

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 04/11/2018.

UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Campus de Botucatu

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

**EFEITOS DOS FATORES SECRETADOS PELO OÓCITO
(OSF) SOBRE A DIFERENCIAÇÃO DAS CÉLULAS DO
CUMULUS DURANTE A MATURAÇÃO IN VITRO (MIV)
EM BOVINOS**

PAULA FERNANDA DE LIMA

Tese de doutorado

Botucatu - SP

Novembro de 2016

UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Campus de Botucatu

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

PAULA FERNANDA DE LIMA

**EFEITOS DOS FATORES SECRETADOS PELO OÓCITO
(OSF) SOBRE A DIFERENCIAÇÃO DAS CÉLULAS DO
CUMULUS DURANTE A MATURAÇÃO IN VITRO (MIV)
EM BOVINOS**

Tese de Doutorado Apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Farmacologia e Biotecnologia do
Instituto de Biociências da
Universidade Estadual Paulista-Unesp,
para Obtenção do Grau de Doutor em
Farmacologia e Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. José Buratini Junio

Coorientadora: Profa Dra. Fernanda da Cruz Landim

Botucatu - SP

Novembro de 2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÊC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Lima, Paula Fernanda de.

Efeitos dos fatores secretados pelo oócito (OSF) sobre a diferenciação das células do cumulus durante a maturação in vitro (MIV) em bovinos / Paula Fernanda de Lima. - Botucatu, 2016

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: José Buratini Júnior

Coorientador: Fernanda da Cruz Landim

Capes: 20804008

1. Bovino. 2. Técnicas de maturação in vitro de oócitos. 3. Oócitos. 4. Fibroblastos.

Palavras-chave: Bovino; FGF10; células da granulosa; oócito.

PAULA FERNADA DE LIMA

Efeitos dos fatores secretados pelo oócito (OSF) sobre a diferenciação das células do cumulus durante a maturação in vitro (MIV) em bovinos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia e Biotecnologia do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora

Orientador Prof.Dr. José Buratini

Comissão Examinadora

Dra. Gisele Zoccal Mingoti
Universidade Estadual Paulista

Dr. Juliano da Silveira
Universidade São Paulo

Dr. Marcelo Marcondes Seneda
Universidade Estadual de Londrina

Dr. Marcelo Fábio Gouveia Nogueira
Universidade Estadual Paulista

Botucatu, 04 de novembro de 2016

Dedico esse trabalho aos meus pais Maria Isabel e Paulo

Agradecimentos

Especialmente ao meu orientador, **Prof. Dr. José Buratini Junior**, agradeço pelo apoio, incentivo e ensinamentos e também a atenção dispensada desde o treinamento técnico em 2009 até agora. Tenho por você grande admiração, gratidão e respeito.

À **UNESP** – Instituto de Biociências, pela oportunidade concedida para a realização deste doutorado.

Aos **Professores e colegas** do Departamento de Fisiologia, pela amizade e incentivo e os momentos alegres que me proporcionaram.

Aos **Funcionários** da seção de pós-graduação pela ajuda e colaboração durante todo o meu doutorado.

Aos meus irmãos **Lucas e Vinícius** pelo incentivo, apoio, carinho e amor dedicado.

À grande amiga **Miriam Büchler Tarumoto**, agradeço por sempre me apoiar, me ouvir, por me ajudar sempre e ser uma amiga verdadeira, o meu braço direito.

Ao **Prof. Christopher Alan Price**, do Centro de Pesquisa em Reprodução Animal, da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Montreal, Canadá pela constante ajuda no desenvolvimento deste trabalho e também por me supervisionar durante o período de seis meses que estive em seu laboratório.

Aos amigos **Hilda M. G. Netto** e **Peng Han** que me auxiliaram muito durante o período que passei na Universidade de Montreal.

Ao **time do Lab Bura**, todos que passaram pelo laboratório desde o início do doutorado o meu muito obrigada.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – **FAPESP**, pela concessão da bolsa de doutorado e pelo suporte financeiro.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – **CNPq**, pela concessão da bolsa de doutorado sandwich - modalidade SWE pelo programa Ciência sem Fronteiras.

Muito obrigada!

“Descobrir consiste em olhar para o que todo mundo está vendo e pensar uma coisa diferente”.
(Roger Von Oech)

RESUMO

DE LIMA, P.F. Efeitos dos fatores secretados pelo oócito (OSF) sobre a diferenciação das células do cumulus durante a maturação *in vitro* (MIV) em bovinos. Botucatu, 2016. Tese (Doutorado – Farmacologia e Biotecnologia) – Instituto de Biociências, IB, Universidade Estadual Paulista –UNESP.

O oócito é responsável por regular os mecanismos da maturação do complexo cumulus oócito (COC) principalmente via secreção de fatores parácrinos. Dentre os fatores secretados pelo oócito (OSF) desta-se o fator de crescimento dos fibroblastos 10 (FGF10), e dois fatores TGF β mais estudados a proteína morfogenética óssea 15 (BMP15) e fator de crescimento de diferenciação 9 (GDF9) e estão associados com o desenvolvimento da competência oocitária. O presente trabalho investigou a regulação do oócito sobre as células do cumulus em dois cenários atuais da maturação *in vitro*, na presença de hormônio folículo estimulante (FSH) ou ampirregulina (AREG). A ausência do oócito afeta a expansão das células do cumulus e também o consumo de glicose e a produção de lactato e a adição de oócitos desnudos reverte o efeito da oocetomia na expansão mas não no consumo de glicose nem na produção de lactato. A oocetomia afeta também a expressão gênica reduzindo a abundância de RNAm de hialurona sintetase 2 (*HAS2*) e elevando a expressão de prostaglandina sintase 2 (*PTGS2*), pentraxina 3 (*PTX3*) e proteína indutora do fator de necrose tumoral 6 (*TNFAIP6*) na presença de FSH e AREG. A adição de oócitos desnudos reverte o efeito da oocetomia sobre a expressão de RNAm de AREG às 4 horas de cultivo, *HAS2* e *PTGS2* às 22 horas de cultivo apenas quando os complexos foram cultivados na presença de AREG. Adicionalmente foi investigado a ação isolada do FGF10 sobre a diferenciação das células do cumulus. O FGF10 reverte o efeito da ausência do oócito sobre a expansão das células e na expressão de *HAS2* e *GFPT1* apenas às 22 horas no cumulus mas não do consumo de glicose nem da produção de lactato, o que mostra um efeito tardio do FGF10 necessitando da presença de outros OSF para que sua ação seja logo ao início de cultivo como visto anteriormente na literatura. Complementar aos resultados é apresentado que as células do cumulus possuem um controle intracumulus de ativação de SMAD2 pela presença de BMP15 e GDF9 nas células do cumulus. Em síntese os fatores secretados pelo oócito regulam as funções das células do cumulus bem como a expressão de RNAm de genes importantes durante a maturação do COC e esses fatores podem regular diferencialmente as células do cumulus na presença de FSH ou AREG.

Palavras Chave: Expansão do cumulus; Fatores EGF-*like*; AREG, FSH

ABSTRACT

DE LIMA, P.F. The effects of oocyte secreted factors (OSF) on the differentiation of cumulus cells during in vitro maturation (IVM) in cattle. Botucatu, 2016. Thesis (PhD – Pharmacology and Biotechnology) – Instituto de Biociências, IB, Universidade Estadual Paulista –UNESP.

The oocyte is responsible for regulating mechanisms of cumulus oocyte complex (COC) maturation mainly through secretion of paracrine factors. Including oocyte secreted factors (OSF) are the fibroblast growth factor 10 (FGF10), and two TGF beta factors most studied, bone morphogenetic protein 15 (BMP15) differentiation and growth factor 9 (GDF9), and they are associated with the oocyte development of competence. This study investigated the regulation of oocyte cumulus cells on two current scenarios in vitro maturation in the presence of follicle stimulating hormone (FSH) or ampirregulina (AREG). The absence of oocyte affects the expansion of the cumulus cells and also the glucose consumption and lactate production and addition of denuded oocytes reverses the effect of the expansion oocectomy but not glucose consumption or lactate production. The oocectomy also affects gene expression by reducing the abundance of mRNA hialurona synthetase 2 HAS2 and raising synthase prostaglandin expression 2 (PTGS2), pentraxin 3 (PTX3) and inducing protein of the tumor necrosis factor 6 (TNFAIP6) in the presence of FSH and AREG. The addition of denuded oocytes reverses the effect of AREG on oocectomy mRNA expression at 4 hours of culture, HAS2 and PTGS2 to 22 hours of cultivation only when complexes were grown in the presence of AREG. Additionally it investigated the isolated FGF10 action on the differentiation of cumulus cells. FGF10 reverses the effect of on the expansion of the cells and the expression of HAS2 and GFPT1 apenas to 22 hours in cumulus but not glucose consumption or lactate production, which shows a delayed effect of FGF10 necessitating the presence of other OSF to soon effect as seen previously in the literature. Complementary to the results, it appears that the cumulus cells have an intracumulus control Smad2-activation by the presence of GDF9 and BMP15 in cumulus cells. In summary the oocyte secreted factors regulate the functions of the cumulus cells and the mRNA expression of important genes during maturation of the COC and these factors may differentially regulate cumulus cells in the presence of FSH or AREG

Keywords: cumulus expansion; EGF-like factors; AREG; FSH.

Lista de Figuras

Capítulo 1

Figura 1 - Modelo de coordenação de GMPc e AMPc no controle da parada meiótica. CNP – peptídeo natriurético; NPR2 – receptor peptídeo natriurético 2; GVBD – quebra da vesícula germinativa. ----- Pg. 17

Figura 2 - Modelo esquemático da formação da matriz extracelular formada pela ligação entre PTX3 e TSG6 que se estabilizam e formam um ponto de ancoragem para as cadeias de HA.----- Pg. 21

Figura 3 – Modelo esquemático da sinalização EGFR sobre as células do cumulus na indução da maturação do complexo cumulus oócito com FSH. Após estímulo pelo FSH a proteína ADAM cliva a AREG da membrana celular permitindo que ligue ao seu receptor, desencadeando a cascata de sinalização intracelular da ERK1/2 e PI3K/AKT estimulando a produção de PTGS2, TSG6, PTX3, HAS2 e ácido hialurônico. ----- Pg.21

Figura 4 - Modelo para homo e heterodímeros de BMP15 e GDF9 na regulação das funções das células da granulosa em humanos e ovelhas (A) e em camundongos e ratos (B). ----- Pg. 24

Capítulo 2

Figure 1 - Effect of oocyte removal on cumulus expansion, glucose uptake and lactate production from intact COC (black bars) and OOX (grey bars) submitted to 22 hours of IVM in the presence of FSH or AREG at concentration of 10ng/ml or AREG at concentration of 100ng/ml. Significant difference between COC and OOX are represented with “*” and significant difference between treatments are presented with different letters (p<0.05). Data were derived from five independent replicates. Representation of the Oocytectomy procedure (A) and OOX group (B). ----- Pg. 53

Figure 2 - Effects of oocyte removal in the presence of FSH, AREG at 10 and 100ng/ml on *HAS2*, *PTX3*, *PTGS2* and *TNFAIP6* mRNA levels in cumulus cells. COCs were cultured intact (COC, black bars) or oocyctomized (OOX, grey bars) for 22 hours. Messenger RNA abundance was measured by real-time PCR. Data are presented as mean values (\pm S.E.M.) relative to a calibrator sample by the $\Delta\Delta$ Ct method with efficiency correction. Significant difference between COC and OOX are represented with “*” and significant difference between treatments are presented with different letters (P<0.05). Data were derived from five independent replicates. ----- Pg. 54

Figure 3 - Effect of oocyte removal and oocyte replacement in the presence of FSH or AREG on cumulus expansion, glucose uptake and lactate production. COCs were cultured intact (COC), oocyctomized (OOX) or oocyctomized with denuded oocytes (OOX + DO) for 22 hours. Significant difference between COC and OOX are represented with “*” and significant difference between treatments are presented with different letters (p<0.05). Data were derived from four independent replicates. ----- Pg. 55

Figure 4 - Effects of oocyte removal and oocyte replacement in the presence of FSH or AREG on *AREG*, *EGFR*, *ADAM10*, *HAS2*, *CD44* and *PTGS2* mRNA levels in cumulus cells. COCs were cultured intact (COC), oocyctomized (OOX) or oocyctomized with denuded oocytes (OOX + DO) for 4 hours. Messenger RNA abundance was measured by real-time PCR. Data are presented as mean values (\pm S.E.M.) relative to a calibrator sample by the $\Delta\Delta$ Ct method with efficiency correction. Bars with different letters are significantly different (P < 0.05). Data were derived from four independent replicates. ----- Pg. 56

Figure 5 - Effects of oocyte removal and oocyte replacement in the presence of FSH or AREG on *PTGS2*, *HAS2*, *PTX3*, *TNFAIP6* and *CD44* mRNA levels in cumulus cells. COCs were cultured intact (COC), oocyctomized (OOX) or oocyctomized with denuded oocytes (OOX + DO) for 22 hours. Messenger RNA abundance was measured by real-time PCR. Data are presented as mean values (\pm S.E.M.) relative to a calibrator sample by the $\Delta\Delta$ Ct method with

efficiency correction. Bars with different letters are significantly different ($P < 0.05$). Data were derived from four independent replicates. ----- Pg. 57

Figure 6: Illustrative model of the AREG signaling in cumulus cells and the influence of OSFs. ----- Pg. 58

Capítulo 3

Figure 1 - Effect of oocyte removal and FGF10 on OOX cumulus expansion. The cumulus cells expansion from intact COC; OOX; OOX+FGF10 at 1 and 10 ng/ml were evaluated after 22 hours of IVM in the presence of FSH. Significant difference between treatments are presented with different letters ($p < 0.05$). Data were derived from five independent replicates. ----- Pg. 77

Figure 2 - Effect of oocyte removal and grading doses of FGF10 (1 and 10 ng/ml) on OOX cumulus cells mRNA abundance of *ADAM10*, *AREG*, *EREG*, *CD44*, *TSG6*, *PTX3*, *PTGS2*, *HAS2*, *GFPT1* and *GFPT2* after 4 hours of IVM. Messenger RNA abundance was measured by real-time PCR. Data are presented as mean values (\pm S.E.M.) relative to a calibrator sample by the $\Delta\Delta$ Ct method with efficiency correction. Significant difference between treatments are presented with different letters ($P < 0.05$). Data were derived from four independent replicates. ----- Pg. 78

Figure 3 - Effect of oocyte removal and grading doses of FGF10 (1 and 10 ng/ml) on OOX cumulus cells mRNA abundance of *CD44*, *TNFAIP6*, *PTX3*, *PTGS2*, *HAS2*, *GFPT1* and *GFPT2* after 22 hours of IVM. Messenger RNA abundance was measured by real-time PCR. Data are presented as mean values (\pm S.E.M.) relative to a calibrator sample by the $\Delta\Delta$ Ct method with efficiency correction. Significant difference between treatments are presented with different letters ($P < 0.05$). Data were derived from five independent replicates. ----- Pg. 79

Figure 4 - Effect of oocyte removal and FGF10 on OOX glucose uptake and lactate production. The culture media from intact COC; OOX; OOX+FGF10 at 1

and 10 ng/ml were evaluated after 4 and 22 hours of IVM in the presence of FSH. Significant difference between treatments are presented with different letters ($p < 0.05$). Data is expressed in pmol/complex/hour. -----Pg 80

Capítulo 4

Figura 1 - Expressão relativa de RNAm de BMP15 e GDF9 em células do cumulus cultivadas por 4 horas tratadas com FSH ou AREG. COC – complex cumulus oócito intacto; OOX – oocetomizados; OOX+OD oocetomizados cocultivados com oócitos desnudos; (n=5, FSH e n=4, AREG)-----Pg. 91

Figura 2 - Expressão relativa de RNAm de BMP15 e GDF9 em células do cumulus cultivadas por 22 horas tratadas com FSH ou AREG. COC – complex cumulus oócito intacto; OOX – oocetomizados; OOX+OD oocetomizados cocultivados com oócitos desnudos; n=3, FSH; n=4, AREG. -----Pg. 91

Figura 3 - Expressão relativa de SMAD2 nas células do cumulus cultivadas por 30 minutos, 1 hora e 3 horas. COC-: complexo cumulus oócito intacto sem presença de AREG; COC+ complex cumulus oócito intacto na presença de AREG; OOX+ oocetomizado na presença de AREG, n=4/momento. -----Pg.92

Figura 4 - Expressão relativa de MAPK3/1 e MAPK14 nas células do cumulus cultivadas por 30 minutos, 1 hora e 3 horas. COC-: complexo cumulus oócito intacto sem presença de AREG; COC+ complex cumulus oócito intacto na presença de AREG; OOX+ oocetomizado na presença de AREG, n=4/momento. Letras diferentes mostram diferenças estatísticas com valor de $p < 0,05$.-----Pg. 94

Lista de Abreviaturas

ADAM = família desintegrina e metaloproteinases
AKT - Proteína quinase B
ALK = receptor ativina semelhante a kinase
AMPc = adenosina monofosfato cíclico
AREG = ampiregulina
BMP15 = proteína morfogênica óssea 15
BMPRII = receptor de BMP do tipo II
BSA = albumina sérica bovina
BTC = betacelulina
COC = complexo cumulus-oócito
DNA = ácido deoxiribonucleico
ECM = matriz extracelular
EGF = fator de crescimento epidermal
EGF-like = fatores de crescimento epidermal (EGF)-like
EGFR = receptores de EGF
EREG = epiregulina
ERK = quinases reguladas por sinais extracelulares
FGF = fator de crescimento dos fibroblastos
FGF = fatores de crescimento fibroblástico
FSH = hormônio folículo estimulante
GDF9 = fator de crescimento e diferenciação 9
GFPT = L-glicosamina:D-frutose-6-fosfato acetil transferase
GMPc = monofosfato cíclico de guanosina
HAS2 = hialurona sintetase 2
LH = hormônio luteinizante
MIV = maturação *in vitro*
OSF = fatores secretados pelo oócito
PDE3 = fosfodiesterase do tipo 3
PGE2 = prostaglandina E2
PI3K - Fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato 3-quinase
PTGS2 = prostaglandina sintetase 2
PTX3 = pentraxina 3
RNA = ácido ribonucléico
RNA_m = ácido ribonucléico mensageiro
S.E.M. = error of the mean
SMAD2 = Mothers against decapentaplegic homolog 2
TGF β = fatores de crescimento transformante β
TNFAIP6 = proteína indutora do fator de necrose tumoral 6
TZP = processos citoplasmáticos trans-zonais

SUMÁRIO

Capítulo 1.....	14
1.INTRODUÇÃO.....	15
2.REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1.Maturação do complexo cumulus-oócito.....	17
2.1.1.Controle da retomada da meiose em oócitos.....	17
2.1.2.Controle da expansão das células do cumulus.....	19
2.2. Interação cumulus oócito.....	21
2.2.1.Fatores secretados pelo oócito.....	22
3.REFERÊNCIAS.....	25
Capítulo 2.....	33
ABSTRACT.....	36
1.INTRODUCTION.....	37
2.MATERIALS AND METHODS.....	38
3.RESULTS.....	42
4.DISCUSSION.....	44
REFERENCES.....	48
FIGURES.....	52
FIGURES LEGENDS.....	58
Capítulo 3.....	61
Abstract.....	64
1.Introduction.....	65
2.Material and Methods.....	66
3.Results.....	70
4.Discussion.....	71
References.....	73
FIGURES.....	76
FIGURES LEGEND.....	81
Capítulo 4.....	83
Resultados Complementares.....	84
1.INTRODUÇÃO.....	85
2.MATERIAL E MÉTODOS.....	87
3.RESULTADOS.....	90
4.DISSCUSSÃO.....	94
REFERÊNCIAS.....	96
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	99

Capítulo 1

“Cumulus cell-oocyte communication is an essential feature of mammalian reproduction.”
(RUSSELL et al., 2016)

1.INTRODUÇÃO

Nos anos 90 foi confirmada a importância da comunicação entre o oócito e as células somáticas adjacentes para formação folicular, regulação das funções das células do cumulus e desenvolvimento da competência oocitária (BUCCIONE et al., 1990; DONG et al., 1996; EPPIG, 2001), o que despertou o interesse da comunidade científica, pois mudou a premissa de que o oócito tinha uma ação passiva durante o desenvolvimento folicular (EPPIG, 2001; SCARAMUZZI et al., 2011)

Desde então inúmeros estudos foram realizados com foco no entendimento da interação entre o oócito e as células da granulosa, levando a um progresso no conhecimento sobre os mecanismos moleculares que regulam essa interação durante a maturação oocitária (LI et al., 2000; CAIXETA et al., 2013; FRANCIOSI et al., 2014; LUCIANO et al., 2014; DE LIMA et al., 2016).

A maturação oocitária é superior em condições fisiológicas em relação a maturação oocitária *in vitro* (RIZOS et al., 2002) e esses estudos são necessários para que ocorra uma melhoria na eficiência da maturação *in vitro* (MIV) que é uma etapa crucial na biotecnologia de reprodução assistida. Compreendendo-se melhor a fisiologia e os mecanismos moleculares da maturação do complexo cumulus oócito (COC), permite que os sistemas de cultivo se assemelhem mais as condições fisiológicas e sejam mais eficientes no aproveitamento do oócito nas biotecnologias de reprodução assistida. Recentemente a utilização de um meio mais fisiológico como o estágio de pré-maturação e a substituição do indutor de maturação hormônio folículo estimulante (FSH) pela proteína ampirregulina (AREG) mostrou-se eficiente em melhorar a qualidade embrionária (ALBUZ et al., 2010; RICHANI et al., 2013).

A interação entre o oócito e as células do cumulus ocorre de forma bidirecional via secreção de fatores parácrinos, junções do tipo *gap* e também via projeções transzonais permitindo ao oócito o desenvolvimento da competência para suportar o desenvolvimento do embrião (THOMAS et al., 2004; HUSSEIN et al., 2006; MACAULAY et al., 2014; RUSSELL et al., 2016).

Os fatores secretados pelo oócito (OSF) são cruciais para direcionar o desenvolvimento do fenótipo das células do cumulus bem como suas funções (DIAZ et al., 2006). Contudo, há diferenças importantes quanto à influência do oócito entre as espécies. O oócito é necessário para a expansão e metabolismo energético do

cumulus em camundongos (VANDERHYDEN, 1993; SUGIURA; EPPIG, 2005), mas não em bovinos (RALPH et al., 1995; SUTTON et al., 2003).

Sendo assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a participação e os mecanismos de ação do oócito no controle das funções das células do cumulus bovinas submetidas ao processo de MIV na presença de FSH, método convencional ou na presença de AREG, que simula a condição fisiológica. Foi testada a hipótese de que a ausência do oócito influencia as funções das células do cumulus bovinas independente do estímulo para maturação utilizado. Em adição, foram avaliados os efeitos do fator de crescimento dos fibroblastos 10 (FGF10) isoladamente sobre a expressão dos genes envolvidos na expansão e no metabolismo do cumulus durante a MIV em bovinos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerações Finais

O Brasil é um grande produtor e exportador de carne bovina, de acordo com dados da EMBRAPA entre 2000 e 2015 o rebanho brasileiro cresceu cerca de 25% e a produção de carne foi de 9,2 milhões de toneladas e em julho deste ano a exportação de carne bovina somou US\$423 milhões, além disso a cadeia produtiva gera em torno de 7 milhões de empregos. Sendo assim, a busca na melhoria da eficiência da maturação *in vitro* em bovinos por motivos econômicos e sociais estimula a comunidade científica no desenvolvimento de novas abordagens técnicas para o desenvolvimento de novos meios de cultivo bem como tempo de cultivo para reduzir a perda de oócitos durante o processo de maturação e aumentar a competência do oócito em suportar o desenvolvimento embrionário. Mas o sucesso da técnica depende do conhecimento dos mecanismos fisiológicos que regulam a competência do oócito. Por esse motivo existem muitos estudos envolvendo essa interação e sinalização celular, grande parte em roedores e suínos o que limita a decisão da utilização do método para a maturação *in vitro*. O entendimento dos mecanismos regulatórios da maturação oocitária no bovino se faz necessária. A comunicação entre o oócito e as células do cumulus é de extrema importância para o desencadeamento da maturação do COC e este estudo mostrou que embora ambos, FSH e AREG, estimulem a maturação do COC existem diferenças no processo de expansão das células do cumulus, do metabolismo da glicose e alteração na expressão de genes relacionados com a competência oocitária, essas observações podem ser relevantes e devem levados em consideração na decisão de qual método mais adequado para maturação *in vitro* ou ainda como manipular os mecanismos intracelulares para obter melhores resultados após a fertilização.