qualidade Embrionária	37
3 HIPÓTESE	40
4 OBJETIVOS	40
5 MATERIAL E MÉTODO	40
5.1 Local do Experimento	40
5.2 Recuperação dos Complexos <i>Cumulus</i> -oócito e Seleção	41
5.3 Delineamento Experimental	41
5.3.1 Experimento Piloto A	42
5.3.2 Experimento Piloto B	43
5.3.3 Experimento 1: Efeito de Diferentes Concentrações de CLA na MIV e CIV	45
5.3.4 Experimento 2: Efeito de Diferentes Concentrações de CLA na CIV	47

5.4	Maturação <i>In Vitro</i> dos Oócitos (MIV)	49
5.5	Fertilização <i>In Vitro</i> (FIV)	50
5.6	Cultivo <i>In Vitro</i> dos Embriões (CIV)	50
5.7	Quantificação de PGF2 α e PGE2 por Ensaio Imunoenzimático	51
5.8	Análise Estatística	51
6	RESULTADOS	52
6.1	Experimento Piloto A	52
6.2	Experimento Piloto B	56
6.3	Experimento 1	60
6.4	Experimento 2	64
7	DISCUSSÃO	69
8	CONCLUSÃO	74
9	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75

1 INTRODUÇÃO

A demanda mundial por alimentos cresce de forma proporcional ao aumento da população (FEDOROFF, 2010). O Brasil possui alta representatividade quando se trata da atual e futura produção de alimentos. Em busca de alcançar o máximo de êxito no que se refere aos dezessete objetivos preconizados pela Organização das Nações Unidas (ONU) até 2030 especialmente "Fome Zero, Consumo e Produção Responsável, Ação Climática e Vida na Terra"; o Brasil busca ferramentas para a produção mais eficiente de alimentos, incluindo a produção de proteína vegetal e animal.

Atualmente, o Brasil tem o maior rebanho bovino comercial do mundo, mas ainda não supera os Estados Unidos no volume de produção de carne. Em 2020, a taxa de desfrute (número de animais abatidos dividido pelo número total de animais x 100) no Brasil foi de 20% com o abate de carcaças com um peso médio de 15 arrobas. Em comparação, os norte-americanos desfrutaram de 30% do seu rebanho abatendo carcaças com 24 arrobas (ANUALPEC, 2021). Assim, o rebanho nacional apresenta uma produção de carne/animal abatido aquém da necessária. Na bovinocultura de corte, a produtividade está diretamente relacionada à eficiência reprodutiva das fêmeas, que devem apresentar um intervalo entre partos de 12 meses, gerando a produção de um bezerro/matriz/ano. Em 2020, o rebanho nacional era composto por 80.632.741 matrizes, destas 65.548.639 eram vacas e 15.084.102 novilhas com mais de 24 meses. Em 2020, estimou-se uma produção nacional de 47.984.262 bezerros (ANUALPEC, 2021), caracterizando uma média nacional de 0,6 bezerro/vaca/ano e um intervalo entre partos de aproximadamente 18 meses, fatores que associados caracterizam uma baixa eficiência reprodutiva.

A eficiência da fase de cria é mensurada pelos quilos de bezerros desmamados por vaca ou por hectare. Assim além da produção de um bezerro/vaca/ano almeja-se melhorar a base genética dos produtos nascidos, contribuindo assim para um maior peso dos bezerros ao desmame. Além disso, para que a bovinocultura brasileira supere os índices atuais de produtividade, além da eficiência reprodutiva, o melhoramento genético precisa ser priorizado. Tais requisitos têm alavancado o emprego de biotécnicas aplicadas à reprodução animal, como por exemplo, a inseminação artificial (IA). Para otimizar o emprego da IA, foram desenvolvidos tratamentos que permitem a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) de 100% das fêmeas tratadas em um

momento pré-determinado, procedimento que exclui a necessidade da detecção de estros. No Brasil, estima-se que 20% das fêmeas bovinas tenham sido inseminadas em 2021, sendo aproximadamente 80% do total de inseminações realizadas por IATF. Do total de inseminações realizadas no rebanho nacional, estima-se que 65% foram procedidas em matrizes de corte e 35% em fêmeas destinadas à produção de leite (ASBIA, 2021). Em 2020, estimou-se a venda de 25 milhões de protocolos hormonais de IATF, o que demonstra um emprego crescente e extremamente significativo da referida biotecnologia no território nacional (ASBIA, 2021). A taxa de concepção em rebanhos de corte comerciais no Brasil com o emprego da IATF é de 49,1% (BARUSELLI *et al.*, 2008; SÁ FILHO *et al.*, 2009).

Considerando a importância no aumento da eficiência reprodutiva aliado ao melhoramento genético, o Brasil também se tornou líder mundial no emprego da técnica de transferência de embriões em tempo fixo (TETF). A TETF aliada à produção *in vitro* de embriões (PIVE) constituem biotécnicas poderosas na rápida multiplicação de matrizes expoentes geneticamente superiores. De acordo com a Sociedade Internacional de Transferência de Embriões - IETS (VIANA, 2019), 68,7% dos embriões do mundo são produzidos por PIVE e destes 73,2% são transferidos a fresco, sem prévio congelamento, por TETF. No Brasil, a produção anual de embriões bovinos teve um aumento de 800% ao longo da última década. Atualmente, o Brasil consagrou-se como líder mundial da PIVE na espécie bovina, responsável por 70% do total de embriões gerados no mundo. Entretanto, a metodologia da PIVE ainda apresenta limitações, visto que somente 40 a 50% dos oócitos maturados e fertilizados *in vitro* atingem o estágio de blastocisto (RIZOS *et al.*, 2002).

Após a TETF nas receptoras, as taxas de concepção dificilmente superam 50%. Um dos principais fatores que comprometem o êxito da prenhez em fêmeas bovinas de corte é a mortalidade embrionária precoce, ocasionada por falhas no reconhecimento materno-fetal (RMF), especificamente no período compreendido entre 15 e 17 dias após a fecundação (BINELLI *et al.*, 2001). Para o sucesso no estabelecimento da prenhez, o conceito (embrião e membranas anexas) deve produzir competentemente moléculas que ao interagirem com o endométrio irão inibir a síntese de prostaglandina $F2\alpha$ ($PGF2\alpha$) e a luteólise. Tal ação, preserva funcionalmente e estruturalmente o corpo lúteo (CL), mantendo altas concentrações de progesterona ($P4$) circulantes (GOFF, 2002).

O interferon-tau (IFNT), sintetizado e secretado pelas células trofoblásticas do conceito, foi caracterizado como o principal fator envolvido no RMF na espécie bovina (ROBINSON *et al.*, 2006; EALY; YANG, 2009). Quando o conceito produz de maneira competente o IFNT, o endométrio apresenta a síntese de PGF2 α suprimida enquanto registra-se um aumento na síntese de prostaglandina E2 (PGE2). Na ocorrência de um RMF bem-sucedido, a síntese de PGE2 é aumentada no endométrio e nas células trofoblásticas do embrião e conceito. A PGE2 exerce efeitos anti-luteolíticos e luteotróficos, ambos fundamentais para o êxito da prenhez (McCRACKEN *et al.*, 1999).

O IFNT e a PGE2, ambos de ação luteotrófica, garantem a permanência do CL e manutenção de altas concentrações circulantes de P4, condição fundamental para o estabelecimento da prenhez (TANIKAWA *et al.*, 2005). Na incapacidade do conceito em promover tais ações coordenadas, será determinada a luteólise e a mortalidade embrionária precoce. Assim, estratégias capazes de reduzir a capacidade da síntese de PGF2 α e aumentar a síntese de PGE2 pelo endométrio, embrião e/ou conceito se tornam de grande interesse econômico.

O consumo de dietas com ácido linoleico (AL) sabidamente afeta a via metabólica do ácido graxo poliinsaturado n-6 por meio da biossíntese de eicosanóides, inclusive as prostaglandinas. Conforme descrito por Moussavi *et al.* (2013), em bovinos diferentes isômeros de CLA determinam alterações na produção de PGF2 α e PGE2. O CLA apresenta potencial promissor para modular a síntese das prostaglandinas F2 α e E2.

É reconhecido que o uso de diferentes ácidos graxos pode alterar a proporção de PGF2 α e PGE2 produzidas nas células trofoblásticas em embriões e conceitos (HWANG *et al.*, 1998). Portanto, considerando o impacto das perdas econômicas ocasionadas pela mortalidade embrionária precoce, a suplementação estratégica, com lipídios específicos no meio de cultivo de oócitos e embriões durante a PIVE, objetiva favorecer no embrião e futuro conceito a diminuição da síntese de PGF2 α e o aumento da síntese de PGE2, assim como o aumento da razão PGE2/ PGF2 α . Para o estudo da ação dos ácidos graxos específicos na secreção de PGF2 α e PGE2 inclusive o CLA, o grupo tem utilizado dois modelos biológicos, o cultivo de células trofoblásticas e embriões bovinos produzidos *in vitro*.

Embora vários estudos tenham investigado o uso de CLA em modelos *in vivo* e *in vitro*, o mecanismo de ação dos CLAs é pouco conhecido. A hipótese do referido

estudo é que a suplementação com CLA durante a maturação *in vitro* de oócitos (MIV) e cultivo *in vitro* de embriões (CIV) estimula no oócito (após 24 horas de cultivo) e no embrião (após 9 dias de cultivo) uma menor síntese de $\text{PGF2}\alpha$, maior síntese de PGE2 , maior razão $\text{PGE2/PGF2}\alpha$ e maior taxa de blastocistos no D7 e D9, sendo tal efeito dose dependente. Objetivou-se no Experimento 1 determinar os efeitos de diferentes concentrações de CLA (0, 50, 100 e 150 μM), onde a mesma concentração foi utilizada durante a MIV e CIV, durante a maturação *in vitro* de oócitos (MIV) e cultivo *in vitro* de embriões (CIV), nas concentrações de $\text{PGF2}\alpha$, PGE2 e na razão $\text{PGE2/PGF2}\alpha$ no meio de cultivo de oócitos ao término da MIV (após 24 horas de cultivo) e no meio de cultivo de embriões ao término da CIV (após 9 dias de cultivo), assim como a taxa de produção de blastocisto no D7 e D9 (D0 = dia da fertilização). Objetivou-se no Experimento 2 comparar as diferentes concentrações de CLA (0, 50, 100 e 150 μM) durante a CIV, nas concentrações de $\text{PGF2}\alpha$, PGE2 e na razão $\text{PGE2/PGF2}\alpha$ no meio de cultivo de oócitos ao término da MIV (após 24 horas de cultivo) e no meio de cultivo de embriões ao término da CIV (após 9 dias de cultivo), assim como a taxa de produção de blastocisto no D7 e D9 (D0 = dia da fertilização).

8 CONCLUSÃO

A suplementação com CLA, em todas as doses testadas, durante a MIV e CIV ou exclusivamente na CIV diminui nos embriões a secreção de PGE2 e PGF2 α embora não tenha alterado a razão PGE2/PGF2 α . O uso de CLA na CIV na concentração de 150 μ M diminui a taxa de blastocisto eclodido no D9 comparado a concentração de 50 μ M.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AARDEMA, H.; VOS, P. L. A. M.; LOLICATO, F.; ROELEN, B. A. J.; KNIJN, H. M.; VAANDRAGER, A. B.; HELMS, J. B.; GADELLA, B. M. Oleic acid prevents detrimental effects of saturated fatty acids on bovine oocyte developmental competence. **Biol. Reprod.**, [S.l.], v. 85, p. 62–9, 2011.
- ABSALÓN-MEDINA, V. A.; BEDFORD-GUAUS, S. J.; GILBERT, R. O.; SIQUEIRA, L. C.; ESPOSITO, G.; SCHNEIDER, A.; CHEONG, S. H.; BUTLER, W. R. The effects of conjugated linoleic acid isomers cis-9, trans-11 and trans-10, cis-12 on *in vitro* bovine embryo production and cryopreservation. **J. Dairy Sci.**, [S.l.], v. 97, p. 6164–6176, 2014.
- AL DARWICH, A.; PERREAU, C.; PETIT, M. H.; PAPILLIER, P.; DUPONT, J.; GUILLAUME, D.; MERMILLOD, P.; GUIGNOT, F. Effect of PUFA on embryo cryoresistance, gene expression and AMPK α phosphorylation in IVF-derived bovine embryos. **Prostaglandins Other Lipid Mediat.**, [S.l.], v. 93, p. 30–36, 2010.
- ANUALPEC 2021. São Paulo: Informa Economics FNP, 2021.
- AROSH, J. A.; BANU, S. K.; MCCracken, J. A. Novel concepts on the role of prostaglandins on luteal maintenance and maternal recognition and establishment of pregnancy in ruminants. **J Dairy Sci.**, [S.l.], v. 99, p. 5926-5940, 2016.
- ASBIA - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL. Relatório INDEX ASBIA. 2021. Uberaba, MG.
- ASHWORTH, C. J.; BAZER, F. W. Changes in ovine conceptus and endometrial function following asynchronous embryo transfer or administration of progesterone. **Biology of Reproduction**, [S.l.], v. 40, p. 425-433, 1989.
- ATELLA, G. C.; MAJEROWICZ, D.; GONDIM, K. C. **Metabolismo de lipídeos**. [S.l.]: Instituto de Bioquímica Médica, 2012.
- BARUSELLI, P. S.; MARTINS, C. M.; SALES, J. N. S.; FERREIRA, R. M. Novos avanços na superovulação de bovinos. **Acta Scientiae Veterinaria**, [S.l.], v. 36, p. 433-448, 2008.
- BERTEVELLO, P. S.; TEIXEIRA-GOMES, A. P.; SEYER, A.; VITORINO CARVALHO, A. V.; LABAS, V.; BLACHE, M. C.; BANLIAT, C.; CORDEIRO, L. A. V.; DURANTHON, V.; PAPILLIER, P.; MAILLARD, V.; ELIS, S.; UZBEKOVA, S. Lipid identification and transcriptional analysis of controlling enzymes in bovine ovarian follicle. **Int. J. Mol. Sci.**, [S.l.], v. 19, p. 3261, 2018.
- BINELLI, M.; THATCHER, W. W.; MATTOS, R.; BARUSELLI, P. S. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. **Theriogenology**, [S.l.], v. 56, p. 1451-1463, 2001.
- CARRO, M.; BUSCHIAZZO, J.; RIOS, G. L.; ORESTI, G. M.; ALBERIO, R. H. Linoleic acid stimulates neutral lipid accumulation in lipid droplets of maturing bovine oocytes. **Theriogenology**, [S.l.], v. 79, p. 687-694, 2013.
- CHENG, Z.; ELMES, M.; ABAYASEKARA, D. R. E.; WATHES, D. C. Effects of conjugated linoleic acid on prostaglandins produced by cells isolated from maternal

intercotyledonary endometrium, fetal allantochorion and amnion in late pregnant ewes. **Biochim Biophys Acta**, [S.l.], v. 1633, p. 170–178, 2003.

COOKE, R. F. Early career achievement award: supplementing omega-6 fatty acids to enhance early embryonic development and pregnancy establishment in *Bos indicus* and *B. taurus* beef cows. **J. Anim. Sci.**, [S.l.], v. 97, p. 485–495, 2019. DOI 10.1093/jas/sky414

CORDEIRO, M. B.; PERES, M. S.; DE SOUZA, J. M.; GASPAR, P.; BARBIERE, F.; SÁ FILHO, M. F.; FILHO, M. M.; DINARDI, R. N.; NOGUEIRA, G. P.; MESQUITA, F. S.; PUGLIESI, G.; MARTINS, T.; BINELLI, M.; MEMBRIVE, C. M. B. Supplementation with sunflower seed increases circulating cholesterol concentrations and potentially impacts on the pregnancy rates in *Bos indicus* beef cattle. **Theriogenology**, [S.l.], v. 83, p. 1461-1468, 2015.

COSTA, R. L. D.; FONTES, R. S. Ácidos graxos na nutrição e reprodução de ruminantes. **PUBVET**, Londrina, v. 4, n. 24, ed. 129, art. 873, 2010.

DEL COLLADO, M.; DA SILVEIRA, J. C.; OLIVEIRA, M. L. F.; ALVES, B. M. S. M.; SIMAS, R. C.; GODOY, A. T.; COELHO, M. B.; MARQUES, L. A.; CARRIERO, M. M.; NOGUEIRA, M. F. G.; EBERLIN, M. N.; SILVA, L. A.; MEIRELLES, F. V.; PERECIN, F. In vitro maturation impacts *cumulus*–oocyte complex metabolism and stress in cattle. **Reproduction**, [S.l.], v. 154, p. 881–93, 2017.

DEL COLLADO, M.; SARAIVA, N. Z.; LOPES, F. L.; GASPAR, R. C.; PADILHA, L. C.; COSTA, R. R.; ROSSI, G. F.; VANTINI, R.; GARCIA, J. M. Influence of bovine serum albumin and fetal bovine serum supplementation during in vitro maturation on lipid and mitochondrial behaviour in oocytes and lipid accumulation in bovine embryos. **Reprod. Fertil. Dev.**, [S.l.], 2015. DOI 10.1071/RD15067.

EALY, A. D.; LARSON, S. F.; LIU, L.; ALEXENKO, A. P.; WINKELMAN, G. L.; KABISH, H. M.; BIXBY, J. A.; ROBERTS, R. M. Polymorphic forms of expressed bovine interferon-tau genes: relative transcript abundance during early placental development, promoter sequences of genes and biological activity of protein products. **Endocrinology**, [S.l.], v. 142, p. 2906-2915, 2001.

EALY, A. D.; YANG Q. E. Control of Interferon-tau expression during early pregnancy in ruminants. **American Journal of Reproductive Immunology**, [S.l.], v. 61, p. 95-106, 2009.

FAYEZI, S.; LEROY, J. L.; NOVIN, M. G.; DARABI, M. Oleic acid in the modulation of oocyte and preimplantation embryo development. **Zygote**, [S.l.], p. 1-13, 2018.

FERGUSON, E. M.; LEESE, H. J. Triglyceride content of bovine oocytes and early embryos. **J. Reprod. Fertil.**, [S.l.], v. 116, p. 373-8, 1999.

FOULADI-NASHTA, A. A.; GUTIERREZ, C. G.; GONG, J. G.; GARNSWORTHY, P. C.; WEBB, R. Impact of dietary fatty acids on oocyte quality and development in lactating dairy cows. **Biol. Reprod.**, [S.l.], v. 77, p. 9–17, 2007.

GILLER, K.; DREWS, B.; BERARD, J.; KIENBERGER, H.; SCHMICKE, M.; FRANK, J.; SPANIER, B.; DANIEL, H.; GEISSLINGER, G.; ULBRICH, S. E. Bovine embryo

elongation is altered due to maternal fatty acid supplementation. **Biology of Reproduction**, [S.I.], v. 99, n. 3, p. 600–610, DOI 10.1093/biolre/iyoy084, 2018.

GOFF, A. K. Embryonic signals and survival. **Reprod. Domest Anim.**, [S.I.], v. 37, p. 133-139, 2002.

GUILLOMOT, M. Cellular interactions during implantation in domestic ruminantes. **Journal of Reproduction and Fertility**, [S.I.], v. 49, p. 39-51, 1995.

GUREVICH, M.; HAREL-MARKOWITZ, E.; MARCUS, S.; SHORE, L. S.; SHEMESH, M. Prostaglandin production by the oocyte *cumulus* complex around the time of fertilization and the effect of prostaglandin E on the development of the early bovine embryos. **Reprod. Fertil. Dev.**, [S.I.], v. 5, p. 281-283, 1993.

HILLMAN, N.; FLYNN, T. J. The metabolism of exogenous fatty acids by preimplantation mouse embryos developing in vitro. **J. Embryol. Exp. Morphol.**, [S.I.], v. 56, p. 157-168, 1980.

HIZAKI, H.; SEGI, E.; SUGIMOTO, Y.; HIROSE, M.; SAJI, T.; USHIKUBI, F.; MATSUOKA, T.; NODA, Y.; TANAKA, T.; YOSHIDA, N.; NARUMIYA, S.; ICHIKAWA, A. Abortive expansion of the *cumulus* and impaired fertility in mice lacking the prostaglandin E receptor subtype EP. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, [S.I.], v. 96, p. 10501–10506, 1999.

HWANG, D. H.; POOL, S. H.; RORIE, R. W.; BOUDREAU, M.; GODKE, R. A. Transitional changing in arachidonic acid metabolism by bovine embryos at different developmental stages. **Prostaglandins**, [S.I.], v. 35, p. 387-402, 1988.

INSKEEP E. K.; DAILEY, R. A. Embryonic death in cattle. **Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice**, [S.I.], v. 21, p. 437-461, 2005.

KARAŞAHİN, T.; ARIKAN, S. The effect of oleic and linoleic acids on *in vitro* bovine embryonic development and embryo quality. **Turk. J. Vet. Anim. Sci.**, [S.I.], v. 39, p. 154–159, 2015.

KIM, S.; CHOI, Y.; BAZER, F. W.; SPENCER, T. E. Identification of genes in the ovine endometrium regulated by interferon tau independent of signal transducer and activator of transcription 1. **Endocrinology**, [S.I.], v. 144, p. 5203-5214, 2003.

KIRFEL, G.; KOMNICK, H. Differential absorption and esterification of dietary long-chain fatty acids by larvae of the dragonfly, *Aeshna cyanea*. **Physiol.**, [S.I.], v. 40, p. 183–193, 1999.

LEROY, J.L.; VANHOLDER, T.; MATEUSEN, B. Non-esterified fatty acids in follicular fluid of dairy cows and their effect on developmental capacity of bovine oocytes *in vitro* **Reproduction**, [S.I.], v. 130, p. 485-495, 2005.

LEWIS, G. S. Prostaglandin secretion by the blastocyst. **J. Repro. Fertil.**, [S.I.], (Suppl.), v. 37, p. 261-267, 1989.

LEWIS, G. S.; WATERMAN, R. A. Effects of endometrium on metabolism of arachidonic acid by bovine blastocysts. **Prostaglandins**, [S.I.], v. 25, p. 881–889, 1983.

LIU, C. H.; LEE, M. S.; HSIEH, C. H.; HUANG, C. C.; TSAO, H. M.; HSIEH, Y. S. Prostacyclin enhances mouse embryo development and hatching but not increased embryonic cell number and volume. **Fertil Steril.**, [S.l.], v. 86, Suppl. 4, p. 1047-1052, 2006.

LOURENÇO, V. C. **Efeitos da suplementação com ácido oleico e linoleico conjugado na secreção de prostaglandina E2 e F2 α em células trofoblásticas bovinas**. 2022. 72 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Animal) – Universidade Estadual Paulista (UNESP), Dracena, 2022.

LOPES, C. N.; COOKE, R. F.; REIS, M. M.; PERES, R. F. G.; VASCONCELOS, J. L. Suplementação estratégica de ácidos graxos poliinsaturados protegidos no rúmen para melhorar o desempenho reprodutivo de vacas de corte *Bos indicus*. **J. Anim. Ciência**, [S.l.], v. 89, p. 3116–3124, 2011. DOI 10.2527/jas.2011–3909

LOPES, C. N.; SCARPA, A. B.; CAPPELLOZZA, B. I.; COOKE, R. F.; VASCONCELOS, J. L. Efeitos da suplementação com ácidos graxos poliinsaturados protegidos no rúmen sobre o desempenho reprodutivo de vacas de corte *Bos indicus*. **J. Anim. Ciência**, [S.l.], v. 87, p. 3935–3943, 2009. DOI 10.2527/jas.2009-2201

MACHADO R. S.; SUDANO R. J.; BARBOSA, R. T.; BERGAMASCHI, M. A. M. C.; BINELLI, M. Metodologia para obtenção de conceito bovino. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, (2009. p. 22. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento).

MAGNESS, R. R.; HUIE, J. M.; HOYER, G. L.; HUECKSTEADT, T. P.; REYNOLDS, L. P.; SEPERICH, G. J.; WHYSONG, G.; WEEMS, C. W. Effect of chronic ipsilateral or contralateral intrauterine infusion of prostaglandin E2 (PGE2) on luteal function of unilaterally ovariectomized ewes. **Prostaglandins and Medicine**, [S.l.], v. 6, n. 4, p. 389-401, 1981.

MAREI, W. F.; WATHES, D. C.; LOULADI-NASHTA, A. A. Impact of linoleic acid on bovine oocyte maturation and embryo development. **Reproduction**, [S.l.], v. 139, p. 979–988, DOI 10.1530/REP-09-0503, 2010

MATTOS, R.; GUZELOGLU, A.; BADINGA, L.; STAPLES, C. R.; THATCHER, W. W. Polyunsaturated fatty acids and bovine interferon-tau modify phorbol ester-induced secretion of prostaglandin F2 alpha and expression of prostaglandin endoperoxide synthase-2 and phospholipase-A2 in bovine endometrial cells. **Biology of Reproduction**, [S.l.], v. 69, p. 780-787, 2003.

MCCRACKEN, J. A.; CUSTER, E. E.; LAMSA, J. C. Luteolysis: a neuroendocrine-mediated event. **Physiol Rev.**, [S.l.], v. 72, p. 263-323, 1999.

MEIER, S.; LEDGARD, A. M.; SATO, T. A.; PETERSON, A. J.; MITCHELL, M. D. Polyunsaturated fatty acids differentially alter PGF2 α and PGE2 release from bovine trophoblast and endometrial tissues during short-term culture. **Animal Reproduction Sciences**, [S.l.], v. 111, p. 353-360, 2009.

MOUSSAVI, A. H.; BUTLER, W. R.; BAUMAN, D. E.; GILBERT, R. O. Effects of conjugated linoleic acids on prostaglandin secretion by bovine endometrial epithelial cells in vitro. **Am. J. Vet. Res.**, [S.l.], v. 74, p. 491-498, 2013.

OLDICK, B. S.; STAPLES, C. R.; THATCHER, W. W.; GYAWU, P. Abomasal infusion of glucose and fat – effects on digestion, production, and ovarian and uterine functions of cows. **J. Dairy Sci.**, [S.l.], v. 80, p. 1315-1328, 1997.

OLIVEIRA, M. L. **Efeito do ambiente periovulatório na expressão gênica do endométrio durante a primeira semana do ciclo estral em bovinos**: biossíntese e sinalização de eicosanóides. 2013. 133 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2013.

PACZKOWSKI, M.; SCHOOLCRAFT, W. B.; KRISHER, R. L. Fatty acid metabolism during maturation affects glucose uptake and is essential to oocyte competence. **Reproduction**, [S.l.], v. 148, p. 429-39, 2014.

PEREIRA, R. M.; BAPTISTA, M. C.; VASQUES, M. I.; HORTA, A. E. M.; PORTUGAL, P. V.; BESSA, R. J. B.; SILVA, J. C. E.; PEREIRA, M. S.; MARQUES, C. C. Cryosurvival of bovine blastocysts is enhanced by culture with trans-10 cis-12 conjugated linoleic acid (10t,12c CLA). **Anim. Reprod. Sci.**, [S.l.], v. 98, n. 3–4, p. 293–301, 2007.

PHONGNIMITR, T.; LIANG, Y.; SRIRATTANA, K.; PANYAWAI, K.; SRIPUNYA, N.; TREETAMPINICH, C.; PARNPAI, R. Effect of L-carnitine on maturation, cryo-tolerance and embryo developmental competence of bovine oocytes. **Anim. Sci. J.**, [S.l.], v. 84, p. 719–725, 2013.

RIOS-ESTEVEZ, J.; RESH, M. D. Stearoyl CoA desaturase is required to produce active, lipid-modified Wnt proteins. **Cell Rep.**, [S.l.], v. 4, p. 1072–1081, 2013.

RIZOS, D.; FAIR, T.; PAPADOPOULOS, S.; BOLAND, M. P.; LONERGAN, P. Development, qualitative, and ultrastructural differences between ovine and bovine embryos produced in vivo or in vitro. **Mol. Reprod. Dev.**, [S.l.], v. 62, p. 320-327, 2002.

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

RYAN, D. P. Ovarian follicular characteristics, embryo recovery, and embryo viability in heifers fed high fat diets and treated with follicle-stimulating hormone. **Journal of Animal Science**, [S.l.], v. 70, p. 3505-3513, 1992.

SÁ FILHO, O. G.; MENEGHETTI, M.; PERES, R. F. G.; LAMB, G. C.; VASCONCELOS, J. L. M. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cattle. I. Strategies and factors affecting fertility. **Theriogenology**, [S.l.], v. 72, p. 210–218, 2009.

SAINTE-DIZIER, M.; GRIMARD, B.; GUYADER-JOLY, C.; HUMMBLOT, P.; PONTER, A. A. Expression of enzymes involved in the synthesis of prostaglandin E2 in bovine in vitro-produced embryos. **Zygote**, [S.l.], p. 277–283, 2011. DOI 10.1017/S0967199410000596. 2011.

SANTOS, J. E. P.; CERRI, R. L. A.; BALLOU, M. A.; HIGGINBOTHAM, G. E.; KIRK, J. H. Effect of timing of first clinical mastitis occurrence on lactational and reproductive performance of holstein dairy cows. **Animal Reproduction Science**, [S.l.], v. 80, p. 31-45, 2004.

SARTORI, R. Fertilização e morte embrionária em bovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**, [S.l.], v. 32 (supl.), p. 35-50, p.19, 2004.

SATORI, R.; SARTOR-BERGFELT, R.; MARTENS, S. A.; GUENTHER, J. N.; PARRISH, J. J.; WILTBANK, M. C. Fertilization and early embryonic development in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. **Journal of Dairy Science**, [S.l.], v. 85, n. 11, p. 2803-2812, 2002.

SCENNA, F. N.; EDWARDS, J. L.; ROHRBACH, N. R.; HOCKETT, M. E.; SAXTON, A. M.; SCHRICK, F. N. Detrimental effects of prostaglandin F2alpha on preimplantation bovine embryos. **Prostaglandins Other Lipid Mediat.**, [S.l.], v. 73, p. 215-226, 2004.

SEIDEL, G. E. Modifying oocytes and embryos to improve their cryopreservation. **Theriogenology**, [S.l.], v. 65, p. 228-35, 2006.

SPENCER, T. E.; BAZER, F. W. Uterine and placental factors regulating conceptus growth in domestic animals. **Journal Animal Science**, [S.l.], v. 82, E4-E13, 2004a.

SPENCER, T. E.; BURGHARDT, R. C.; JOHNSON, G. A.; BAZER, F. W. Conceptus signal signals for establishment and maintenance of pregnancy. **Animal Reproduction Science**, [S.l.], v. 82-83, p. 537-550, 2004b.

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

STINSHOFF, H.; WILKENING, S.; HANSTEDT, A.; BOLLWEIN, H.; WRENZYCKI, C. Dimethylsulfoxide and conjugated linoleic acids affect bovine embryo development in vitro. **Reprod Fertil Dev**, [S.l.], v. 26, p. 502-510, 2014.

SUDANO, M. J.; RASCADO, T. D. S.; TATA, A.; BELAZ, K. R. A.; SANTOS, V. G.; VALENTE, R. S.; MESQUITA, F. S.; FERREIRA, C. R.; ARAÚJO, J. P.; EBERLIN, M. N.; LADIM-ALVARENGA, F. D. C. Lipidome signatures in early bovine embryo development. **Theriogenology**, [S. l.], v. 86, p. 472–84, 2016.

SUWIK, K.; BORUSZEWSKA, D.; SINDEREWICZ, E.; KOWALCZYK-ZIEBA, I.; STASZKIEWICZ-CHODOR, J.; WOCLAWEK-POTOCKA, I. Expression profile of developmental competence gene markers in comparison with prostaglandin F2α synthesis and action in the early- and late-cleaved pre-implantation bovine embryos. **Reprod. Dom. Anim.**, [S.l.], v. 56, p. 437–447, 2020. DOI 10.1111/rda.13880

TANIKAWA, M.; ACOSTA, T. J.; FUKUI, T.; MURAKAMI, S.; KORZEKWA, A.; SKARZYNSKI, D. J.; PIOTROWSKA, K. K.; PARK, C. K.; OKUDA, K. Regulation of prostaglandin synthesis by interleukin-1 alpha in bovine endometrium during the estrous cycle. **Prostaglandins Other Lipid Mediat.**, [S.l.], v. 78, p. 279-290, 2005.

THANGAVELU, G.; COLAZO, M. G.; AMBROSE, D. J.; OBA, M.; OKINE, E. K.; DYCK, M. K. Diets enriched in unsaturated fatty acids enhance early embryonic development in lactating Holstein cows. **Theriogenology**, [S. l.], v. 68, p. 949–957, 2007.

THATCHER, W. W.; GUZELOGLU, A.; MATTOS, R.; BINELLI, M.; HANSEN, T. R.; PRU, J. K. Uterine-conceptus interactions and reproductive failure in cattle. **Theriogenology**, [S.l.], v.56, p. 1435-1440, 2001.

TOMINAGA, K.; SHIMIZU, M.; OOHAMA, S.; IZAIKE, Y. Effect of lipid polarization by centrifugation at different developmental stages on post-thaw survival of bovine in vitro produced 16-cell embryos. **Theriogenology**, [S. l.], v. 53, p. 1669–80, 2000.

VANROOSE, G.; KRUIF, A.; SOOM, A. V. Embryonic mortality and embryo–pathogen interactions. **Animal Reproduction Science**, [S. l.], v. 60-61, p.131-143, 2000.

VIANA, J. Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals. **Embryo Technology Newsletter**, Champaign, v. 38, n. 4, p. 1-15, 2019.

WATHES, D. C.; ABAYASEKARA, D. R. E.; AITKEN, R. J. Polyunsaturated fatty acids in male and female reproduction. **Biology of Reproduction**, [S. l.], v. 77, p. 190-201, 2007.

WENTZEL, P.; WELSH, N.; ERICKSSON, U. J. Developmental damage, increased lipid peroxidation, diminished cyclooxygenase-2 gene expression, and lowered prostaglandin E2 levels in rat embryos exposed to a diabetic environment. **Diabetes**, [S. l.], v. 48, p. 813-820, 1999.

WHITE, H. M.; KOSER, S. L.; DONKIN, S. S. Gluconeogenic enzymes are differentially regulated by fatty acid cocktails in Madin-Darby bovine kidney cells. **J. Dairy Sci.**, v. 95, p. 1249-1256, 2012. DOI 10.3168/jds.2011-4644

XAVIER, F.; LAGARRIQUE, S.; GUILMOT, M.; GAILLARD-SANCHEZ, I. Expression of c-fos and jun proto-oncogenes in ovine trophoblasts in relation to interferon -tau expression and early implantation process. **Molecular, Reproduction and Development**, [S.l.], v.46, p. 127-137, 1997.

YA, R.; DOWNS, S. M. Suppression of chemically induced and spontaneous mouse oocyte activation by AMP-activated protein kinase. **Biology of Reproduction**, [S.l.], v. 88, p. 1-11, 2013.