

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 11/04/2024.



PRISCILA HELENA DOS SANTOS

**EFEITOS DA PROTEÍNA OVIDUTAL HSPA5 NA PRODUÇÃO *IN VITRO* DE
EMBRIÕES BOVINOS**

Botucatu – SP

2022

PRISCILA HELENA DOS SANTOS

**EFEITOS DA PROTEÍNA OVIDUTAL HSPA5 NA PRODUÇÃO *IN VITRO* DE
EMBRIÕES BOVINOS**

Tese apresentada ao programa de Pós-graduação do
Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade
Estadual Paulista – UNESP, para a obtenção do título de
Doutor em Farmacologia e Biotecnologia.

Orientador: Prof. Doutor Anthony César de Souza Castilho

Botucatu – SP

2022

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

Santos, Priscila Helena dos.

Efeitos da proteína ovidutal HSPA5 na produção in vitro de embriões bovinos / Priscila Helena dos Santos. - Botucatu, 2022

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

Orientador: Anthony César de Souza Castilho
Capes: 21005001

1. Bovinos - Reprodução. 2. Proteínas de choque térmico. 3. Homeostase celular. 4. Fertilização in vitro. 5. Transcrição genética.

Palavras-chave: BiP; GRP78; Heat shock protein; MIV; PIVE.

Nome do autor: Priscila Helena dos Santos

Título: EFEITOS DA PROTEÍNA OVIDUTAL HSPA5 NA PRODUÇÃO *IN VITRO* DE EMBRIÕES BOVINOS

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Anthony César de Souza Castilho

Presidente e Orientador

Unoeste – Presidente Prudente – São Paulo

Prof. Dr. João Carlos Pinheiro Ferreira

Membro

FMVZ, Unesp – Botucatu – SP

Dra. Raquel Zaneti Puelker

Membro

Progest Biotecnologia em Reprodução Animal – Botucatu – SP

Prof. Dr. Mateus José Sudano

Membro

UFSCar – São Carlos – SP

Isabele Picada Emanuelli

Membro

UniCesumar – Maringá - SP

Data da defesa: 11 de abril de 2022.

*“O que prevemos raramente ocorre; o que menos
esperamos geralmente acontece. ”*

(Benjamín Disraeli)

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, meus maiores apoiadores desta jornada, que mesmo não entendendo o percurso, confiaram, acreditaram e me incentivaram do início ao fim. Ao meu marido, Guilherme, que além de estar pacientemente ao meu lado, me deu suporte, incentivo e deixou a vida mais leve. Às minhas avós pelas constantes orações e amor incondicional. Aos meus avôs, que levo no coração, pelo carinho que será sempre lembrado. Aos meus irmãos e cunhados por serem inspiração. Ao meu orientador, por acreditar em mim desde o início, pela oportunidade de fazer parte de um time de excelência e pela amizade além da pós-graduação. À minha amiga, madrinha, companheira de todas as horas, que mesmo na distância se faz presente, Fernanda (Tico). Obrigada por ouvir, respeitar e estar comigo. Às amigas que além do suporte científico, estiveram comigo nas alegrias e tristezas fora da pós-graduação, Sarah e Patrícia. Botucatu não seria a mesma sem vocês. Durante os cinco anos de estudo, tive a oportunidade (e sorte) de conviver com muitas pessoas que deixaram marcas e aprendizados. Agradeço a cada colega e amigo do LaMem, FitoFarmaTec e Biotera que compartilhou conhecimento, risadas e cafés filosóficos comigo. Talita, Ketlyn, Eduardo, Carol, Elisa, Erika, Vitória, Ana Elise e Alan. À Raquel, pelo companheirismo, por ser prestativa e salvar nossas vidas nas intercorrências. Ao professor Di Stasi pela confiança e acolhimento em seu laboratório. À Janete, que sempre cuidou tão bem dos alunos da Farmacologia e aos demais funcionários. À seção-técnica de pós-graduação do Instituto de Biociências de Botucatu, em especial ao Davi. Aos professores do Departamento de Farmacologia do Instituto de Biociências de Botucatu pelas disciplinas. Aos professores João Ferreira, Mateus Sudano, Isabele Picada e a Raquel Puelker, por atenderem prontamente meu convite para compor a banca de doutorado. À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento à pesquisa (# 2018/06674-7;

2013/11480-3; 2015/04505-5) e à Coordenação de aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES (Financiamento Cód 001) pelo tempo de bolsa concedida.

RESUMO

A proteína HSPA5 (do inglês, *heat shock 70 kDa protein 5*), também conhecida como GRP78 (do inglês, 78 kDa glucose-regulated protein) e BiP (do inglês, immunoglobulin-binding protein), é uma chaperona do retículo endoplasmático que desenvolve um papel fundamental na manutenção da homeostase celular. Relativamente recente, essa proteína foi descrita como um dos componentes do fluido ovidutal com capacidade de se ligar aos espermatozoides e aumentar a concentração de cálcio intracelular. Considerando que o ambiente ovidutal fornece substratos e fatores importantes para a fusão dos gametas e desenvolvimento inicial embrionário *in vivo* e que a proteína HSPA5 está em alta concentração no fluido ovidutal, nós acreditamos que essa proteína pode exercer efeitos benéficos na produção de embriões *in vitro*. Hipotetizando que a HSPA5 pode interagir com o complexo *cumulus*-oócito (COC) durante a maturação *in vivo* (MIV) e também com o embrião em desenvolvimento durante o cultivo *in vitro* (CIV), a temática primordial desta tese foi testar a adição da HSPA5 recombinante humana na produção *in vitro* de embriões (PIVE). Em um primeiro momento, nós analisamos o efeito da HSPA5 nas últimas 4 horas da MIV sobre os níveis de espécies reativas de oxigênio (ROS) e potencial de membrana mitocondrial (MMP) dos oócitos e subsequentes embriões, os níveis de glutatona (GSH) nos COCs e meio de cultivo, a solubilidade da zona pelúcida e penetração espermática, sobre a taxa de embriões produzidos e o perfil de transcritos destes embriões. Na segunda abordagem nós testamos a adição da rHSPA5 nos oito dias de CIV e comparamos com o tratamento na MIV e a associação dos dois tratamentos. Foi avaliado a taxa de embriões produzidos e a transcrição gênica destes embriões. Em suma, os resultados indicaram que a rHSPA5 é capaz de interagir com o COC durante a MIV e com os embriões em desenvolvimento no CIV. A proteína foi capaz de aumentar taxa de embriões produzidos quando adicionada nas últimas 4 horas de MIV, manter os níveis de ROS e GSH nos COCs, mas não aumentou o tempo de solubilidade da *zona-pelúcida* (ZP) ou alterou a porcentagem

de monospermia, mas a rHSPA5 na MIV foi capaz de modular positivamente a expressão gênica dos embriões produzidos. Já a inclusão da proteína no CIV, apesar de haver uma pequena modulação na expressão gênica, não foi capaz de aumentar a taxa de embriões produzidos. Com os presentes achados, concluímos que, a HSPA5 pode interagir com o COC e ser capaz de exercer funções ainda não determinadas, assim como o uso da rHSPA5 nas últimas 4 horas da MIV pode otimizar a PIVE e potencializar a qualidade embrionária.

Palavras-chave: GRP78, BiP, heat shock protein, MIV, CIV, PIVE

ABSTRACT

The HSPA5 protein (heat shock 70 kDa protein 5), also known as GRP78 (78 kDa glucose-regulated protein) and BiP (immunoglobulin-binding protein), is a chaperone from the endoplasmic reticulum with an important role in cellular homeostasis. Relatively recent, this protein was described as an oviductal fluid component as well as, its ability to hardly bind the spermatozoa, and then, increase the intracellular calcium abundance. The oviduct provides an appropriate environment for gametes fusion and early embryo development. Once the HSPA5 is one of the main heat shock proteins from oviductal fluid, we have a hypothesis that this protein is able to be beneficial on *in vitro* embryo production. Hypothesizing that HSPA5 can interact with *cumulus*-oocyte complex (COC) during the *in vitro* maturation (MIV) and, also with developing early embryo on *in vitro* culture (CIV), the primordial thematic of this thesis tested the HSPA addition on *in vitro* embryo production. First of all, we analyzed the HSPA5 effect on the last 4 hours of MIV under reactive oxygen species (ROS) and mitochondrial membrane potential (MMP) levels and on the subsequent embryos. The glutathione (GSH) levels on COC and culture medium, the *zona-pellucida* (ZP) solubility, sperm penetration, and last, the rate of embryo production and transcript profile of them. The second point was tested the HSPA5 effect on the eight days of CIV to compare with MIV treatments and an association of both treatments (on the last 4 hours of MIV and 8 days of CIV). We assessed the embryo rate and transcriptome profile of them. In conclusion, the results indicated that HSPA5 was able to interact with the COC and the developing early embryo. This protein was capable to increase the embryo rate on the MIV treatment and maintaining the ROS and GSH levels on COC, but it did not increase the ZP solubility or monospermy rate. Mainly, the HSPA5 was able to positively modulate the gene expression of embryos. On the other hand, the HSPA5 on the CIV did not alter the embryo rate and found a lower modulation on the transcript profile. We conclude that HSPA5 interacts with COC and develops an unknown role and also, the inclusion

of rHSPA5 on the last 4 hours of MIV can improve the *in vitro* embryo production and enhance the embryo quality.

Keywords: GRP78, BiP, heat shock protein, MIV, CIV, PIVE

SUMÁRIO

PREFÁCIO	11
CAPÍTULO I	12
The functionality of oviductal heat shock proteins on gametes and embryos: an integrative review	13
ABSTRACT.....	13
INTRODUCTION	14
METHODOLOGY	15
RESULTS	17
DISCUSSION	25
CONCLUSION.....	29
REFERENCES	30
CAPÍTULO II.....	35
EVIDENCE THAT HEAT SHOCK PROTEIN A5 (HSPA5) PLAYS A ROLE DURING BOVINE IN VITRO EMBRYO PRODUCTION	36
ABSTRACT.....	36
INTRODUCTION	37
RESULTS	39
DISCUSSION	43
MATERIALS AND METHODS.....	48
REFERENCES	55
CAPÍTULO III	59
AS NOVAS ESTRATÉGIAS DO USO DA rHSPA5 HUMANA NA PRODUÇÃO IN VITRO DE EMBRIÕES BOVINOS	60
RESUMO.....	60
INTRODUÇÃO	61
MATERIAL E MÉTODO	63
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	67
CONCLUSÃO	79
REFERÊNCIAS.....	80
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	83
ATIVIDADES ACADÊMICAS DESENVOLVIDAS DURANTE O DOUTORADO	85

PREFÁCIO

A presente tese a ser defendida pelo programa de Pós-graduação em Farmacologia e Biotecnologia está dividida em quatro sessões. A primeira, denominada **Capítulo I**, compreende uma Revisão Integrativa que traz um compilado de publicações que introduz a relação das *Heat Shock proteins* com os gametas e embriões, e mostra como essas proteínas, que estão presentes no oviduto, estão envolvidas com o processo reprodutivo. Essa revisão além de ser a base para uma futura revisão sistemática, foi utilizada como uma introdução à temática desta tese. Das duas partes subsequentes, o **Capítulo II - “Evidences that heat shock protein A5 (HSPA5) plays role during bovine in vitro embryo production”** e **Capítulo III – “As novas estratégias do uso da rHSPA5 humana na produção *in vitro* de embriões”**, correspondem um como uma proposta de manuscrito a ser submetido como artigo no periódico “*Reproduction in Domestic Animals*”, e o outro a descrição dos resultados recém obtidos pelo grupo, que será utilizado como base para o próximo artigo. Por fim, a sessão “**Considerações finais**” compreende as conclusões gerais (descrevendo de forma sucinta os resultados obtidos).

Conforme normas do programa de Pós-graduação, o presente exemplar consiste na versão definitiva da tese a ser encaminhada à biblioteca e fará parte do conjunto de publicações do Instituto de Biociências de Botucatu da UNESP. No entanto, o manuscrito aqui apresentado está no prelo, mas não comprometido com a publicação em quaisquer periódicos, estando, assim, passível de correções e modificações por parte da banca de defesa.

estrous cycle. These chaperones can bind on spermatozoa and exert a fundamental role in the fertilization process but their action mechanism is not clear. Studies are necessary to completely understand the OF HSPs.

255

REFERENCES

260 ABDI, Z. et al. The Effect of Hsp60 on Fertilization and Pre-Implantation Embryo Development in Mice: An in Vitro Study. **Acta Endocrinol (Buchar)**, v. 15, n. 2, p. 153-157, Apr-Jun 2019. ISSN 1841-0987 (Print)

1841-0987 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31508170> >.

ALMINANA, C. et al. Oviduct extracellular vesicles protein content and their role during oviduct-embryo cross-talk. **Reproduction**, v. 154, n. 3, p. 153-168, Sep 2017. ISSN 1741-7899 (Electronic)

265 1470-1626 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28630101> >.

AVILÉS, M. G.-A., A; COY, PILAR. Oviductal secretions: will they be key factors for the future of ARTs? **Molecular Human Reproduction**, v. 16, n. 12, p. 896-906, 2010.

270 BESENFELDER, U.; BREM, G.; HAVLICEK, V. Review: Environmental impact on early embryonic development in the bovine species. **Animal**, v. 14, n. S1, p. s103-s112, Mar 2020. ISSN 1751-732X (Electronic)

1751-7311 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32024564> >.

275 BOILARD, M. et al. Localization of the chaperone proteins GRP78 and HSP60 on the luminal surface of bovine oviduct epithelial cells and their association with spermatozoa. **Biol Reprod**, v. 71, n. 6, p. 1879-89, Dec 2004. ISSN 0006-3363 (Print)

0006-3363 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15286042> >.

280 BRAGANCA, G. M. et al. Oviduct fluid during IVF moderately modulates polyspermy in in vitro-produced goat embryos during the non-breeding season. **Theriogenology**, v. 168, p. 59-65, Jul 1 2021. ISSN 1879-3231 (Electronic)

0093-691X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33857909> >.

285 BUHI, W. C.; ALVAREZ, I. M.; KOUBA, A. J. Secreted proteins of the oviduct. **Cells Tissues Organs**, v. 166, n. 2, p. 165-79, 2000. ISSN 1422-6405 (Print)

1422-6405 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10729726> >.

- 290 CANHA-GOUVEIA, A. et al. Which Low-Abundance Proteins are Present in the Human Milieu of Gamete/Embryo Maternal Interaction? **Int J Mol Sci**, v. 20, n. 21, Oct 24 2019. ISSN 1422-0067 (Electronic)
- 1422-0067 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31653120> >.
- 295 ELLIOTT, R. M. et al. Effects of HSPA8, an evolutionarily conserved oviductal protein, on boar and bull spermatozoa. **Reproduction**, v. 137, n. 2, p. 191-203, Feb 2009. ISSN 1741-7899 (Electronic)
- 1470-1626 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18996976> >.
- 300 FONTES, P. K. et al. Equine chorionic gonadotropin increases estradiol levels in the bovine oviduct and drives the transcription of genes related to fertilization in superstimulated cows. **Mol Reprod Dev**, v. 86, n. 11, p. 1582-1591, Nov 2019. ISSN 1098-2795 (Electronic)
- 1040-452X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31353672> >.
- 305 GARCIA-MARTINEZ, S. et al. Addition of exogenous proteins detected in oviductal secretions to in vitro culture medium does not improve the efficiency of in vitro fertilization in pigs. **Theriogenology**, v. 157, p. 490-497, Nov 2020. ISSN 1879-3231 (Electronic)
- 0093-691X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32898824> >.
- GEORGIU, A. S. et al. Gametes alter the oviductal secretory proteome. **Mol Cell Proteomics**, v. 4, n. 11, p. 1785-96, Nov 2005. ISSN 1535-9476 (Print)
- 310 1535-9476 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16105986> >.
- HOLT, W. V.; FAZELI, A. Sperm Storage in the Female Reproductive Tract. **Annu Rev Anim Biosci**, v. 4, p. 291-310, 2016. ISSN 2165-8110 (Electronic)
- 2165-8102 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26526545> >.
- 315 KILLIAN, G. Physiology and endocrinology symposium: evidence that oviduct secretions influence sperm function: a retrospective view for livestock. **J Anim Sci**, v. 89, n. 5, p. 1315-22, May 2011. ISSN 1525-3163 (Electronic)
- 0021-8812 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20935135> >.
- 320 KOLLE, S. et al. Ciliary transport, gamete interaction, and effects of the early embryo in the oviduct: ex vivo analyses using a new digital videomicroscopic system in the cow. **Biol Reprod**, v. 81, n. 2, p. 267-74, Aug 2009. ISSN 1529-7268 (Electronic)
- 0006-3363 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19299315> >.
- 325 KOLLE, S.; REESE, S.; KUMMER, W. New aspects of gamete transport, fertilization, and embryonic development in the oviduct gained by means of live cell imaging. **Theriogenology**, v. 73, n. 6, p. 786-95, Apr 1 2010. ISSN 1879-3231 (Electronic)
- 0093-691X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20080295> >.

330

LACHANCE, C.; BAILEY, J. L.; LECLERC, P. Expression of Hsp60 and Grp78 in the human endometrium and oviduct, and their effect on sperm functions. **Hum Reprod**, v. 22, n. 10, p. 2606-14, Oct 2007. ISSN 0268-1161 (Print)

0268-1161 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17670764> >.

335

LAMY, J. et al. Regulation of the bovine oviductal fluid proteome. **Reproduction**, v. 152, n. 6, p. 629-644, Dec 2016. ISSN 1741-7899 (Electronic)

1470-1626 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27601716> >.

340

LAMY, J. et al. Identification by proteomics of oviductal sperm-interacting proteins. **Reproduction**, v. 155, n. 5, p. 457-466, May 2018. ISSN 1741-7899 (Electronic)

1470-1626 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29540510> >.

345

LIN, P. et al. GRP78 expression and immunohistochemical localization in the female reproductive tract of mice. **Theriogenology**, v. 78, n. 8, p. 1824-9, Nov 2012. ISSN 1879-3231 (Electronic)

0093-691X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22968032> >.

350

LLOYD, R. E. et al. Effects of oviductal proteins, including heat shock 70 kDa protein 8, on survival of ram spermatozoa over 48 h in vitro. **Reprod Fertil Dev**, v. 21, n. 3, p. 408-18, 2009. ISSN 1031-3613 (Print)

1031-3613 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19261218> >.

355

LLOYD, R. E. et al. The oviductal protein, heat-shock 70-kDa protein 8, improves the long-term survival of ram spermatozoa during storage at 17 degrees C in a commercial extender. **Reprod Fertil Dev**, v. 24, n. 4, p. 543-9, 2012. ISSN 1031-3613 (Print)

1031-3613 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22541542> >.

360

MAHDAVINEZHAD, F. et al. In vitro versus In vivo: Development-, Apoptosis-, and Implantation-Related Gene Expression in Mouse Blastocyst. **Iran J Biotechnol**, v. 17, n. 1, p. e2157, Jan 2019. ISSN 1728-3043 (Print)

1728-3043 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31457046> >.

365

MARIANI, M. L. et al. Constitutive expression of heat shock proteins hsp25 and hsp70 in the rat oviduct during neonatal development, the oestrous cycle and early pregnancy. **J Reprod Fertil**, v. 120, n. 2, p. 217-23, Nov 2000. ISSN 0022-4251 (Print)

0022-4251 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11058436> >.

370

MARÍN-BRIGGILER, C. I. G.-E., M.F.; MUNUCE, M.J.; GHERSEVICH, S.; CAILLE, A.M.; HELLMAN, U.; CORRIGALL, V.M.; VAZQUEZ-LEVIN, M.H. Glucose-regulated protein 78 (GRP78/BiP) is secreted by human oviduct epithelial cells and the recombinant protein modulates sperm-zona pellucida binding. **Fertil Steril**, v. 93, n. 5, 2010.

- 375 MOEIN-VAZIRI, N. et al. Heat-shock protein A8 restores sperm membrane integrity by increasing plasma membrane fluidity. **Reproduction**, v. 147, n. 5, p. 719-32, May 2014. ISSN 1741-7899 (Electronic)
1470-1626 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24501193> >.
- 380 MONDEJAR, I. et al. Identification of potential oviductal factors responsible for zona pellucida hardening and monospermy during fertilization in mammals. **Biol Reprod**, v. 89, n. 3, p. 67, Sep 2013. ISSN 1529-7268 (Electronic)
0006-3363 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23863406> >.
- 385 PILLAI, V. V. et al. Profiling of proteins secreted in the bovine oviduct reveals diverse functions of this luminal microenvironment. **PLoS One**, v. 12, n. 11, p. e0188105, 2017. ISSN 1932-6203 (Electronic)
1932-6203 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29155854> >.
- 390 SCIEGLINSKA, D. et al. Expression of the testis-specific HSP70-related gene (hst70 gene) in somatic non-testicular rat tissues revealed by RT-PCR and transgenic mice analysis. **Cell Biol Int**, v. 21, n. 12, p. 813-21, Dec 1997. ISSN 1065-6995 (Print)
1065-6995 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9812345> >.
- 395 SHAN, Q. et al. Physiological Functions of Heat Shock Proteins. **Curr Protein Pept Sci**, v. 21, n. 8, p. 751-760, 2020. ISSN 1875-5550 (Electronic)
1389-2037 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31713482> >.
- SOLEILHAVOUP, C. et al. Proteomes of the Female Genital Tract During the Oestrous Cycle. **Mol Cell Proteomics**, v. 15, n. 1, p. 93-108, Jan 2016. ISSN 1535-9484 (Electronic)
1535-9476 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26518761> >.
- 400 STEINBERGER, B. et al. Semen modulated secretory activity of oviductal epithelial cells is linked to cellular proteostasis network remodeling: Proteomic insights into the early phase of interaction in the oviduct in vivo. **J Proteomics**, v. 163, p. 14-27, Jun 23 2017. ISSN 1876-7737 (Electronic)
1874-3919 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28495501> >.
- 405 VALADI, H. et al. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. **Nat Cell Biol**, v. 9, n. 6, p. 654-9, Jun 2007. ISSN 1465-7392 (Print)
1465-7392 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17486113> >.
- 410 VYDRA, N. et al. The expression pattern of the 70-kDa heat shock protein Hspa2 in mouse tissues. **Histochem Cell Biol**, v. 132, n. 3, p. 319-30, Sep 2009. ISSN 1432-119X (Electronic)
0948-6143 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19462178> >.

WAKAYAMA, T.; ISEKI, S. Expression and cellular localization of the mRNA for the 25-kDa heat-shock protein in the mouse. **Cell Biol Int**, v. 22, n. 4, p. 295-304, 1998. ISSN 1065-6995 (Print)

415 1065-6995 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10101046> >.

WOOLNOUGH, E. et al. An immunohistochemical study of the rete ovarii and epoophoron. **Pathology**, v. 32, n. 2, p. 77-83, May 2000. ISSN 0031-3025 (Print)

0031-3025 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10840824> >.

420

YANAGIMACHI, C. A. The common and species-specific roles of oviductal proteins in mammalian fertilization and embryo development. **Oxford University Press**, 2015.

425 YESTE, M. et al. Viable and morphologically normal boar spermatozoa alter the expression of heat-shock protein genes in oviductal epithelial cells during co-culture in vitro. **Mol Reprod Dev**, v. 81, n. 9, p. 805-19, Sep 2014. ISSN 1098-2795 (Electronic)

1040-452X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24945888> >.

SEM, and statistical significance was defined as $p \leq 0.05$. To analyses JMP software (SAS Institute, Cary, NC) was used.

REFERENCES

- Alminana, C., Corbin, E., Tsikis, G., Alcantara-Neto, A. S., Labas, V., Reynaud, K., . . . Mermillod, P. (2017). Oviduct extracellular vesicles protein content and their role during oviduct-embryo cross-talk. *Reproduction*, 154(3), 153-168. doi:10.1530/REP-17-0054
- Anderson, M. E. (1985). Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples. *Methods Enzymol*, 113, 548-555. doi:10.1016/s0076-6879(85)13073-9
- Avilés, C., and Rizos. (2015). The oviduct: A key organ for the success of the early reproductive events. *Animal Frontiers*, 5(1). doi:10.2527/af.2015-0005
- Avilés, M. G.-A., A; Coy, Pilar. (2010). Oviductal secretions: will they be key factors for the future of ARTs? *Molecular Human Reproduction*, 16(12), 896-906.
- Azari, M., Kafi, M., Asaadi, A., Pakniat, Z., & Abouhamzeh, B. (2021). Bovine oocyte developmental competence and gene expression following co-culturing with ampullary cells: An experimental study. *Int J Reprod Biomed*, 19(4), 371-380. doi:10.18502/ijrm.v19i4.9063
- Basar, M., Bozkurt, I., Guzeloglu-Kayisli, O., Sozen, B., Tekmen, I., Schatz, F., . . . Kayisli, U. A. (2014). Unfolded protein response prevents blastocyst formation during preimplantation embryo development in vitro. *Fertil Steril*, 102(6), 1777-1784. doi:10.1016/j.fertnstert.2014.09.004
- Boilard, M., Reyes-Moreno, C., Lachance, C., Massicotte, L., Bailey, J. L., Sirard, M. A., & Leclerc, P. (2004). Localization of the chaperone proteins GRP78 and HSP60 on the luminal surface of bovine oviduct epithelial cells and their association with spermatozoa. *Biol Reprod*, 71(6), 1879-1889. doi:10.1095/biolreprod.103.026849
- Bromfield, E. G., & Nixon, B. (2013). The function of chaperone proteins in the assemblage of protein complexes involved in gamete adhesion and fusion processes. *Reproduction*, 145(2), R31-42. doi:10.1530/REP-12-0316
- Buhi, W. C., Ashworth, C. J., Bazer, F. W., & Alvarez, I. M. (1992). In vitro synthesis of oviductal secretory proteins by estrogen-treated ovariectomized gilts. *J Exp Zool*, 262(4), 426-435. doi:10.1002/jez.1402620409
- Calvert, M. E., Digilio, L. C., Herr, J. C., & Coonrod, S. A. (2003). Oolemmal proteomics--identification of highly abundant heat shock proteins and molecular chaperones in the mature mouse egg and their localization on the plasma membrane. *Reprod Biol Endocrinol*, 1, 27. doi:10.1186/1477-7827-1-27
- Carey, T. S., Cao, Z., Choi, I., Ganguly, A., Wilson, C. A., Paul, S., & Knott, J. G. (2015). BRG1 Governs Nanog Transcription in Early Mouse Embryos and Embryonic Stem Cells via Antagonism of Histone H3 Lysine 9/14 Acetylation. *Mol Cell Biol*, 35(24), 4158-4169. doi:10.1128/MCB.00546-15
- Casas, C. (2017). GRP78 at the Centre of the Stage in Cancer and Neuroprotection. *Front Neurosci*, 11, 177. doi:10.3389/fnins.2017.00177
- Chambers, I., Colby, D., Robertson, M., Nichols, J., Lee, S., Tweedie, S., & Smith, A. (2003). Functional expression cloning of Nanog, a pluripotency sustaining factor in embryonic stem cells. *Cell*, 113(5), 643-655. doi:10.1016/s0092-8674(03)00392-1

- Coy, P., Canovas, S., Mondejar, I., Saavedra, M. D., Romar, R., Grullon, L., . . . Aviles, M. (2008). Oviduct-specific glycoprotein and heparin modulate sperm-zona pellucida interaction during fertilization and contribute to the control of polyspermy. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 105(41), 15809-15814. doi:10.1073/pnas.0804422105
- 500 Coy, P., Garcia-Vazquez, F. A., Visconti, P. E., & Aviles, M. (2012). Roles of the oviduct in mammalian fertilization. *Reproduction*, 144(6), 649-660. doi:10.1530/REP-12-0279
- Coy, P. Y., R. (2017). The common and species-specific roles of oviductal proteins in mammalian fertilization and embryo development. *Bioscience*, 65, 973-984.
- Croxatto, H. B. (2002). Physiology of gamete and embryo transport through the fallopian tube. *Reprod Biomed Online*, 4(2), 160-169. doi:10.1016/s1472-6483(10)61935-9
- 505 Delpino, A., & Castelli, M. (2002). The 78 kDa glucose-regulated protein (GRP78/BIP) is expressed on the cell membrane, is released into cell culture medium and is also present in human peripheral circulation. *Biosci Rep*, 22(3-4), 407-420. doi:10.1023/a:1020966008615
- 510 Demant, M., Trapphoff, T., Frohlich, T., Arnold, G. J., & Eichenlaub-Ritter, U. (2012). Vitrification at the pre-antral stage transiently alters inner mitochondrial membrane potential but proteome of in vitro grown and matured mouse oocytes appears unaffected. *Hum Reprod*, 27(4), 1096-1111. doi:10.1093/humrep/der453
- Dumollard, R., Carroll, J., Duchen, M. R., Campbell, K., & Swann, K. (2009). Mitochondrial function and redox state in mammalian embryos. *Semin Cell Dev Biol*, 20(3), 346-353. doi:10.1016/j.semcdb.2008.12.013
- 515 Ferraz, M., Henning, H. H. W., Costa, P. F., Malda, J., Melchels, F. P., Wubbolts, R., . . . Gadella, B. M. (2017). Improved bovine embryo production in an oviduct-on-a-chip system: prevention of poly-spermic fertilization and parthenogenic activation. *Lab Chip*, 17(5), 905-916. doi:10.1039/c6lc01566b
- 520 Fontes, P. K., Castilho, A. C. S., Razza, E. M., & Nogueira, M. F. G. (2020). Bona fide gene expression analysis of samples from the bovine reproductive system by microfluidic platform. *Anal Biochem*, 596, 113641. doi:10.1016/j.ab.2020.113641
- 525 Franchi, F. F., Satrapa, R. A., Fontes, P. K., Santos, P. H., Razza, E. M., Emanuelli, I. P., . . . de Souza Castilho, A. C. (2019). Equine chorionic gonadotropin drives the transcriptional profile of immature cumulus-oocyte complexes and in vitro-produced blastocysts of superstimulated Nelore cows. *Mol Reprod Dev*, 86(11), 1639-1651. doi:10.1002/mrd.23251
- Giroto, A. B., Fontes, P. K., Franchi, F. F., Dos Santos, P. H., Razza, E. M., Nogueira, M. F. G., . . . Castilho, A. C. S. (2019). Use of pregnancy-associated plasma protein-A during oocyte in vitro maturation increases IGF-1 and affects the transcriptional profile of cumulus cells and embryos from Nelore cows. *Mol Reprod Dev*, 86(11), 1694-1704. doi:10.1002/mrd.23259
- 530 Gonzalez-Gronow, M., Selim, M. A., Papalas, J., & Pizzo, S. V. (2009). GRP78: a multifunctional receptor on the cell surface. *Antioxid Redox Signal*, 11(9), 2299-2306. doi:10.1089/ARS.2009.2568
- 535 Goto, Y., Noda, Y., Mori, T., & Nakano, M. (1993). Increased generation of reactive oxygen species in embryos cultured in vitro. *Free Radic Biol Med*, 15(1), 69-75. doi:10.1016/0891-5849(93)90126-f
- 540 Gujar, H., Weisenberger, D. J., & Liang, G. (2019). The Roles of Human DNA Methyltransferases and Their Isoforms in Shaping the Epigenome. *Genes (Basel)*, 10(2). doi:10.3390/genes10020172
- Hao, C. N., Geng, Y. J., Li, F., Yang, T., Su, D. F., Duan, J. L., & Li, Y. (2011). Insulin-like growth factor-1 receptor activation prevents hydrogen peroxide-induced oxidative

- 545 stress, mitochondrial dysfunction and apoptosis. *Apoptosis*, 16(11), 1118-1127.
doi:10.1007/s10495-011-0634-9
- Hebert-Schuster, M., Rotta, B. E., Kirkpatrick, B., Guibourdenche, J., & Cohen, M. (2018). The Interplay between Glucose-Regulated Protein 78 (GRP78) and Steroids in the Reproductive System. *Int J Mol Sci*, 19(7). doi:10.3390/ijms19071842
- 550 Heyner, S., Shi, C. Z., Garside, W. T., & Smith, R. M. (1993). Functions of the IGFs in early mammalian development. *Mol Reprod Dev*, 35(4), 421-425; discussion 425-426.
doi:10.1002/mrd.1080350417
- Karantzali, E., Lekakis, V., Ioannou, M., Hadjimichael, C., Papamatheakis, J., & Kretsovali, A. (2011). Sall1 regulates embryonic stem cell differentiation in association with nanog. *J Biol Chem*, 286(2), 1037-1045. doi:10.1074/jbc.M110.170050
- 555 Khatir, H., Lonergan, P., & Mermillod, P. (1998). Kinetics of nuclear maturation and protein profiles of oocytes from prepubertal and adult cattle during in vitro maturation. *Theriogenology*, 50(6), 917-929. doi:10.1016/s0093-691x(98)00196-4
- Kidson, A., Schoevers, E., Langendijk, P., Verheijden, J., Colenbrander, B., & Bevers, M. (2003). The effect of oviductal epithelial cell co-culture during in vitro maturation on sow oocyte morphology, fertilization and embryo development. *Theriogenology*, 59(9), 1889-1903. doi:10.1016/s0093-691x(02)01291-8
- 560 Kolle, S., Dubielzig, S., Reese, S., Wehrend, A., Konig, P., & Kummer, W. (2009). Ciliary transport, gamete interaction, and effects of the early embryo in the oviduct: ex vivo analyses using a new digital videomicroscopic system in the cow. *Biol Reprod*, 81(2), 267-274. doi:10.1095/biolreprod.108.073874
- 565 Korshunov, S. S., Skulachev, V. P., & Starkov, A. A. (1997). High protonic potential actuates a mechanism of production of reactive oxygen species in mitochondria. *FEBS Lett*, 416(1), 15-18. doi:10.1016/s0014-5793(97)01159-9
- 570 Kramer, A. C., Steinhäuser, C. B., Gao, H., Seo, H., McLendon, B. A., Burghardt, R. C., . . . Johnson, G. A. (2020). Steroids Regulate SLC2A1 and SLC2A3 to Deliver Glucose Into Trophectoderm for Metabolism via Glycolysis. *Endocrinology*, 161(8). doi:10.1210/endocr/bqaa098
- Lachance, C., Bailey, J. L., & Leclerc, P. (2007). Expression of Hsp60 and Grp78 in the human endometrium and oviduct, and their effect on sperm functions. *Hum Reprod*, 22(10), 2606-2614. doi:10.1093/humrep/dem242
- 575 Lake, J. I., Avetisyan, M., Zimmermann, A. G., & Heuckeroth, R. O. (2016). Neural crest requires Impdh2 for development of the enteric nervous system, great vessels, and craniofacial skeleton. *Dev Biol*, 409(1), 152-165. doi:10.1016/j.ydbio.2015.11.004
- 580 Lamy, J., Labas, V., Harichaux, G., Tsikis, G., Mermillod, P., & Saint-Dizier, M. (2016). Regulation of the bovine oviductal fluid proteome. *Reproduction*, 152(6), 629-644. doi:10.1530/REP-16-0397
- Latham, K. E. (2016). Stress signaling in mammalian oocytes and embryos: a basis for intervention and improvement of outcomes. *Cell Tissue Res*, 363(1), 159-167. doi:10.1007/s00441-015-2124-9
- 585 Li, S., & Winuthayanon, W. (2017). Oviduct: roles in fertilization and early embryo development. *J Endocrinol*, 232(1), R1-R26. doi:10.1530/JOE-16-0302
- Lin, P., Chen, F., Yang, Y., Song, Y., Li, X., Lan, X., . . . Wang, A. (2012). GRP78 expression and immunohistochemical localization in the female reproductive tract of mice. *Theriogenology*, 78(8), 1824-1829. doi:10.1016/j.theriogenology.2012.07.020
- 590 Loor, G., Kondapalli, J., Schriewer, J. M., Chandel, N. S., Vanden Hoek, T. L., & Schumacker, P. T. (2010). Menadione triggers cell death through ROS-dependent mechanisms involving PARP activation without requiring apoptosis. *Free Radic Biol Med*, 49(12), 1925-1936. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.021

- 595 Marín-Briggiler, C. I. G.-E., M.F.; Munuce, M.J.; Ghersevich, S.; Caille, A.M.; Hellman, U.;
Corrigall, V.M.; Vazquez-Levin, M.H. (2010). Glucose-regulated protein 78
(GRP78/BiP) is secreted by human oviduct epithelial cells and the recombinant protein
modulates sperm-zona pellucida binding. *Fertil Steril*, 93(5).
- 600 Mondejar, I., Martinez-Martinez, I., Aviles, M., & Coy, P. (2013). Identification of potential
oviductal factors responsible for zona pellucida hardening and monospermy during
fertilization in mammals. *Biol Reprod*, 89(3), 67. doi:10.1095/biolreprod.113.111385
- Nasr-Esfahani, M. H., Aitken, J. R., & Johnson, M. H. (1990). Hydrogen peroxide levels in
mouse oocytes and early cleavage stage embryos developed in vitro or in vivo.
Development, 109(2), 501-507.
- 605 Quinlan, C. L., Perevoshchikova, I. V., Hey-Mogensen, M., Orr, A. L., & Brand, M. D. (2013).
Sites of reactive oxygen species generation by mitochondria oxidizing different
substrates. *Redox Biol*, 1, 304-312. doi:10.1016/j.redox.2013.04.005
- Sato, M., Yao, V. J., Arap, W., & Pasqualini, R. (2010). GRP78 signaling hub a receptor for
targeted tumor therapy. *Adv Genet*, 69, 97-114. doi:10.1016/S0065-2660(10)69006-2
- 610 Stojkovic, M., Machado, S. A., Stojkovic, P., Zakhartchenko, V., Hutzler, P., Goncalves, P. B.,
& Wolf, E. (2001). Mitochondrial distribution and adenosine triphosphate content of
bovine oocytes before and after in vitro maturation: correlation with morphological
criteria and developmental capacity after in vitro fertilization and culture. *Biol Reprod*,
64(3), 904-909. doi:10.1095/biolreprod64.3.904
- 615 Vergnes, L., Chin, R. G., de Aguiar Vallim, T., Fong, L. G., Osborne, T. F., Young, S. G., &
Reue, K. (2016). SREBP-2-deficient and hypomorphic mice reveal roles for SREBP-2
in embryonic development and SREBP-1c expression. *J Lipid Res*, 57(3), 410-421.
doi:10.1194/jlr.M064022
- 620 Yang, Y. W., Brown, D. R., Robcis, H. L., Rechler, M. M., & de Pablo, F. (1993).
Developmental regulation of insulin-like growth factor binding protein-2 in chick
embryo serum and vitreous humor. *Regul Pept*, 48(1-2), 145-155. doi:10.1016/0167-
0115(93)90343-7
- Zhang, C. (2017). Roles of Grp78 in Female Mammalian Reproduction. *Adv Anat Embryol Cell
Biol*, 222, 129-155. doi:10.1007/978-3-319-51409-3_7
- 625 Zhang, J. Y., Diao, Y. F., Kim, H. R., & Jin, D. I. (2012). Inhibition of endoplasmic reticulum
stress improves mouse embryo development. *PLoS One*, 7(7), e40433.
doi:10.1371/journal.pone.0040433
- Zhang, X., Zhang, X., Qi, Y., Huang, D., & Zhang, Y. (2016). 2,4-dichlorophenol induces ER
stress-mediated apoptosis via eIF2alpha dephosphorylation in vitro. *Environ Toxicol*,
31(2), 245-255. doi:10.1002/tox.22039
- 630

REFERÊNCIAS

- 420 ABDI, Z. et al. The Effect of Hsp60 on Fertilization and Pre-Implantation Embryo Development in Mice: An in Vitro Study. **Acta Endocrinol (Buchar)**, v. 15, n. 2, p. 153-157, Apr-Jun 2019. ISSN 1841-0987 (Print)1841-0987 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31508170> >.
- ALMINANA, C. et al. Oviduct extracellular vesicles protein content and their role during oviduct-embryo cross-talk. **Reproduction**, v. 154, n. 3, p. 153-168, Sep 2017. ISSN 1741-7899 (Electronic)1470-1626 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28630101> >.
- 425 AVILÉS, C., AND RIZOS. The oviduct: A key organ for the success of the early reproductive events. **Animal Frontiers**, v. 5, n. 1, Jan 2015 2015.
- AVILÉS, M. G.-A., A; COY, PILAR. Oviductal secretions: will they be key factors for the future of ARTs? **Molecular Human Reproduction**, v. 16, n. 12, p. 896-906, 2010.
- 430 BANLIAT, C. et al. Stage-dependent changes in oviductal phospholipid profiles throughout the estrous cycle in cattle. **Theriogenology**, v. 135, p. 65-72, Sep 1 2019. ISSN 1879-3231 (Electronic) 0093-691X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31203089> >.
- BINELLI, M. et al. Sex Steroid-Mediated Control of Oviductal Function in Cattle. **Biology (Basel)**, v. 7, n. 1, Feb 2 2018. ISSN 2079-7737 (Print)
- 435 2079-7737 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29393864> >.
- BOILARD, M. et al. Localization of the chaperone proteins GRP78 and HSP60 on the luminal surface of bovine oviduct epithelial cells and their association with spermatozoa. **Biol Reprod**, v. 71, n. 6, p. 1879-89, Dec 2004. ISSN 0006-3363 (Print)0006-3363 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15286042> >.
- 440 BROMFIELD, E. G.; NIXON, B. The function of chaperone proteins in the assemblage of protein complexes involved in gamete adhesion and fusion processes. **Reproduction**, v. 145, n. 2, p. R31-42, Feb 2013. ISSN 1741-7899 (Electronic)1470-1626 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23166368> >.
- 445 BUHI, W. C.; ALVAREZ, I. M.; KOUBA, A. J. Secreted proteins of the oviduct. **Cells Tissues Organs**, v. 166, n. 2, p. 165-79, 2000. ISSN 1422-6405 (Print)1422-6405 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10729726> >.
- E. OROZCO-LUCERO, M.-A. S. Molecular markers of fertility in cattle oocytes and embryos: progress and challenges. **Anim. Reprod**, v. 11, n. 3, p. 183-194, 2014.
- 450 ELLIOTT, R. M. et al. Effects of HSPA8, an evolutionarily conserved oviductal protein, on boar and bull spermatozoa. **Reproduction**, v. 137, n. 2, p. 191-203, Feb 2009. ISSN 1741-7899 (Electronic)1470-1626 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18996976> >.
- FONTES, P. K. et al. Bona fide gene expression analysis of samples from the bovine reproductive system by microfluidic platform. **Anal Biochem**, v. 596, p. 113641, May 1 2020. ISSN 1096-0309 (Electronic)0003-2697 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32087128> >.
- 455 FRANCHI, F. F. et al. Equine chorionic gonadotropin drives the transcriptional profile of immature cumulus-oocyte complexes and in vitro-produced blastocysts of superstimulated Nelore cows. **Mol Reprod Dev**, v. 86, n. 11, p. 1639-1651, Nov 2019. ISSN 1098-2795 (Electronic)
- 1040-452X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31389116> >.

- FRANK, L. A. et al. The effect of peri-conception hyperglycaemia and the involvement of the hexosamine biosynthesis pathway in mediating oocyte and embryo developmental competence. **Mol Reprod Dev**, v. 81, n. 5, p. 391-408, May 2014. ISSN 1098-2795 (Electronic)1040-452X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24415135> >.
- 465 GARCIA-MARTINEZ, S. et al. Addition of exogenous proteins detected in oviductal secretions to in vitro culture medium does not improve the efficiency of in vitro fertilization in pigs. **Theriogenology**, v. 157, p. 490-497, Nov 2020. ISSN 1879-3231 (Electronic)0093-691X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32898824> >.
- 470 GIROTO, A. B. et al. Use of pregnancy-associated plasma protein-A during oocyte in vitro maturation increases IGF-1 and affects the transcriptional profile of cumulus cells and embryos from Nelore cows. **Mol Reprod Dev**, v. 86, n. 11, p. 1694-1704, Nov 2019. ISSN 1098-2795 (Electronic)1040-452X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31468638> >.
- 475 GONZALEZ-GRONOW, M. et al. GRP78: a multifunctional receptor on the cell surface. **Antioxid Redox Signal**, v. 11, n. 9, p. 2299-306, Sep 2009. ISSN 1557-7716 (Electronic)1523-0864 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19331544> >.
- HARRIS, E. A.; STEPHENS, K. K.; WINUTHAYANON, W. Extracellular Vesicles and the Oviduct Function. **Int J Mol Sci**, v. 21, n. 21, Nov 5 2020. ISSN 1422-0067 (Electronic)1422-0067 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33167378> >.
- 480 HEBERT-SCHUSTER, M. et al. The Interplay between Glucose-Regulated Protein 78 (GRP78) and Steroids in the Reproductive System. **Int J Mol Sci**, v. 19, n. 7, Jun 22 2018. ISSN 1422-0067 (Electronic)1422-0067 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29932125> >.
- 485 HOLT, W. V.; FAZELI, A. Sperm Storage in the Female Reproductive Tract. **Annu Rev Anim Biosci**, v. 4, p. 291-310, 2016. ISSN 2165-8110 (Electronic)2165-8102 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26526545> >.
- 490 LACHANCE, C.; BAILEY, J. L.; LECLERC, P. Expression of Hsp60 and Grp78 in the human endometrium and oviduct, and their effect on sperm functions. **Hum Reprod**, v. 22, n. 10, p. 2606-14, Oct 2007. ISSN 0268-1161 (Print)0268-1161 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17670764> >.
- LAMY, J. et al. Regulation of the bovine oviductal fluid proteome. **Reproduction**, v. 152, n. 6, p. 629-644, Dec 2016. ISSN 1741-7899 (Electronic)1470-1626 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27601716> >.
- 495 LAMY, J. et al. Identification by proteomics of oviductal sperm-interacting proteins. **Reproduction**, v. 155, n. 5, p. 457-466, May 2018. ISSN 1741-7899 (Electronic)1470-1626 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29540510> >.
- LI, S.; WINUTHAYANON, W. Oviduct: roles in fertilization and early embryo development. **J Endocrinol**, v. 232, n. 1, p. R1-R26, Jan 2017. ISSN 1479-6805 (Electronic)0022-0795 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27875265> >.
- 500 LIN, P. et al. GRP78 expression and immunohistochemical localization in the female reproductive tract of mice. **Theriogenology**, v. 78, n. 8, p. 1824-9, Nov 2012. ISSN 1879-3231 (Electronic)0093-691X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22968032> >.
- 505 LLOYD, R. E. et al. Effects of oviductal proteins, including heat shock 70 kDa protein 8, on survival of ram spermatozoa over 48 h in vitro. **Reprod Fertil Dev**, v. 21, n. 3, p. 408-18, 2009. ISSN 1031-3613 (Print)1031-3613 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19261218> >.

- LLOYD, R. E. et al. The oviducal protein, heat-shock 70-kDa protein 8, improves the long-term survival of ram spermatozoa during storage at 17 degrees C in a commercial extender. **Reprod Fertil Dev**, v. 24, n. 4, p. 543-9, 2012. ISSN 1031-3613 (Print)1031-3613 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22541542> >.
- 510 MARIANI, M. L. et al. Constitutive expression of heat shock proteins hsp25 and hsp70 in the rat oviduct during neonatal development, the oestrous cycle and early pregnancy. **J Reprod Fertil**, v. 120, n. 2, p. 217-23, Nov 2000. ISSN 0022-4251 (Print)0022-4251 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11058436> >.
- 515 MARÍN-BRIGGILER, C. I. G.-E., M.F.; MUNUCE, M.J.; GHERSEVICH, S.; CAILLE, A.M.; HELLMAN, U.; CORRIGALL, V.M.; VAZQUEZ-LEVIN, M.H. Glucose-regulated protein 78 (GRP78/BiP) is secreted by human oviduct epithelial cells and the recombinant protein modulates sperm-zona pellucida binding. **Fertil Steril**, v. 93, n. 5, 2010.
- 520 MOEIN-VAZIRI, N. et al. Heat-shock protein A8 restores sperm membrane integrity by increasing plasma membrane fluidity. **Reproduction**, v. 147, n. 5, p. 719-32, May 2014. ISSN 1741-7899 (Electronic)1470-1626 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24501193> >.
- 525 MONDEJAR, I. et al. Identification of potential oviductal factors responsible for zona pellucida hardening and monospermy during fertilization in mammals. **Biol Reprod**, v. 89, n. 3, p. 67, Sep 2013. ISSN 1529-7268 (Electronic)0006-3363 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23863406> >.
- RIEGER, D. Relationships between energy metabolism and development of early mammalian embryos. **Theriogenology**, v. 37, n. 1, p. 75-93, 1992. ISSN 0093-691X. Disponível em: < <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0093691X9290248P> >.
- 530 SANDELL, L. L. et al. Gatm, a creatine synthesis enzyme, is imprinted in mouse placenta. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 100, n. 8, p. 4622-7, Apr 15 2003. ISSN 0027-8424 (Print)0027-8424 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12671064> >.
- 535 SOLEILHAVOUP, C. et al. Proteomes of the Female Genital Tract During the Oestrous Cycle. **Mol Cell Proteomics**, v. 15, n. 1, p. 93-108, Jan 2016. ISSN 1535-9484 (Electronic)535-9476 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26518761> >.
- STOJKOVIC, M. et al. Mitochondrial distribution and adenosine triphosphate content of bovine oocytes before and after in vitro maturation: correlation with morphological criteria and developmental capacity after in vitro fertilization and culture. **Biol Reprod**, v. 64, n. 3, p. 904-9, Mar 2001. ISSN 0006-3363 (Print)0006-3363 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11207207> >.
- 540 TSUJII, H.; KHANDOKER, M. A. M. Y.; HAMANO, K.-I. Lipid in Mammalian Embryo Development. **Journal of Mammalian Ova Research**, v. 18, n. 3, p. 73-80, 2001.
- ZHANG, A. et al. The effect of human cumulus cells on the maturation and developmental potential of immature oocytes in ICSI cycles. **J Assist Reprod Genet**, v. 29, n. 4, p. 313-9, Apr 2012. ISSN 1573-7330 (Electronic)058-0468 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22354726> >.
- 545 ZHANG, K.; HAVERSAT, J. M.; MAGER, J. CTR9/PAF1c regulates molecular lineage identity, histone H3K36 trimethylation and genomic imprinting during preimplantation development. **Dev Biol**, v. 383, n. 1, p. 15-27, Nov 1 2013. ISSN 1095-564X (Electronic)0012-1606 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24036311> >.
- 550 ZHANG, X. et al. 2,4-dichlorophenol induces ER stress-mediated apoptosis via eIF2alpha dephosphorylation in vitro. **Environ Toxicol**, v. 31, n. 2, p. 245-55, Feb 2016. ISSN 1522-7278 (Electronic)1520-4081 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25160872> >.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Testamos aqui se a proteína HSPA5 é capaz de interagir com COC e com os embriões e, além disso, se a adição da HSPA5 recombinante humana nos meios de MIV e CIV melhora a eficiência da produção *in vitro* e a qualidade dos embriões produzidos.

Na abordagem da interação da rHSPA5 com o COC, nos adicionamos a proteína nas últimas 4 horas de MIV. Nós avaliamos os níveis de ROS e MMP destes oócitos e dos subsequentes embriões produzidos, os níveis de GSH nos oócitos, células do *cumulus* e no meio MIV. Além disso, nós avaliamos o efeito da proteína sobre a solubilidade da ZP e a taxa de monospermia, a taxa e a expressão gênica dos embriões produzidos. A proteína não alterou o tempo de digestão da ZP e também não alterou a taxa de monospermia, demonstrando que aparentemente não produz efeito no enrijecimento da ZP. A rHSPA5 também não influenciou os níveis de ROS e GSH dos oócitos e embriões, mas diminuiu a atividade mitocondrial dos oócitos. Apesar desse resultado, a adição da proteína nas últimas 4 horas de MIV aumentou a taxa de embriões produzidos e foi capaz de modular positivamente a expressão de genes relacionados com a qualidade embrionária, demonstrando um efeito benéfico na produção *in vitro* e um forte potencial de inclusão no meio de MIV.

Em um segundo momento nós adicionamos a rHSPA5 nos 8 dias de cultivo embrionário para comparar com o tratamento na MIV e com a associação destes (últimas 4 horas de MIV mais 8 dias de CIV). Foi avaliada a taxa de embriões produzido com os tratamentos, assim como o perfil de transcritos destes embriões. O tratamento no cultivo e associação dos tratamentos não aumentou a taxa de embriões produzidos e apresentou uma pequena modulação nos genes expressos, comparado ao grupo controle e tratamento nas últimas 4 horas de MIV.

Com esses resultados, nós acreditamos que apesar da HSPA5 conseguir interagir com os embriões, ela não parece ter um efeito essencial nestes, diferente do oócito, A proteína parece exercer uma função nos oócitos durante as últimas horas de maturação e foi eficaz quando sua forma recombinante humana foi adicionada ao meio de MIV, melhorando a produção embrionária e impactando a qualidade molecular destes embriões.

ATIVIDADES ACADÊMICAS DESENVOLVIDAS DURANTE O DOUTORADO

Artigos completos publicados em periódicos

1. **P.H. SANTOS**; S.G. NUNES; F.F. FRANCHI; A.B. GIROTO; P.K. FONTES; A.C.S. CASTILHO. Expression of bta-miR-222 and LHCGR in bovine cultured granulosa cells: Impact of follicle deviation and regulation by FSH/insulin in vitro. *Theriogenology*. v. 182, p. 71-77, 2022.
2. ELISA MARIANO PIOLTINE; CAMILA BORTOLIERO COSTA; LAÍS BARBOSA LATORRACA; FERNANDA FAGALI FRANCH; **PRISCILA HELENA DOS SANTOS**; GISELE ZOCCAL MINGOTI; FABÍOLA FREITAS DE PAULA LOPES; MARCELO FÁBIO GOUVEIA NOGUEIRA. Treatment of *in vitro*-Matured Bovine Oocytes With Tauroursodeoxycholic Acid Modulates the Oxidative Stress Signaling Pathway. *Front. Cell dev. Biol.* v. 9, 2021.
3. FRANCHI, FERNANDA FAGALI; SATRAPA, RAFAEL AUGUSTO; FONTES, PATRÍCIA KUBO; **SANTOS, PRISCILA HELENA**; RAZZA, EDUARDO MONTANARI; EMANUELLI, ISABELE PICADA; ERENO, RONALDO LUIZ; MARECO, EDSON ASSUNÇÃO; NOGUEIRA, MARCELO FÁBIO GOUVEIA; BARROS, CIRO MORAES; SOUZA CASTILHO, ANTHONY CÉSAR. Equine chorionic gonadotropin drives the transcriptional profile of immature cumulus-oocyte complexes and in vitro-produced blastocysts of superstimulated Nelore cows. *Molecular Reproduction and Development*, v. 86, p. 1639, 2019.
4. GIROTO, ALAN B; FONTES, PATRÍCIA K; FRANCHI, FERNANDA F; DOS **SANTOS, PRISCILA H**; RAZZA, EDUARDO M; NOGUEIRA, MARCELO F. G; MAIOLI, MARCOS A; NOGUEIRA, GUILHERME P; NUNES, GIOVANA B; MINGOTI, GISELE Z; MARECO, EDSON A; CASTILHO, ANTHONY C. S. Use of pregnancy-associated plasma protein-A during oocyte in vitro maturation increases IGF-1 and affects the transcriptional profile of

cumulus cells and embryos from nelore cows. *Molecular reproduction and development*, v. 86, p. 1694, 2019.

5. PAOLA FRANCINI FÁVERO; VICTOR AUGUSTO VIEIRA DE LIMA; **PRISCILA HELENA DOS SANTOS**; ANA PAULA MARQUES ANDRADE; LEONARDO OLIVEIRA MENDES; FRANCIS LOPES PACAGNELLI; ANTHONY CÉSAR DE SOUZA CASTILHO. Differential fractal dimension is associated with extracellular matrix remodeling in developing bovine corpus luteum. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. v. 516, 3, p. 888-893. 2019.

6. GOUVEIA NOGUEIRA, MARCELO; BERTOGNA GUILHERME, VITÓRIA; PRONUNCIATE, MICHELI; **DOS SANTOS, PRISCILA**; LIMA BEZERRA DA SILVA, DIOGO; ROCHA, JOSÉ Artificial Intelligence-Based Grading Quality of Bovine Blastocyst Digital Images: Direct Capture with Juxtaposed Lenses of Smartphone Camera and Stereomicroscope Ocular Lens. *SENSORS*. v.18, p.4440 - , 2018.

7. **SANTOS, P.H.**; SATRAPA, R.A.; FONTES, P.K.; FRANCHI, F.F.; RAZZA, E.M.; MANI, F.; NOGUEIRA, M.F.G.; BARROS, C.M.; CASTILHO, A.C.S. Effect of superstimulation on the expression of microRNAs and genes involved in steroidogenesis and ovulation in Nelore cows. *THERIOGENOLOGY*. , v.110, p.192 - 200, 2018.

8. RAZZA, EDUARDO M.; SUDANO, MATEUS J.; FONTES, PATRICIA K.; FRANCHI, FERNANDA F.; BELAZ, KATIA ROBERTA A.; **SANTOS, PRISCILA H.**; CASTILHO, ANTHONY C. S.; ROCHA, DANIELE F. O.; EBERLIN, MARCOS N.; MACHADO, MARIANA F.; NOGUEIRA, MARCELO F. G. Treatment with cyclic adenosine monophosphate modulators prior to in vitro maturation alters the lipid composition and transcript profile of bovine cumulus?oocyte complexes and blastocysts. *REPRODUCTION FERTILITY AND DEVELOPMENT*. , v.31, p.xx - , 2018.

9. **SANTOS, P.H.**; FONTES, P.K.; FRANCHI, F.F.; NOGUEIRA, M.F.G.; BELAZ, K.R.A.; TATA, A.; EBERLIN, M.N.; SUDANO, M.J.; BARROS, C.M.; CASTILHO, A.C.S. Lipid profiles of follicular fluid from cows submitted to ovarian superstimulation.

THERIOGENOLOGY. v.94, p.64 - 70, 2017.

Capítulos de livros publicados

1. Castilho, Anthony C.S.; Fontes, Patrícia K.; FRANCHI, FERNANDA F.; **SANTOS, PRISCILA H.**; RAZZA, EDUARDO M.

Renin-Angiotensin System on Reproductive Biology In: Renin-Angiotensin System - Past, Present and Future.1 ed.: InTech, 2017, p. 71-81.

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo)

1. PIOLTINE, E. M.; COSTA, CAMILA BORTOLIERO; FRANCHI, F. F ; **SANTOS, P. H.**; NOGUEIRA, M. F. G. Molecular effects of TUDCA addition during in vitro maturation of bovine oocytes. In: Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões, 2020, Online. XXXIV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões, 2020.

2. VIEIRA DE LIMA, VICTOR AUGUSTO; DELLAQUA, T. T; GIROTO, A. B; FRANCHI, F. F; **SANTOS, P. H**; CASTILHO, A. C. S. Impacto da adição da proteína sérica-a associada à prenhez (papp-a) durante a maturação oocitária in vitro sobre o perfil e metabolismo lipídico de embriões bovinos. In: Encontro Nacional de Ensino, Pesquisa e Extensão (ENEPE), 2020, Online. Encontro Nacional de Ensino, Pesquisa e Extensão (ENEPE), 2020.

3. DELLAQUA, T. T.; RAZZA, E. M.; GUILHERME, V. B.; GIROTO, A. B.; NEVES, S.; **SANTOS, P.H.**; SUDANO, M. J.; MULLER, D. B.; CASTILHO, A. C. S.
Addition of pregnancy-associated plasma proteins-A during in vitro maturation did not impact the lipid content of in vitro-matured bovine oocytes In: 10 International ruminants reproduction symposium, 2018, Foz do Iguaçu. Proceedings of the 10th International Ruminant Reproduction Symposium (IRRS 2018). 2018. v.15. p.1055 -

4. CHAVES, M. P.; **SANTOS, P.H.**; MENDES, L. O.; CASTILHO, A. C. S.

Differential expression of LH receptor, LHR mRNA binding protein (LRBP) and bta-miR- 222 in the developing bovine ovary In: 10th International Ruminant Reproduction Symposium, 2018, Foz do Iguaçu. Proceedings of the 10th International Ruminant Reproduction Symposium (IRRS 2018). 2018. v.15. p.1066 -

5. FRANCHI, F. F.; **SANTOS, P.H.**; FONTES, P. K.; RAZZA, E. M.; MARECO, E.; NOGUEIRA, M. F. G.; CASTILHO, A. C. S.

Equine chorionic gonadotropin (eCG) impacts the transcriptional profile of genes involved with competence of cumulus-oocyte complexes and embryo quality in superstimulated Nelore cows. In: 10th International Ruminant Reproduction Symposium, 2018, Foz do Iguaçu. Proceedings of the 10th International Ruminant Reproduction Symposium. 2018. v.15. p.1122 -

6. GIROTO, A. B.; AMORIS, J. V.; FRANCHI, F. F.; FONTES, P. K.; **SANTOS, P.H.**; MAIOLI, M. A.; NOGUEIRA, G. O.; NUNES, G. B.; MINGOTI, G. Z.; NOGUEIRA, M. F. G.; CASTILHO, A. C. S.

Evidence that pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A) plays a role in bovine in vitro-embryo production In: 10th International Ruminant Reproduction Symposium, 2018, Foz do Iguaçu. Proceedings of the 10th International Ruminant Reproduction Symposium. 2018. v.15. p.1123 -

7. **SANTOS, P.H.**; FRANCHI, F. F.; MENDES, L. O.; FONTES, P. K.; PINHEIRO, V. G.; CASTILHO, A. C. S.

Expression of bta-miR-222 in bovine granulosa cells: effect of follicle deviation and regulation by FSH/insulin in vitro. In: XXXII Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society (SBTE), 2018, Florianópolis. Proceedings of the 32nd Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society. 2018. v.15. p.453 -

8. **SANTOS, P.H.**; FONTES, P. K.; FRANCHI, F. F.; GIROTO, A. B.; NUNES, S. G.; GUILHERME, V. B.; CASTILHO, A. C. S.

HSPA5 and in vitro embryo production: effect of addition of the protein during in vitro embryo culture in cattle. In: 10th International Ruminant Reproduction Symposium, 2018, Foz do Iguaçu. Proceedings of the 10th International Ruminant Reproduction Symposium. 2018. v.15.

p.1070 -

9. **SANTOS, P. H.**; FONTES, P. K.; FRANCHI, F. F.; GUILHERME, V. B.; NOGUEIRA, M. F. G.; BARROS, C. M.; CASTILHO, A. C. S.

Changes in MicroRNAs expression in granulosa cells from superstimulated cows In: XXXI Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society, Cabo de Santo Agostinho. Proceedings of the 31st Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society. 2017. v.15. p.786 -

10. FRANCHI, F. F.; FONTES, P. K.; **SANTOS, P.H.**; RAZZA, E. M.; RODRIGUES, R. B.; CARVALHO, A.; NOGUEIRA, M. F. G.; CASTILHO, A. C. S.

Pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) added during in vitro maturation: effects on meiosis progression, oocyte DNA fragmentation and gene expression in bovine cumulus-oocyte complexes. In: XXXI Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society, 2017, Cabo de Santo Agostinho. Proceedings of the 31st Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society. , 2017. v.15. p.830 -

Demais produções bibliográficas

1. GUILHERME, V. B.; PRONUNCIATE, M.; **SANTOS, P.H.**; CINICIATO, D.S.; TAKAHASHI, M.B; ROCHA, J. C.; NOGUEIRA, M. F. G. **Distinct Sources of a Bovine Blastocyst Digital Image do not Produce the Same Classification by a Previously Trained Software using Artificial Neural Network.** preprint. Cold Spring Harbor, NY, USA:Cold Spring Harbor Laboratory, 2018. (Outra produção bibliográfica)

Demais produções técnicas

1. SANTOS, PRISCILA H. **Obtenção dos ovócitos a partir do líquido folicular, 2021.** Aula ministrada para alunos da Pós-graduação em Reprodução Assistida Núcleo Semear

2. SANTOS, PRISCILA H. **Cultivo e Seleção embrionária, 2021.** Aula ministrada para alunos

da Pós-graduação em Reprodução Assistida Núcleo Semear

3. SANTOS, PRISCILA H.A **atuação do biomédico na Reprodução Humana Assistida.**

Palestra ministrada para a V Jornada acadêmica de Biomedicina e Farmácia da Faculdade Marechal Rondon

4. GIROTO, A. B.; PIOLTINE, E. M.; SANTOS, P.H. **Produção in vitro de embriões bovinos: propósito da técnica**, 2017. Curso de curta duração ministrado.

Participação em banca examinadora

1. SANTOS, P. H.. Participação em banca de Aline Gonçalves Sawa. Efeito do TUDCA sobre a progressão da meiose e a concentração de espécies reativas de oxigênio na maturação in vitro de complexos cumulus-oócito bovinos. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Biotecnologia) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

2. SANTOS, P. H.. Participação em banca de Thaisy Tino Dellaqua. Efeitos da adição da proteína sérica A associada à prenhez (PAPP-A) sobre o perfil e metabolismo lipídico de oócitos bovinos maturados in vitro. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Biotecnologia) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

3. SANTOS, P. H.; GARCIA, P. C.; FONTES, P. K.. Participação em banca de Natalia Pereira. Adição da proteína GRP78 na etapa de fertilização in vitro de embriões bovino: benefícios na produção in vitro de embriões bovino. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) - Universidade Paulista.

4. SANTOS, P. H.. Participação em banca de Suellen Neves. Trabalho de Conclusão de Curso e Relatório de Estágio Supervisionado. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) - UniCesumar.

5. SANTOS, P. H.. Participação em banca de Alexandre Mendes de Almeida Junior. Efeitos da utilização do ácido tauroursodesoxicólico sobre a progressão meiótica na maturação in vitro de oócitos bovinos. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Biotecnologia) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

6. SANTOS, P. H.. Participação em banca de Camila Motta Boverio. Caracterização da cinética de expressão dos genes dos receptores de FSH, LH e AREG durante a maturação in vitro de complexos cumulus-oócito bovinos. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Biotecnologia) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.